

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

**STUDIUM DEGRADACE
POLYESTEROVÝCH NOSIČŮ LÉČIV
METODOU DSC**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Milan Dittrich, CSc.

Hradec Králové, 2014

Markéta Valentová

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením školitele. Veškeré zdroje, ze kterých jsem čerpala při zpracování této práce, jsou uvedeny v seznamu literatury.

V Hradci Králové dne 15. dubna 2014

Markéta Valentová

Děkuji školiteli Doc. RNDr. Milanu Dittrichovi, CSc. za poskytnutí odborných rad a za trpělivost, jakož i katedře farmaceutické technologie za pomoc při vypracování této diplomové práce.

Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutické technologie,
Hradec Králové, 2014

Vypracovala: Markéta Valentová

Školitel: Doc. RNDr. Milan Dittrich, CSc.

ABSTRAKT

STUDIUM DEGRADACE POLYESTEROVÝCH NOSIČŮ LÉČIV METODOU DSC

Cílem práce bylo studovat souvislosti mezi časovou řadou hodnot teploty skelného přechodu, botnání, eroze a degradace hydrolýzou u dvou modelových nosičů léčiv polyesterového typu po dobu dvou týdnů. V teoretické části práce je podrobně pojednáno o biopolymerech s responsivní aktivitou a o využití biopolymerů v různých biomedicínských aplikacích a ve tkáňovém inženýrství. Experimentální část je zaměřena na studium parametrů degradace, případně simulované biodegradace v podmínkách in vitro u dvou modelových typově odlišných polyesterů s různou architekturou molekuly. Bylo prokázáno, že snižování hodnot parametru M_n probíhá do limitních hodnot. Mezi hodnotami M_n a T_g není v této fázi děje dodržen vztah podle rovnice Flory a Foxe. Eroze materiálu začíná až po určité době dané především molekulovou hmotností polyesteru. Botnání probíhá v nerovnovázném procesu, v počáteční fázi těsně koreluje s vývojem hodnot teploty skelného přechodu, v další fázi se průběh obou dějů liší.

ABSTRACT

STUDY OF POLYESTER DRUG CARRIERS DEGRADATION USING THE DSC METHOD

The aim of this work was focused on the study of relations among various parameters of degradation process, such as time-dependent range of glass transition temperature, swelling, erosion, and molar weight decrease. Two model polyesters of two type architectures of polyester molecules were used and monitored during two-week period. In the theoretical part of this diploma thesis are in details described biopolymers with stimulus responsive activity and exploitation of these materials in various biomedical applications in the topic of tissue engineering. The experimental part of this work is directed into the study of molecule degradation parameters, eventually into simulated biodegradation in the in vitro conditions of two different in the type polyesters with the contrast polyester molecule constitution. It was demonstrated that parameter M_n decreases towards the limit values. Between the values of molar weight and glass transition temperature is not Flory-Fox relation in the advanced phase of degradation process. The erosion of the material begins after the lag-time in the dependency on the initial molar weight of polyester. The swelling proceeds in the nonequilibrium state, in the initial phase narrowly correlate with the corresponding values of glass transition temperature, in the next phase the process run differs.

OBSAH

1. ÚVOD.....	8
2. TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1 Alifatické polyestery	10
2.2 Biopolymery s responzivní aktivitou	12
2.2.1 Biopolymery reagující na podněty	12
2.2.1.1 Termoresponzivní biopolymery	12
2.2.1.2 pH-responzivní biopolymery	12
2.2.1.3 Fotoresponzivní biopolymery	13
2.2.1.4 Redox-responzivní biopolymery	14
2.2.2 Elektroaktivní biomateriály	15
2.2.3 Specifické spojování biopolymerů	16
2.2.4 Biopolymery pro sledování a zobrazování biologických materiálů	16
2.3 Biomedicínské aplikace	17
2.3.1 Zdravotnické prostředky	17
2.3.1.1 Stenty potažené léčivy	17
2.3.1.2 Ortopedické prostředky	17
2.3.1.3 Jednorázové zdravotnické prostředky	18
2.3.1.4 Ostatní zdravotnické prostředky	18
2.3.2 Tkáňové inženýrství	18
2.3.3 Transport léčiv a řízené uvolňování	20
2.3.4 Genový přenos	22
3. CÍL PRÁCE.....	23
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	24
4.1 Použité chemikálie a přístroje	24
4.1.1 Chemikálie	24
4.1.2 Přístroje	24
4.1.3 Charakteristika použitých polyesterů	24
4.1.3.1 Molekulové hmotnosti polymerů při degradaci a stupeň polydisperzity	25
4.2 Stanovení stupně eroze a stupně botnění testovaných nosičů	26
4.2.1 Příprava matric	26
4.2.2 Příprava vzorků	26
4.2.3 Stanovení stupně eroze a botnění	27

4.3 DSC analýza.....	28
5. VÝSLEDKY	29
5.1 Tabulky a Obrázky.....	29
6. DISKUSE	49
6.1 K tématu práce	49
6.2 K degradaci nosičů.....	49
6.3 K botnání nosičů	50
6.4 K hodnotám teploty skelného přechodu nosičů	51
6.5 K relaci mezi teplotou skelného přechodu a stupněm botnání nosičů	52
7. ZÁVĚRY.....	53
8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	54
9. LITERATURA	55

1. ÚVOD

Biomateriál může být definován jako materiál, jenž se propojuje s biologickými systémy za účelem hodnocení, léčení, rozšiřování nebo nahrazení nějaké tkáně, orgánu nebo funkce těla. Biomateriály hrají důležitou roli v lidském zdraví. Hlavním typem biomateriálů jsou biopolymery. Podle degračních vlastností mohou být biopolymery dále klasifikovány jako biopolymery biodegradabilní a nebiodegradabilní. Implantáty, jako jsou materiály pro kostní náhrady, některé materiály pro kostní fixaci a materiály zubní, by měly být v těle dlouhodobě stabilní.

V nedávných letech vývoj v tkáňovém inženýrství, v regenerativní medicíně, genové terapii a v řízeném transportu léčiv podpořil potřebu rozvoje nových vlastností biomateriálů s biodegradabilitou. Značnou pozornost vzbudily biologicky odvozené a syntetické biodegradabilní biopolymery. Polysacharidy a proteiny jsou typickými biologicky odvozenými biopolymery, zatímco alifatické polyestery a polyfosfoester (PPE) jsou typické syntetické biopolymery.

Biopolymery s rozmanitými specifickými vlastnostmi jsou potřebné pro *in vivo* aplikace vzhledem k různorodosti a komplexnosti *in vivo* prostředí.

V dnešní době se syntetické biopolymery staly atraktivními alternativami pro biomedicínské aplikace z následujících důvodů:

1. ačkoliv většina biologicky odvozených biodegradabilních polymerů má mít dobrou biokompatibilitu, některé mohou vyvolat imunitní odpověď v lidském těle; tomu by se mohlo zabránit použitím vhodného syntetického biopolymeru
2. chemické modifikace biologicky odvozených biodegradabilních biopolymerů jsou obtížné
3. chemické modifikace pravděpodobně způsobují změny vlastností biologicky odvozených biodegradabilních polymerů. Různé vlastnosti lze získat a jiné modifikace jsou možné s vhodně navrženými syntetickými biopolymery, aniž by se tyto jejich vlastnosti změnily.

Pro biomateriály jsou mnohdy potřebné specifické vlastnosti. Např. nosiče používané v oboru tkáňového inženýrství by měly mít, vedle potřebných biodegradabilních vlastností, též dobrou biokompatibilitu a dobré vlastnosti pro adhezi buněk. Systémy transportu léčiv by měly být vybaveny responzivními vlastnostmi pro řízené

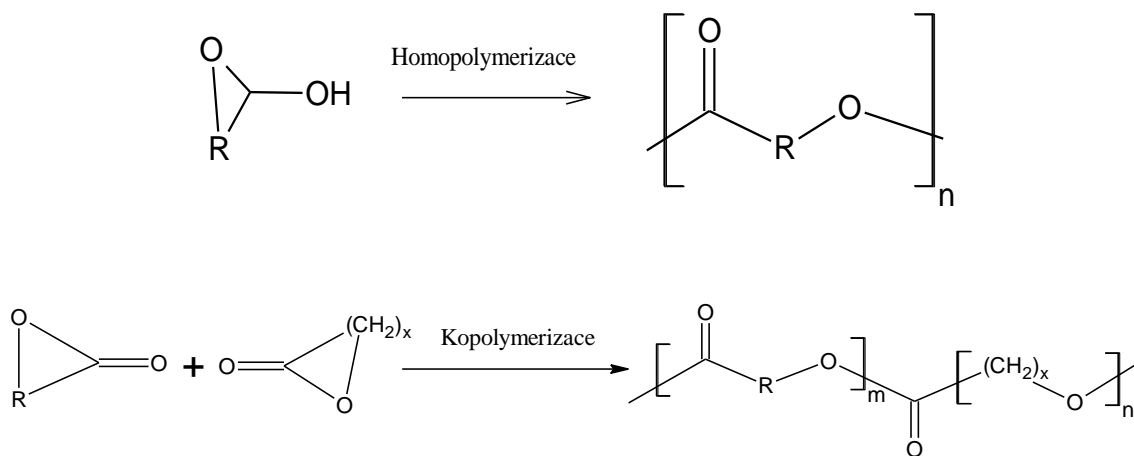
uvolňování. Za účelem zlepšení vlastností tradičních syntetických biopolymerů se provádí funkcionalizace.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 ALIFATICKÉ POLYESTERY

Alifatické polyestery, jako jsou polymléčná kyselina (PLA), polyglykolová kyselina (PGA), poly(ϵ -kaprolakton) (PCL) a jejich kopolymery, jsou široce zkoumány pro biomedicínské aplikace díky jejich biodegradabilitě, bioresorbovatelnosti a biokompatibilitě. Alifatické polyestery s reaktivními skupinami přilákaly pozornost z důvodu poptávky po syntetických biopolymerech s nastavitelnými vlastnostmi, včetně vlastností jako hydrofilita, biodegradace, bioadheze atd. Především jsou zapotřebí polymerní biomateriály s vlastnostmi, které mohou být přizpůsobeny zavedením funkční skupiny. Mezi takové funkční skupiny řadíme např. karboxyl, hydroxyl, aminoskupinu, brom, chlor, ketal, uhlíky spojené dvojnou či trojnou vazbou atd [1]. Alifatické polyestery s reaktivními skupinami mohou být připraveny homopolymerizací nebo kopolymerizací cyklických monomerů nesoucích chráněné funkční skupiny.

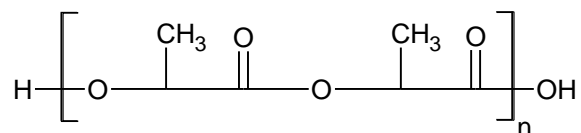
Příprava alifatických polyesterů s reaktivními skupinami:



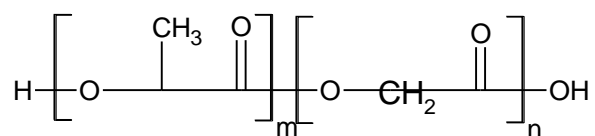
R: chráněné reaktivní skupiny, zahrnující karboxyl, aminoskupinu, chlor, brom, ketal, hydroxyl, uhlíky spojené dvojnými vazbami atd.

Tab. 1: Chemická struktura polymerů

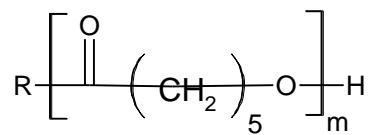
polylaktid



poly(laktid-ko-glykolid)



poly(ϵ -kaprolakton)



2.2 BIOPOLYMERY S RESPONZIVNÍ AKTIVITOU

2.2.1 Biopolymery reagující na podněty

Díky schopnosti napodobit základní responzivní procesy živých systémů přitahují biopolymery zvýšenou pozornost. Tyto polymery dokáží reagovat na malé změny podnětů z prostředí zřetelnou změnou v jejich fyzikálně-chemických vlastnostech, včetně konformace, polaritě, fázové struktury a chemického složení.

Materiály založené na syntetických biodegradabilních polymerech přitahují pozornost díky jejich slibné aplikaci *in vivo*. Tyto „inteligentní polymery“ mají široké uplatnění v biomedicínských oborech, včetně transportu léčiv, tkáňového inženýrství, bioseparace a konstrukce biosenzorů.

Podle druhu stimulu lze biopolymery rozlišit na termo-, pH-, foto-, elektro-, a multi-responzivní.

2.2.1.1 Termoresponzivní biopolymery

Díky významu ve fyziologii je teplota nejběžněji studovaným podnětem. Většina termoresponzivních polymerů obsahuje jednak část hydrofilní, jednak část hydrofobní. Pokud se teplota změní do určitých hodnot, rovnováha mezi těmito částmi je porušena a může dojít k reverzibilnímu rozdělení fází či ke sražení. Jedním z nejoblíbenějších termoresponzivních polymerů je poly(N-isopropylakrylamid) (PNIPAM). PNIPAM prochází rychlým přechodem klubko-globula ve vodném roztoku při jeho dolní kritické rozpouštěcí teplotě (LCST) 31-32°C [2]. Dolní kritická rozpouštěcí teplota může být vhodně zvýšena nebo snížena kopolymerací N-isopropylakrylamidu (NIPAM) více hydrofilními, popřípadě více hydrofobními monomery. Ačkoliv existuje mnoho jiných termoresponzivních polymerů syntetizovaných radikálovou polymerizací, PNIPAM byl popisován jako typický příklad.

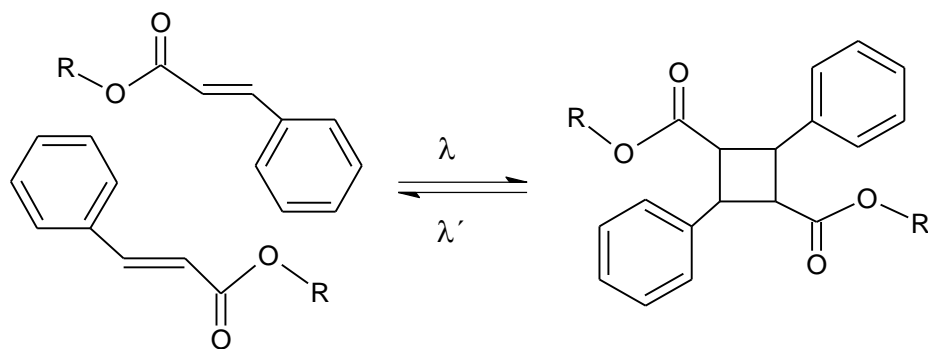
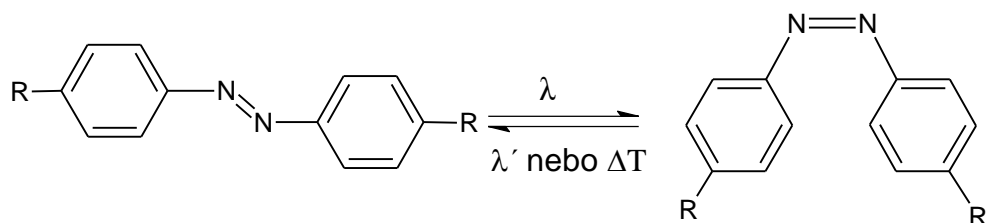
2.2.1.2 pH-responzivní biopolymery

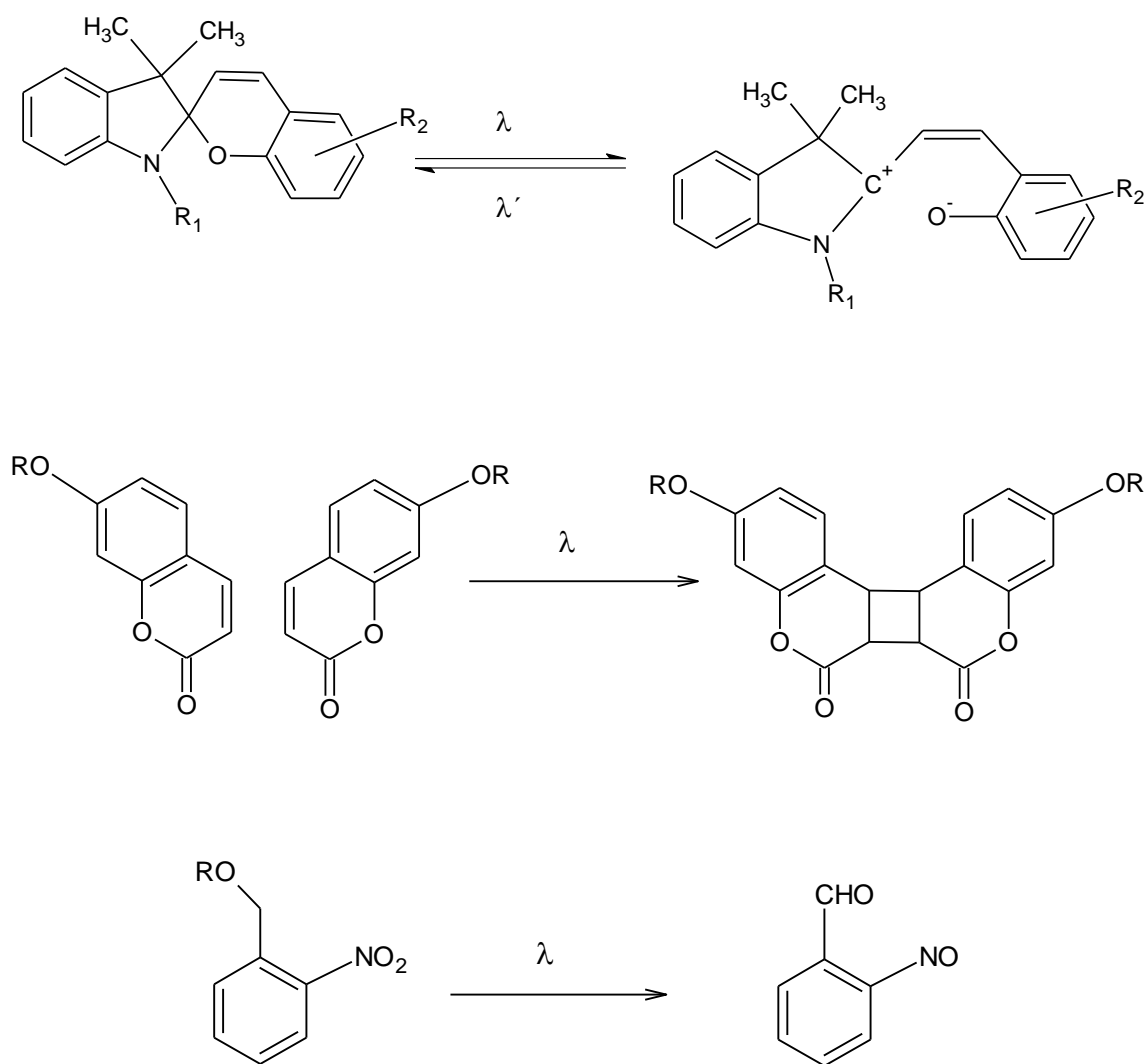
pH je dobře prozkoumaným stimulem z důvodu rozdílných hodnot pH v těle. Například, pH v žaludku je kyselé, zatímco ve střevě je zásadité. Zpravidla pH v normální tkáni a krvi se pohybuje okolo 7,4, ale v některých nádorech je pH o 0,5-1,0 nižší. Dalším příkladem rozdílného pH je pH v endosomech pohybující se okolo 5,0-6,5,

zatímco lysozomy mají pH ještě nižší (4,5-5,0) [3]. Syntetické biodegradabilní pH-responzivní polymery dosahují vysokého potenciálu při aplikaci v transportu léčiv. Řada polypeptidů nesoucí zavěšené ionizovatelné skupiny vykazuje pH-responzivní vlastnosti. Mezi tyto pH-responzivní polymery řadíme polyglutamovou kyselinu, polyaspartovou kyselinu, polyhistidin, polylysin a polyarginin. Zatímco kyselina polyglutamová a polyaspartová jsou kyselé polypeptidy, ostatní jsou zásadité. Polyglutamová kyselina a polyhistidin jsou nejpraktičtější pH-responzivní polypeptidy pro aplikaci *in vivo*, protože jejich příslušný pH rozsah citlivosti a fyziologický rozsah pH se vzájemně překrývají. Navíc polyglutamová kyselina prochází výraznou konformační změnou z helix na klubko, vyvolanou změnou pH, která může do určité míry napodobit přirozeně se vyskytující peptidy.

2.2.1.3 Fotoresponzivní biopolymery

Světlo je nepostradatelné v lidském životě a též užitečný podnět pro klinickou činnost. Nejvíce studovanými fotochromními skupinami jsou azidové skupiny, cinnamoylové skupiny, spiropyran, kumarin a 2-nitrobenzyl [4,5].





Obr. 1: Chemické struktury a světlem vyvolané přechody chromoforů: reverzibilní trans a cis geometrické izomery azobenzenu; reverzibilní fotodimerizace cinnamoylové skupiny; reverzibilní fotoisomerizace derivátu spirobenzopyranu; zesítnění kumarinem modifikovaných polymerů; disociace 2-nitrobenzylových derivátů.

2.2.1.4 Redox-responzivní biopolymery

Zřetelný rozdíl v redoxním potenciálu mezi intracelulárním a extracelulárním prostorem skýtá příležitost pro perspektivní transport léčiv založený na polymerech, jež obsahují disulfidickou vazbu [6]. Disulfidické vazby jsou kovalentní vazby vyskytující se v přírodních peptidech a proteinech a hrají důležitou roli ve složení a stabilitě proteinů. Snadno se štěpí v redukčních podmínkách a reoxidují v oxidačních podmínkách. Díky

těmto unikátním vlastnostem byly připraveny některé micely citlivé na redoxní podmínky.

2.2.2 Elektroaktivní biomateriály

Po zjištění, že elektrické signály mohou regulovat buněčnou přilnavost, proliferaci a diferenciaci, byla v mnoha výzkumech snaha začlenit vodivé polymery do biomateriálů s využitím elektrických podnětů. Široce studovaným v medicínských aplikacích mezi vodivými polymery byl poly(pyrrol). Schmidt a spolupracovníci významně přispěli k uplatnění poly(pyrrolu) v biomedicínské oblasti [7]. Dospěli k závěru, že elektrické stimule zvyšují adsorpci sérových proteinů, což pomohlo zlepšit růst a proliferaci buněk. I přes výhody vodivých polymerů stále existují otázky týkající se jejich aplikací. Špatná rozpustnost ve většině běžných rozpouštědlech, nevhodná interakce mezi polymerem a buňkou a nedostatečná biodegradabilita jsou omezení, která je nutné překonat, aby bylo možné tyto vodivé polymery použít jako nosiče v tkáňovém inženýrství. Stejně jako modely vodivých polymerů, tak i oligomery disponují mnoha výhodami oproti polymerům. Mezi tyto výhody patří dobrá rozpustnost a jednodušší syntéza.

Většina elektroaktivních polymerů obsahující oligomery se nerozpouští ve vodě, což brání jejich aplikaci *in vivo*. Nový druh vodorozpustného elektroaktivního polymeru, chitosan zesíťovaný anilinovým pentametrem, byl připraven Chenovou skupinou [8]. Tento nový polymer vykazuje dobrou elektroaktivitu dokonce ve vodném roztoku. Pomocí MTT testu, testu buněčné adheze a hodnocení degradace přítomnosti enzymů bylo potvrzeno, že tyto polymery mají dobrou biokompatibilitu a biodegradabilitu. Elektroaktivní polymery mohou zvýšit neuronální diferenciaci PC-12 buněk dokonce bez další elektrické stimule. Vysoká vodivost u vodivých polymerů má vliv na růst a diferenciaci buněk. Přesto oligomery nemající vysokou vodivost a polymery obsahující oligomery vykazují též zvýšení buněčné diferenciaci bez další elektrické stimule.

Ačkoliv vodivé polymery mají dobrou biokompatibilitu a mohou stimulovat buněčnou diferenciaci při elektrické stimulaci, nedegradabilita polymerů a složitost při zpracování může brzdit jejich uplatnění v medicíně. Polymery obsahující elektroaktivní oligomery nemají jen dobrou rozpustnost a biokompatibilitu, ale také mohou stimulovat diferenciaci buněk i bez další stimule. Při objasnění mechanismu mezi elektroaktivitou a buněčnou diferenciací mohou mít elektroaktivní biomateriály

větší uplatnění v tkáňovém inženýrství nervového systému, v kardiovaskulárním tkáňovém inženýrství atd.

2.2.3 Specifické spojování biopolymerů

Biodegradabilní systémy byly popsány a použity ve studiích nanokonjugátů polymerů pro přenos léčiv jako jsou poly(L-glutámová kyselina), poly(L-histidin), polysacharidy a PLLA, PLGA. Došlo ke zvýšení permeability a retenčního efektu na nádorové cévy a ke zvýšení jejich ukládání v nádorech - k strategii tzv. pasivního cílení [9]. Pasivní cílení může přiblížit nanočástice k buňkám nádoru, avšak nedochází k přímé interakci s nádorovými buňkami. To má za následek snížení účinnosti léčby nádoru.

2.2.4 Biopolymery pro sledování a zobrazování biologických materiálů

Sledování a zobrazování biologických materiálů jako je optické zobrazování, magnetická rezonance, nukleární zobrazování a ultrazvuk jsou důležitými nástroji pro léčebnou diagnózu a léčbu. Jsou používány v klinických aplikacích k poskytnutí převážně buď anatomických informací, nebo funkčních informací na makroskopické úrovni. Nicméně aktuální zobrazovací metody mají slabou citlivost a specifiku, což brání jejich aplikaci. V posledních letech zobrazovací metody biologických materiálů založených na biopolymerech vycházejí z kombinace zobrazovacích komponentů a biodegradabilních syntetických polymerů, jako je blok, roub, větvení, polyvalentní kopolymery a dendritické polymery s vylepšenou stabilitou, nízkou toxicitou, dlouhým poločasem a zlepšenou cílenou specifikou [10].

2.3 BIOMEDICÍNSKÉ APLIKACE

2.3.1 Zdravotnické prostředky

Syntetické biodegradabilní polymery přilákaly značnou pozornost pro aplikace zdravotnických prostředků a budou hrát důležitou roli v použití a funkci zdravotnických prostředků. Obecná kritéria polymerních materiálů používaných pro zdravotnické prostředky zahrnují mechanické vlastnosti a dobu relativní stability potřebnou pro správnou funkci zdravotnických prostředků. Navíc by materiály neměly vyvolávat toxické či imunitní odpovědi a po splnění svých úkolů by měly být v těle metabolizovány. Podle těchto požadavků byly navrženy a použity různé syntetické biodegradabilní polymery. Některé syntetické biodegradabilní polymery, které jsou používány nebo mají potenciál ve vybraných oblastech, jsou shrnuty níže.

2.3.1.1 Stenty potažené léčivy

Stent potažený léčivem je široce používán jako standardní léčba pro pacienty s ischemickou chorobou srdeční. Biodegradabilní polymery jsou používány jako biodegradabilní a bioresorbovatelný povlak na stentech a umožňují řízené uvolňování léčiv. Ve studiích Excel[®] (JW Medical System, China), Cura[®] (Orbus Neich, Fort Lauderdale, Florida) nebo Supralimus[®] (Sahajanand Medical Technologies, Indie) byly zkoumány některé stenty z nerezové oceli potažené sirolimem a poly(mléčnou kyselinou)[11]. Dále byly popsány stenty potažené vrstvou polyuretanu, která disponuje vhodnými vlastnostmi pro řízeným uvolňováním léčiv. Některé biodegradabilní polymery mají dobré mechanické vlastnosti, jež zabrání deformaci nebo zlomení stentu. Poly-(L-mléčná kyselina) (PLLA) byla použita pro přípravu plně degradabilního stentu [12] a stentu everolimus-PLLA. Tyto stenty prošly klinickým hodnocením.

2.3.1.2 Ortopedické prostředky

V roce 1960 byl poly(glykolid) použit pro přípravu kompletně biodegradabilního a bioresorbovatelného stentu. Od té doby poly(glykolid), poly(laktid) a ostatní materiály, např. poly(dioxanon), poly(trimethylen carbonat), poly(ϵ -kaprolakton) a poly[D,L-(laktid-ko-glykolid)], jsou běžně používány jako zdravotnické prostředky. Ortopedické prostředky vyrobené z biodegradabilních materiálů jsou výhodnější než prostředky vyrobené z kovu nebo nedegradibilních materiálů. Především není

potřeba sekundární operace k odstranění implantovaných prostředků. Mnoho komerčních ortopedických fixačních pomůcek, tj. čepy a tyče pro fixaci kostní zlomeniny, šrouby a destičky pro orofaciální opravy, jsou vyrobeny z PLLA, polyglykolidu nebo ostatních biodegradabilních polymerů. Ve studii od Middletona a Tiptona [13] je shrnuto, že mnoho ortopedických fixačních pomůcek je komerčně dostupných.

2.3.1.3 Jednorázové zdravotnické prostředky

V 21. století se faktory životního prostředí dotýkají všech výrobních odvětví. Mnoho jednorázových zdravotnických prostředků, jako injekční stříkačky, chirurgické rukavice, podložky atd., je obvykle vyrobených z nedegradabilních plastů, což vyvolává otázky nejen na poli ekonomickém, ale i v oblasti životního prostředí. Poly(mléčná kyselina), polyglykolid, poly[D,L-(laktid-ko-glykolid)] a poly(ϵ -kaprolakton) jsou plně biodegradabilní. Proto jsou slibnými materiály pro použití jako jednorázového zdravotnického prostředku splňujícího požadavky pro šetrné životní prostředí. Tyto biodegradabilní polymery jsou používány k výrobě některých jednorázových zdravotnických prostředků a budou mít pravděpodobně stále se rozšiřující komerční uplatnění.

2.3.1.4 Ostatní zdravotnické prostředky

Biodegradabilní polymery jsou také používány k výrobě anastomózních prstenců používaných pro resekci střeva, k řízenému uvolňování léčiv, k výrobě *in situ* tvořících se implantátů a k výrobě stentů užívaných v urologii.

2.3.2 Tkáňové inženýrství

Tkáňové inženýrství je interdisciplinární oblast, která používá principy inženýrství a biologických věd k rozvoji biologických náhrad sloužících k obnově, zachování nebo zlepšení tkáňových funkcí [14]. Hlavním účelem tkáňového inženýrství je překonat nedostatek dárců tkání a zabránit vyvolání imunitní odpovědi mezi receptory příjemce a tkání dárce. V procesu tkáňového inženýrství jsou buňky kultivovány na nosičích pro vytvoření přirozené tkáně. Poté se pacientům takto vytvořená tkáň implantuje. V některých případech *in vivo* se implantuje přímo nosič nebo nosič s buňkami a tělo

hostitele pak pracuje jako bioreaktor k výstavbě tkáně nové. Úspěšnost implantátu do značné míry závisí na vlastnostech trojrozměrného porézního nosiče. Ideální nosič by měl být biodegradovatelný, bioabsorbovatelný a podporující vytvoření nových tkání. Navíc, nosič musí být biokompatibilní, neměl by tedy vyvolat zánět nebo imunitní reakci a musí disponovat správnými mechanickými vlastnostmi podporujícími růst nové tkáně.

Syntetické polymery jako jsou PLLA, PCL, PGA, polyglykolid a poly[D,L-(laktid-koglykolid)] a poly(ϵ -kaprolakton) mají vynikající biokompatibilitu a dobré mechanické vlastnosti. Tyto polymery získaly licenci od FDA pro *in vivo* aplikaci. Proto jsou nejpoužívanějším materiálem pro výrobu nosičů používaných v tkáňovém inženýrství. Značný výzkum byl proveden na těchto polymerech používaných jednak v kostním tkáňovém inženýrství [15], tkáňovém inženýrství kloubní chrupavky, kardiovaskulárním tkáňovém inženýrství, jednak v oblasti náhrady cév, srdečních chlopní, tenkého střeva, nervové regenerace, i jako kožní náhrady pro regeneraci pokožky, výměně vazů a v urogenitální oblasti. Ostatní syntetické polymery jako polyanhydrid, polyuretan, polyelektroaktivní materiály, polyfosfoester, polykarbonát, polyesteramid, polyaminokyselina, biodegradabilní hydrogely, polyesteruretan, polypropylenfumarát jsou také biodegradabilní a představují případné uplatnění v tkáňovém inženýrství.

Některé aplikace a potenciální využití syntetických biopolymerů:

polyanhydrid	kostní tkáňové inženýrství
polyuretan	cévní tkáňové inženýrství
polyelektroaktivní materiály	tkáňové inženýrství nervového systému
polyfosfoester	kostní tkáňové inženýrství
polypropylenfumarát	kostní tkáňové inženýrství
polyesteruretan	urogenitální tkáňové inženýrství

Omezením těchto syntetických polymerů je, že materiály nevyvolávají dostatek biologických podnětů, které mohou podpořit adhezi buněk, proliferaci a tkáňovou obnovu. Za účelem zlepšení biologických vlastností syntetizovaných polymerů a zlepšení jejich interakcí s buňkami byly použity k přípravě nosičů v tkáňovém inženýrství směsi syntetických biodegradabilních polymerů s přírodních polymerů nebo přírodními polymery modifikované syntetické biodegradabilní polymery nebo směsi

biodegradabilních polymerů. Navíc biopolymery s funkčními skupinami nebo syntetizované polymery modifikované různými metodami nabízejí mnoho potenciálních aplikací. Např. Deng a kolektiv [16] připravil nový typ triblokového kopolymeru poly(glutamová kyselina)-b-poly(L-mléčná)-b-poly(glutamová kyselina), s PLLA řetězci jako hydrofobní částí a polyglutamovou kyselinou jako hydrofilní částí. Arginin-glycin-asparagová kyselina byla připojena k polymernímu řetězci za účelem přípravy polymeru s vylepšenou biokompatibilitou a zvýšenou buněčnou přilnavostí.

Huang a kolektiv [17] připravil druh bioelektroaktivního triblokového kopolymeru (PLLA-PA-PLLA) mající dobrou elektroaktivitu a biodegradabilitu zajišťující případné využití jako nosiče v kardiovaskulárním tkáňovém inženýrství nebo v tkáňovém inženýrství nervového systému.

Wang a kol. [18] přezkoumal různé metody modifikující povrchové vlastnosti PLA pro použití jako nosiče v tkáňovém inženýrství.

Syntetizované biodegradabilní polymery byly použity k přípravě nanokompozitů v tkáňovém inženýrství, které kombinují výhody různých materiálů. Většina výzkumu týkajícího se výše popsaných materiálů se stále ještě vyvíjí a praktické využití je otázkou budoucnosti.

2.3.3 Transport léčiv a řízené uvolňování

Biodegradabilní polymery s reaktivními skupinami nebo responzivními charakteristikami jsou široce zkoumány z důvodu uplatnění v transportu léčiv a řízeném uvolňování. Biodegradabilní polymery, jako např. poly(α -jablečná kyselina) s reaktivní karboxylovou skupinou, mohou vytvořit (přes esterové nebo amidové vazby) biodegradabilní makromolekulární proléčivo, čímž dojde ke snížení vedlejších účinků léčiv. Léčiva mohou být uvolňována přes degradaci biodegradabilních polymerů. Ohya a kolektiv připravil konjugáty poly(α -jablečná kyselina)/doxorubicin připojením doxorubicinu k poly(α -jablečné kyselině) přes esterové nebo amidové vazby [19]. Tyto konjugáty vykazovaly mnohem nižší cytotoxickou aktivitu než volný doxorubicin.

Jing a spolupracovníci připravil konjugát poly(etylen glykol)-blok-poly(L-laktid-ko-2-metyl-2-karboxyl-propylenkarbonát)/docetaxel (PEG-b-P(LA-co-MCC/Dtxl) [20]. Tento konjugát vykázal vyšší cytotoxickou aktivitu proti HeLa rakovinovým buňkám. Poly(aminokyseliny) jako poly(glutamová kyselina) a poly(L-lysin) mají vysokou hustotu bočních reaktivních skupin (karboxylů nebo aminů) pro coupling reakce.

Konjugát poly(glutamová kyselina)–paklitaxel (CT-2103[®], CELL Therapeutics) dosáhl třetí fázi klinického zkoušení [21] a představuje nadějnou léčbu pacientů s pokročilým nemalobuněčným karcinomem plic.

Pacienti na CT-2103 potřebovali menší dávky erytrocytů, menší dávky hematopoetických růstových faktorů, méně opioidních analgetik a méně návštěv lékaře než pacienti přijímající gemcitabin nebo vinorelbin [21].

Yoo a kolektiv připravili biodegradabilní polymerní micelární systém zacílený na folát s doxorubicinem [22]. Kyselina listová a doxorubicin byly odděleně konjugovány do formy doxorubicin-poly[D,L-(laktid-ko-glykolid)]-mPEG a poly[D,L-(laktid-ko-glykolid)]-PEG-FOL. Dva diblokové kopolymery byly smíseny s volnou bází doxorubicinu ve vodném roztoku za vzniku směsných micel zachycující doxorubicinové agregáty uvnitř jádra, zatímco kyselina listová byla vystavena na povrchu micely. Micely cílené na folát vykazovaly při *in vitro* testech lepší a selektivnější cílové schopnosti než micely, které konjugovaný folát nemají.

Výsledky experimentů *in vivo* na zvířatech s micelárním systémem zacíleným na folát tedy ukázaly významnou regresi nádorů a zvýšenou akumulaci doxorubicinu v nádorové tkáni. Tyto výsledky ukázaly, že specifický buněčný transportní systém léčiv lze získat připojením specifických bočních cílových skupin k biodegradabilním polymerům s aktivními skupinami.

Biodegradabilní responzivní polymery jsou široce zkoumány jako potenciální transportní systémy léčiv. Kim a spolupracovníci připravili MPEG-PCL vodný roztok diblokového kopolymeru, který byl ve stavu solu při pokojové teplotě a který procházel za zvýšené teploty fázovým přechodem ze solu na gel [23]. Roztok s léčivem MPEG-PCL za pokojové teploty se při subkutánním injekčním podání krysám okamžitě přeměnil v gel. Trvalé prodloužené uvolňování léčiv bylo v organizmu krys pozorováno po dobu 30 dnů.

Huang a spolupracovníci prokázali uplatnění pH-responzivních micel poly(akrylové kyseliny-b-DL-mléčné) v transportu léčiv a řízeném uvolňování [24]. Uvolňování prednison-acetátu z polymerních micel *in vitro* ukázalo rychlé uvolňování při pH 7,4, zatímco pouze malá část inkorporovaného léčiva byla uvolněna při pH 1,4. Tento pH-responzivní transportní systém má potenciální využití pro transportní systém gastrointestinálního traktu, kde pH prostředí v žaludku je silně kyselé, zatímco ve střevě přechází do neutrálních až bazických hodnot.

Wang a kolektiv zkoumali reaktivní micely založené na bázi diblokového kopolymerů poly(ethylen fosfát) a poly(ϵ -kaprolakton) [25]. Micely byly povrchově konjugovány s galaktosaminem na cílové receptory asialoglykoproteinu (ASGPR) buněk HepG2. Populace HepG2 buněk byla zastavena v G2/M fázi buněčného dělení. Tato pozitivní odpověď na paklitaxel uvolňovaný z galaktosaminem konjugovaných micel poukazuje na to, že povrchová funkcionalizace micel je předpokladem k použití jako transportní systémy léčiv pro vylepšenou chemoterapii.

2.3.4 Genový přenos

Genový přenos má velký potenciál pro léčbu různých lidských nemocí. V poslední době byly navrženy nevirové vektory jako bezpečnější alternativy virových vektorů pro genový transport. Mnoho nosičů je nedegradabilních, tím vzrůstá riziko kumulace v těle, zejména po opakovaném podání. Navíc většina kationtových polymerů vykazuje vysokou toxicitu kvůli nežádoucí interakci mezi kationtovými polymery a membránami, a to v okamžiku, když genové nosiče prostupují přes bariéru do buněk [26]. Způsobují ztrátu cytoplazmatických proteinů, změnu permeability buněčné membrány a kolaps membránového potenciálu. Dobrý genový nosič by měl být schopen dodat cílový gen do určité buňky s vysokou účinností, měl by být také degradabilní a měl by se vylučovat z těla po určité době. Z těchto důvodů jsou biodegradabilní polymery pro genový transport potřebné. Některé výzkumy vyhodnotily jako účinné genové nosiče nedegradabilní polymery s biodegradabilními polykationty navázané přes hydrolyzovatelné vazby [27].

3. CÍL PRÁCE

Úkolem práce bylo navázat na studie degradačního chování polyesterů alifatických hydroxykyselin jednak typu lineární konstituce, jednak typu hvězdicovitě větvených molekul. Cílem bylo ověřit a upřesnit případné souvislosti mezi snižováním molekulové hmotnosti měřené v a.s. Synpo Pardubice metodou SEC MALS, průběhem eroze a botnání jako metodicky svázaných dějů měřených gravimetricky a především připojit výsledky měření hodnot teploty skelného přechodu měřených po dobu 14 dní metodou DSC. Očekávalo se získání nových poznatků o chování polymerů a oligomerů daného typu využitelných při studiu jejich degradace a případně také při optimalizaci liberace aktivních látek.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE

4.1.1 Chemikálie

Destilovaná voda, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Terpolymer tripentaerythritolu (T) a kyseliny mléčné a glykolové (3% T3)

Kopolymer kyseliny mléčné a glykolové (PLGA)

4.1.2 Přístroje

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

Magnetická míchačka, HEIDOLPH MR 3001

Horkovzdušná sušárna, MEMMERT ULE 400

Biologický termostat, BT 50

Vakuová sušárna, BINDER

Váhy CAHN 26

Termický analyzátor DSC 200 F3 Maia

4.1.3 Charakteristika použitých polyesterů

Polymery použité pro experiment byly syntetizovány na katedře farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové.

Syntéza: stupňová polykondenzace ternární směsi, která je složená z ekvimolárního podílu kyseliny DL-mléčné a glykolové kyseliny, jež bylo doplněno větvcím monomerem tripentaerythritolem v hmotnostní koncentraci 3%.

4.1.3.1 Molekulové hmotnosti polymerů při degradaci a stupeň polydisperzity

Tab. 2: PLGA degradace 0-14dnů

Čas	Mn	Mw	Mw/Mn
0	4600	7100	1,54
1	4400	6500	1,48
2	4100	6000	1,46
3	3500	5100	1,46
4	2900	4100	1,41
5	2700	3800	1,41
6	2300	3000	1,30
7	2000	2600	1,30
8	1800	2200	1,22
9	1600	2000	1,25
10	1700	2000	1,18
11	1600	1800	1,13
12	1500	1800	1,20
13	1500	1800	1,20
14	1600	2100	1,31

Tab. 3: T3 degradace 0-14dnů

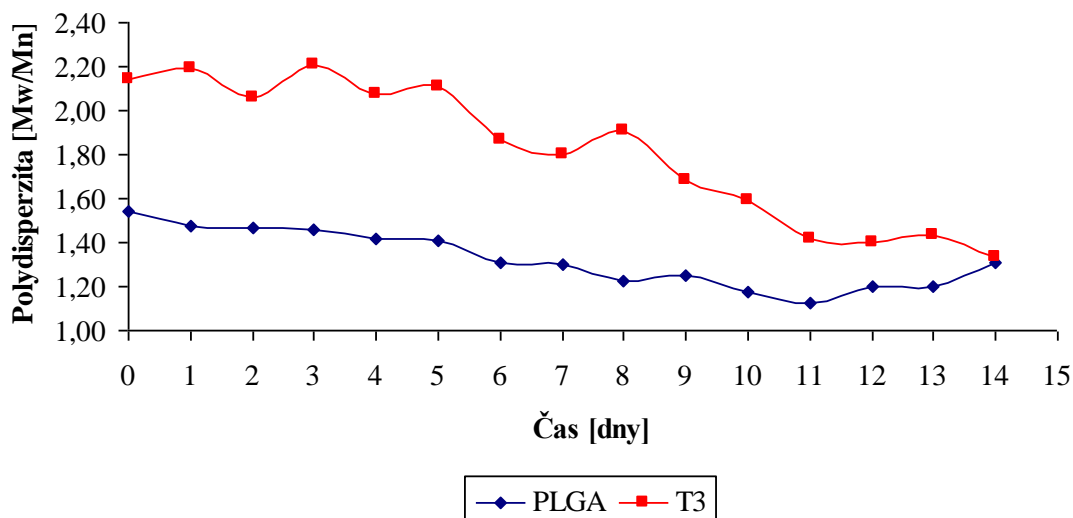
Čas	Mn	Mw	Mw/Mn
0	8600	18400	2,14
1	7300	16000	2,19
2	6900	14200	2,06
3	5300	11700	2,21
4	5400	11200	2,07
5	4700	9900	2,11
6	4500	8400	1,87
7	4000	7200	1,80
8	3200	6100	1,91
9	3200	5400	1,69
10	3200	5100	1,59
11	3600	5100	1,42
12	3500	4900	1,40
13	3000	4300	1,43
14	3600	4800	1,33

Mn číselně střední relativní molekulová hmotnost

Mw hmotnostně střední relativní molekulová hmotnost

Mw/Mn stupeň polydisperzity

Obr 2: Degradace polyesterů z hlediska stupně polydisperzity



4.2 STANOVENÍ STUPNĚ EROZE A STUPNĚ BOTNÁNÍ TESTOVANÝCH NOSIČŮ

4.2.1 Příprava matric

Z bloku PLGA polymeru bylo naváženo množství potřebné pro přípravu matric, navýšené o 20% kvůli předpokládaným ztrátám při jejich výrobě. Daný polymer byl na magnetické míchače roztaven na olejové lázni. Teplota olejové lázně se pohybovala o cca 20°C vyšší než teplota skelného přechodu. Daný polymer nebyl míchán, aby nevznikaly v tavenině vzduchové bubliny. Silikonové hadičky byly mezitím vloženy do horkovzdušné sušárny na zahřátí. Pomocí stříkačky byl polymer natažen do horkých silikonových hadiček a ponechán na rovném místě vychladnout. Poté byla hadička podélně rozříznuta žiletkou a válce polymeru byly vyjmuty. Aby se zabránilo kontaktu s potem a nečistotami na ruku, pracovalo se v chirurgických rukavicích.

Následně byly tyto válce nakrájeny na malé vzorky o délce cca 8mm. Hmotnost takto připravených válečků byla upravena pomocí brusného papíru a žiletky na konečnou hmotnost $150\text{mg}\pm 5\%$, tedy v intervalu 142,5 až 157,5. Takto připravené vzorky byly umístěny do lahvičky a ponechány v exsíkátoru pro další práci. Analogicky se postupovalo i u polymeru T3.

4.2.2 Příprava vzorků

Pro určení stupně botnání a eroze byla použita tělíska A a B, u tělísek C a D, jež byly původně určeny pouze pro DSC analýzu, byly stupně botnání a eroze stanoveny rovněž, ovšem ne u tělísek L(T)1-C(D), L(T)-2-C(D), L(T)-3-C(D), L(T)-8-C(D), L(T)-9-C(D). Výsledky stupně botnání a eroze u těchto tělísek (C a D) se proto mohou zdát neúplné. Toto hodnocení u tělísek C a D však bylo provedeno navíc.

Prázdna scintilační lahvička byla označena kódem, udávající typ polymeru (L, popř. T), počet dní (1-14) a tělísko (A-D). Následně byla zvážena na analytických vahách a hodnota byla zapsána jako m_0 .

Do zvážené lahvičky byl vložen vzorek tak, aby se nedotýkal bočních stěn lahvičky a bylo přidáno 20ml destilované vody. Takto naplněné lahvičky byly uzavřeny a umístěny do biologického termostatu, kde byla nastavena teplota 37°C. Ve 24-ti

hodinových intervalech se měnilo vodné medium. Tento postup se opakoval u všech potřebných lahvíček.

4.2.3 Stanovení stupně eroze a botnání

Lahvičky s jednoznačným kódem byly vyndány z termostatu a z lahvičky se opatrně vylila voda. Kapky vody na stěnách byly vysušeny vatovým tamponem a následně dosoušeny fénem. Vždy se vysoušelo s vysokou opatrností, aby se zabránilo ztrátám vody z nabotnalého vzorku. Takto připravené vzorky byly zváženy na analytických vahách a hodnoty byly zapsány jako m_B .

Lahvičky byly vloženy do vakuové sušárny. Po vysušení do konstantní hmotnosti byly lahvičky zváženy a hodnoty zapsány jako m_S . Vzorky poté byly přemístěny do exsikatoru pro další práci.

Z takto naměřených hodnot byl vypočítán stupeň eroze a botnání.

Stupeň eroze:

$$E = \left(1 - \frac{0,15 - m_S}{0,15}\right) \cdot 100$$

E stupeň eroze [%]

m_S hmotnost vysušeného vzorku [g]

Stupeň botnání:

$$B = \frac{m_B - m_S}{m_S} \cdot 100$$

B stupeň botnání [%]

m_B hmotnost zbotnalého vzorku [g]

m_S hmotnost vysušeného vzorku [g]

4.3 DSC ANALÝZA

Pro DSC analýzu byla použita tělíska C a D polymerů PLGA a T3.

Po dokonalém vysušení zbotnalých matric byl proveden odběr vzorku polymeru. Pracovalo se se zvýšenou opatrností, operovalo se pomocí pinzet, kopistek a špachtlí, jelikož jakýkoliv dotek rukou na kelímku by rušilo hodnocení. Odběr vzorku byl prováděn vždy pokud možno ze stejného místa vysušeného polymeru. Přesně definované množství polymeru bylo naváženo na Cahnových vahách. Toto definované množství vzorku bylo vloženo do kelímku a přikryto zátkou. Kelímek v tomto stavu byl pečlivě zalisován speciálním lisem. Takto připravený vzorek pro analýzu byl vložen do papírového sáčku, jenž byl popsán unikátním kódem definující daný vzorek. Vzorek byl podroben termické analýze za předem definovaných podmínek. Pomocí vyhodnocovacího systému Proteus Analysis byly vzorky vyhodnoceny, a tedy zjištěna teplota skelného přechodu. Teplota skelného přechodu byla zaznamenána jako inflexní bod (Inf). Tyto hodnoty jsou graficky zobrazeny v kapitole Výsledky. Dále jsou v tabulkách zaznamenány hodnoty M_{id} a ΔC_p . Na konci kapitoly Výsledky jsou pro názornost zobrazeny obrázky DSC analýzy vzorků T-6-D, L-10-D, které zachycují typické chování polymerů při termické analýze. Pro srovnání jsou též uvedeny obrázky DSC analýzy vzorků T-10-D a L-7-D zachycující zvláštní chování vzorků.

5. VÝSLEDKY

5.1 TABULKY A OBRÁZKY

Tab. 4: Hodnoty hmotnosti vzorků polymeru PLGA ve zbotnalém a vysušeném stavu	30
Tab. 5: Stupeň botnění nosiče PLGA v % v časovém průběhu	31
Tab. 6: Stupeň eroze nosiče PLGA v % v časovém průběhu	32
Tab. 7: Hodnoty teploty skelného přechodu T_g (°C) - DSC analýza tělíska C polymeru PLGA	32
Tab. 8: Hodnoty teploty skelného přechodu T_g - DSC analýza tělíska D polymeru PLGA	33
Tab. 9: Hodnoty stupně botnění a teploty skelného přechodu po dobu 14 dní v prostředí vody; polymer PLGA	33
Tab. 10: Hodnoty teploty skelného přechodu polymeru PLGA opakovaně měřené	34
Tab. 11: Změřené hodnoty nosiče T3 ve zbotnalém a vysušeném stavu	35
Tab. 12: Stupeň botnění nosiče T3 v % v časovém průběhu	36
Tab. 13: Stupeň eroze nosiče T3 (%) v časovém průběhu	37
Tab. 14: Hodnoty teploty skelného přechodu T_g - DSC analýza tělíska C polymeru T3	37
Tab. 15: Hodnoty teploty skelného přechodu T_g - DSC analýza tělíska D polymeru T3	38
Tab. 16: Hodnoty stupně botnění a teploty skelného přechodu po dobu 14 dní v prostředí vody; polymer T3	38
Tab. 17: Opakovaně měřené hodnoty z DSC analýzy pro polymer T3 po dlouhodobém sušení	39
Obr. 3: Stupeň botnění (%) nosiče PLGA v časovém průběhu	40
Obr. 4: Stupeň eroze (%) nosiče PLGA v časovém průběhu	40
Obr. 5: Hodnoty T_g (DSC analýza) tělísek C, D polymeru PLGA	41
Obr. 6: Průměrné hodnoty stupně botnění a teploty skelného přechodu polymeru PLGA	41
Obr. 7: Hodnoty teploty skelného přechodu polymeru PLGA opakovaně měřené	42
Obr. 8: Stupeň botnění (%) nosiče T3 v časovém průběhu	42
Obr. 9: Stupeň eroze (%) nosiče T3 v časovém průběhu	43
Obr. 10: Hodnoty T_g (DSC analýza) tělísek C, D polymeru T3	43
Obr. 11: Průměrné hodnoty stupně botnění a teploty skelného přechodu polymeru T3	44
Obr. 12: Opakovaně měřené hodnoty z DSC analýzy pro polymer T3	44
Obr. 13: Průměrné hodnoty stupně botnění obou testovaných polymerů	45
Obr. 14: Průměrné hodnoty hodnot stupně eroze obou testovaných polymerů	45
Obr. 15: Průměrné hodnoty teploty skelného přechodu T_g obou testovaných polymerů	46
Obr. 16: DSC analýza vzorku T-6-D	47
Obr. 17: DSC analýza vzorku L-10-D	47
Obr. 18: DSC analýza vzorku T-10-D	48
Obr. 19: DSC analýza vzorku L-7-D	48

Tab. 4: Hodnoty hmotnosti vzorků polymeru PLGA ve zbotnalém a vysušeném stavu

	m_B+m_0	m_0	m_S+m_0	m_S	m_B
L1A	18,9227	18,7616	18,9141	0,1525	0,1611
L1B	18,8911	18,7322	18,8809	0,1487	0,1589
L1C		18,8413	18,9932	0,1519	
L1D		18,8102	18,9612	0,1510	
L2A	19,0383	18,8706	19,0215	0,1509	0,1677
L2B	19,0876	18,9201	19,0731	0,1530	0,1675
L2C		18,7077	18,8520	0,1443	
L2D		18,8916	19,0441	0,1525	
L3A	18,9291	18,7461	18,8990	0,1529	0,1830
L3B	19,0820	18,9108	19,0642	0,1534	0,1712
L3C		18,8662	19,0189	0,1527	
L3D		18,8516	18,9989	0,1473	
L4A	19,0210	18,8181	18,9619	0,1438	0,2029
L4B	18,9398	18,7441	18,8961	0,1520	0,1957
L4C	19,0036	18,8251	18,9693	0,1442	0,1785
L4D	19,0676	18,8680	19,0168	0,1488	0,1996
L5A	19,1184	18,9193	19,0637	0,1444	0,1991
L5B	18,8990	18,6965	18,8441	0,1476	0,2025
L5C	19,0648	18,8556	19,0045	0,1489	0,2092
L5D	19,0354	18,8182	18,9697	0,1515	0,2172
L6A	18,9874	18,7896	18,9360	0,1464	0,1978
L6B	18,9617	18,7664	18,9115	0,1451	0,1953
L6C	18,9058	18,7083	18,8542	0,1459	0,1975
L6D	19,0987	18,8922	19,0388	0,1466	0,2065
L7A	19,0147	18,7919	18,9431	0,1512	0,2228
L7B	18,9441	18,7319	18,8776	0,1457	0,2122
L7C	18,9909	18,7767	18,9218	0,1451	0,2142
L7D	18,8820	18,7016	18,8407	0,1391	0,1804
L8A	18,9881	18,7706	18,9133	0,1427	0,2175
L8B	19,1483	18,9308	19,0725	0,1417	0,2175
L8C		18,8060	18,9385	0,1325	
L8D		18,8600	19,0012	0,1412	
L9A	19,0676	18,8630	18,9981	0,1351	0,2046
L9B	19,2041	19,0105	19,1403	0,1298	0,1936
L9C		18,8157	18,9467	0,1310	
L9D		18,9343	19,0616	0,1273	
L10A	18,8886	18,7052	18,8273	0,1221	0,1834
L10B	19,0863	18,9166	19,0334	0,1168	0,1697

L10C	18,9380	18,7647	18,8790	0,1143	0,1733
L10D	19,1712	19,0033	19,1161	0,1128	0,1679
L11A	19,0807	18,9211	19,0256	0,1045	0,1596
L11B	19,0394	18,8832	18,9860	0,1028	0,1562
L11C	19,0300	18,8810	18,9834	0,1024	0,1490
L11D	18,9840	18,8391	18,9373	0,0982	0,1449
L12A	19,0446	18,9127	19,0049	0,0922	0,1319
L12B	19,0241	18,9007	18,9904	0,0897	0,1234
L12C	18,8618	18,7399	18,8312	0,0913	0,1219
L12D	18,8292	18,7259	18,8036	0,0777	0,1033
L13A	19,0268	18,9092	18,9888	0,0796	0,1176
L13B	19,1142	19,0043	19,0819	0,0776	0,1099
L13C	18,9833	18,8604	18,9430	0,0826	0,1229
L13D	18,9326	18,8292	18,9033	0,0741	0,1034
L14A	18,8936	18,7892	18,8630	0,0738	0,1044
L14B	18,8121	18,7082	18,7802	0,0720	0,1039
L14C	18,9462	18,8525	18,9232	0,0707	0,0937
L14D	18,9370	18,8406	18,9128	0,0722	0,0964

Tab. 5: Stupeň botnění nosiče PLGA v % v časovém průběhu

Čas[dny]	Vzorek			
	A	B	C	D
1	5,64	6,86		
2	11,13	9,48		
3	19,69	11,60		
4	41,10	28,75	23,79	34,14
5	37,88	37,20	40,50	43,37
6	35,11	34,60	35,37	40,86
7	47,35	45,64	47,62	29,69
8	52,42	53,49		
9	51,44	49,15		
10	50,20	45,29	51,62	48,85
11	52,73	51,95	45,51	47,56
12	43,06	37,57	33,52	32,95
13	47,74	41,62	48,79	39,54
14	41,46	44,31	32,53	33,52

Tab. 6: Stupeň eroze nosiče PLGA v % v časovém průběhu

Čas[dny]	Vzorek			
	A	B	C	D
1	101,67	99,13	101,27	100,87
2	100,60	102,00	96,33	102,00
3	101,93	102,27	101,87	98,80
4	95,87	101,33	96,27	99,53
5	96,27	98,40	99,47	101,07
6	97,60	96,73	97,47	97,80
7	100,80	97,13	97,40	93,40
8	95,13	94,47	88,67	94,47
9	90,07	86,53	87,33	84,93
10	81,40	77,87	76,27	75,60
11	69,67	68,53	68,33	65,53
12	61,47	59,80	61,00	52,07
13	53,07	51,73	55,47	49,40
14	49,20	48,00	47,67	48,20

Tab. 7: Hodnoty teploty skelného přechodu T_g (°C) - DSC analýza tělíska C polymeru PLGA

Čas[dny]	Inf	Mid	ΔC_p [J/(g.K)]
0	38,0	36,9	0,631
1	36,8	34,4	0,652
2	33,0	32,3	0,759
3	24,1	25,1	0,685
4	23,0	22,4	0,685
5	16,6	16,6	0,710
6	16,3	19,3	0,704
7	14,6	17,1	0,547
8	4,3	10,7	0,328
9	9,6	10,9	0,637
10	17,0	13,5	0,622
11	19,0	18,9	0,329
12	18,7	18,3	0,450
13	10,1	8,7	0,672
14	10,6	10,7	0,739

Tab. 8: Hodnoty teploty skelného přechodu T_g - DSC analýza tělíska D polymeru PLGA

Čas[dny]	Inf	Mid	$\Delta C_p[J/(g.K)]$
0	38,0	36,9	0,631
1	35,9	35,3	0,781
2	34,6	32,0	0,725
3	28,7	25,8	0,726
4	22,8	21,8	0,708
5	13,0	29,0	0,171
6	9,9	15,9	0,703
7	14,2	23,6	0,128
8	10,1	19,2	0,325
9	10,4	12,2	0,226
10	15,1	13,5	0,272
11	17,1	18,7	0,181
12	12,1	18,9	0,203
13	15,8	14,0	0,762
14	13,0	12,7	0,768

Tab. 9: Hodnoty stupně botnění a teploty skelného přechodu po dobu 14 dní v prostředí vody; polymer PLGA

Čas [dny]	Průměr stupně botnění [%]	průměr T_g [dny]	průměr stupeň eroze [%]
0	0,00	38,00	100,00
1	6,25	36,35	100,73
2	10,31	33,80	100,23
3	15,64	26,40	101,22
4	34,92	22,90	98,25
5	37,54	14,80	98,80
6	34,85	13,10	97,40
7	46,50	14,40	97,18
8	52,96	7,20	93,18
9	50,30	10,00	87,22
10	47,75	16,05	77,78
11	52,34	18,05	68,02
12	40,31	15,40	58,58
13	44,68	12,95	52,42
14	42,88	11,80	48,27

Tab. 10: Hodnoty teploty skelného přechodu polymeru PLGA opakovaně měřené

název vzorku	čas [dny]	Inf °C]
0-37	0	29,1
1-37	1	18,3
2-37	2	17,8
3-37	3	10,9
4-37	4	12,7
4-37-2	4	10,2
5-37	5	8,9
5-37-2	5	9,8
5-37-B-3	5	7,7
6-37	6	12,2
6-37-B-3	6	-5,5
6-37-B-4	6	12,3
7-37	7	13,6
7-37-2	7	13,6
7-37-B-2	7	7,5
8-37	8	2,2
8-37-2	8	2,2
8-37-3	8	16,1
8-37-B-2	8	-0,7
8-37-B-3	8	12,3
9-37	9	16,4
9-37-2	9	5,5
9-37-B-2	9	-0,9
9-37-B-3	9	13,5
10-37	10	18,4
10-37-2	10	8
11-37	11	9,6
11-37-2	11	6,7
12-37	12	14,9
12-37-B	12	7,4
12,5-37-B-3	12,5	-9,7
12,5-37-B-4	12,5	2,3
13-37	13	13,4
14-37	14	17,7
15-37	15	15,4

Tab. 11: Změřené hodnoty nosiče T3 ve zbotnalém a vysušeném stavu

	m_{B+m_0}	m_0	m_s+m_0	m_s	m_B
T1A	18,9280	18,7651	18,9177	0,1526	0,1629
T1B	19,0225	18,8611	19,0123	0,1512	0,1614
T1C		18,7924	18,9414	0,1490	
T1D		18,8667	19,0142	0,1475	
T2A	18,8741	18,7143	18,8638	0,1495	0,1598
T2B	18,9775	18,8208	18,9659	0,1451	0,1567
T2C		18,8271	18,9801	0,1530	
T2D		18,6793	18,8276	0,1483	
T3A	19,0090	18,8460	18,9958	0,1498	0,1630
T3B	19,0435	18,8798	19,0339	0,1541	0,1637
T3C		18,8447	18,9961	0,1514	
T3D		18,9227	19,0796	0,1569	
T4A	18,9451	18,7707	18,9192	0,1485	0,1744
T4B	19,0079	18,8244	18,9778	0,1534	0,1835
T4C	18,8615	18,6877	18,8357	0,1480	0,1738
T4D	18,9854	18,8095	18,9604	0,1509	0,1759
T5A	18,9912	18,8154	18,9678	0,1524	0,1758
T5B	18,8101	18,6338	18,7876	0,1538	0,1763
T5C	18,8689	18,6955	18,8456	0,1501	0,1734
T5D	18,9746	18,8059	18,9495	0,1436	0,1687
T6A	18,8987	18,7109	18,8616	0,1507	0,1878
T6B	19,0664	18,8763	19,0278	0,1515	0,1901
T6C	18,8921	18,7091	18,8596	0,1505	0,1830
T6D	18,8977	18,7066	18,8601	0,1535	0,1911
T7A	19,0035	18,8118	18,9608	0,1490	0,1917
T7B	19,0505	18,8677	19,0107	0,1430	0,1828
T7C	19,0255	18,8395	18,9845	0,1450	0,1860
T7D	19,0744	18,8805	19,0305	0,1500	0,1939
T8A	19,0169	18,8265	18,9746	0,1481	0,1904
T8B	19,0591	18,8677	19,0134	0,1457	0,1914
T8C		18,8800	19,0239	0,1439	
T8D		18,9298	19,0760	0,1462	
T9A	19,0535	18,8512	18,9954	0,1442	0,2023
T9B	19,0403	18,8353	18,9801	0,1448	0,2050
T9C		18,7101	18,8418	0,1317	
T9D		18,8381	18,9715	0,1334	
T10A	18,9384	18,7442	18,8775	0,1333	0,1942
T10B	19,0113	18,8057	18,9420	0,1363	0,2056
T10C	18,9721	18,7603	18,9022	0,1419	0,2118

T10D	19,1165	18,9055	19,0408	0,1353	0,2110
T11A	18,9560	18,7652	18,8777	0,1125	0,1908
T11B	18,9053	18,7025	18,8237	0,1212	0,2028
T11C	19,0804	18,8663	18,9835	0,1172	0,2141
T11D	15,7579	15,5557	15,6747	0,1190	0,2022
T12A	19,0446	18,9127	19,0050	0,0923	0,1319
T12B	19,0241	18,9007	18,9903	0,0896	0,1234
T12C	18,8618	18,7399	18,8314	0,0915	0,1219
T12D	18,8292	18,7259	18,8039	0,0780	0,1033
T13A	15,6339	15,4640	15,5669	0,1029	0,1699
T13B	15,6532	15,4750	15,5805	0,1055	0,1782
T13C	15,6793	15,5066	15,6091	0,1025	0,1727
T13D	15,5038	15,3188	15,4207	0,1019	0,1850
T14A	15,6428	15,4870	15,5859	0,0989	0,1558
T14B	15,6792	15,5253	15,6196	0,0943	0,1539
T14C	15,6678	15,5078	15,6053	0,0975	0,1600
T14D	15,7455	15,5923	15,6875	0,0952	0,1532

Tab. 12: Stupeň botnání nosiče T3 v % v časovém průběhu

Čas[dny]	Vzorek			
	A	B	C	D
1	6,75	6,77		
2	6,89	7,99		
3	8,81	6,23		
4	17,44	19,62	17,43	16,57
5	15,35	14,63	15,52	17,48
6	24,62	25,48	21,59	24,50
7	28,66	27,83	28,28	29,27
8	28,56	31,37		
9	40,29	41,57		
10	45,69	50,84	49,26	55,95
11	69,60	67,33	82,68	69,92
12	42,90	37,72	33,22	32,44
13	65,11	68,91	68,49	81,55
14	57,53	63,20	64,10	60,92

Tab. 13: Stupeň eroze nosiče T3 (%) v časovém průběhu

Čas[dny]	Vzorek			
	A	B	C	D
1	101,73	100,77	99,33	98,33
2	99,67	96,73	102,00	98,87
3	99,87	102,73	100,93	104,60
4	99,00	102,27	98,67	100,60
5	101,60	102,53	100,07	95,73
6	100,47	101,00	100,33	102,33
7	99,33	95,33	96,67	100,00
8	98,73	97,13	95,93	97,47
9	96,13	96,53	87,80	88,93
10	88,87	90,87	94,60	90,20
11	75,00	80,80	78,13	79,33
12	61,53	59,73	61,00	52,00
13	68,60	70,33	68,33	67,93
14	65,93	62,87	65,00	63,47

Tab. 14: Hodnoty teploty skelného přechodu T_g - DSC analýza tělíska C polymeru T3

Čas[dny]	Inf	Mid	$\Delta C_p[J/(g.K)]$
0	32,7	31,5	0,566
1	31,4	30,0	0,652
2	26,4	24,2	0,741
3	19,1	20,1	0,654
4	25,1	23,3	0,698
5	18,7	19,5	0,686
6	20,4	18,4	0,701
7	13,1	18,6	0,537
8	7,9	10,7	0,637
9	4,5	10,9	0,494
10	4,7	14,1	0,266
11	20,5	20,5	0,536
12	16,5	19,5	0,694
13	12,8	10,5	0,655
14	15,7	13,9	0,799

Tab. 15: Hodnoty teploty skelného přechodu T_g - DSC analýza tělíska D polymeru T3

Čas[dny]	Inf[°C]	Mid[°C]	$\Delta Cp[J/(g.K)]$
0	32,7	31,5	0,566
1	29,6	27,8	0,713
2	27,8	26,4	0,717
3	25,6	23,2	0,704
4	23,1	23,3	0,706
5	25,5	23,9	0,592
6	19,2	18,8	0,405
7	17,9	19,2	0,325
8	18,5	26,1	0,879
9	5,4	10,0	0,617
10	13,3	13,4	0,604
11	21,2	20,7	0,677
12	24,0	22,1	0,239
13	15,1	16,5	0,675
14	15,2	23,3	0,410

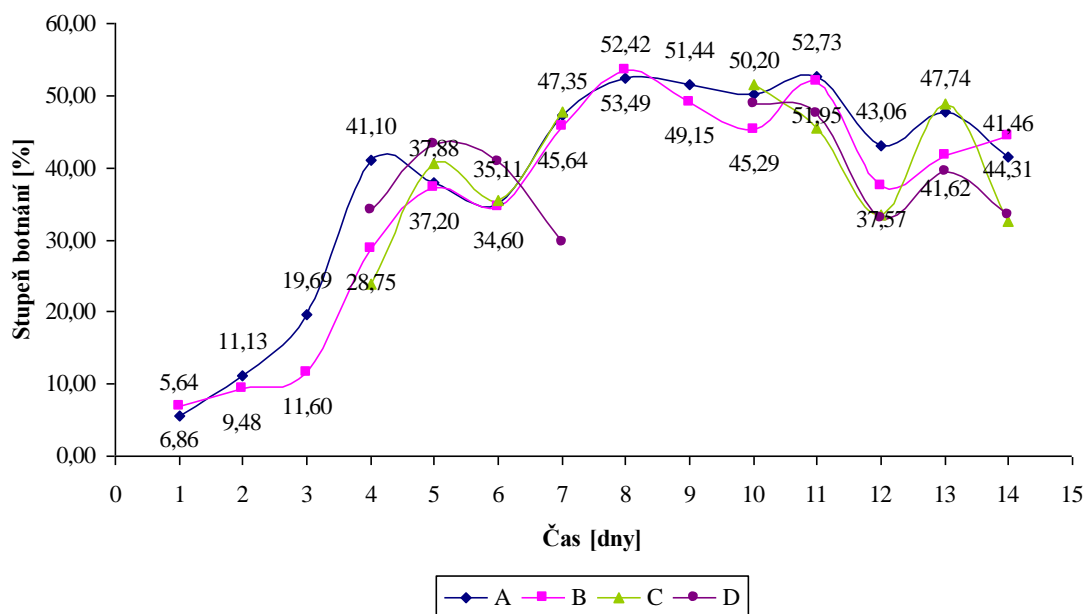
Tab. 16: Hodnoty stupně botnění a teploty skelného přechodu po dobu 14 dní v prostředí vody; polymer T3

Čas [dny]	průměr stupně botnění [%]	průměr T_g [°C]	průměr stupně eroze [%]
0	0	32,70	100
1	6,76	30,50	100,04
2	7,44	27,10	99,32
3	7,52	22,35	102,03
4	18,53	24,10	100,13
5	14,99	22,10	99,98
6	25,05	19,80	101,03
7	28,24	15,50	97,83
8	29,96	13,20	97,32
9	40,93	4,95	92,35
10	48,27	9,00	91,13
11	68,46	20,85	78,32
12	40,31	20,25	58,57
13	67,01	13,95	68,80
14	60,37	15,45	64,32

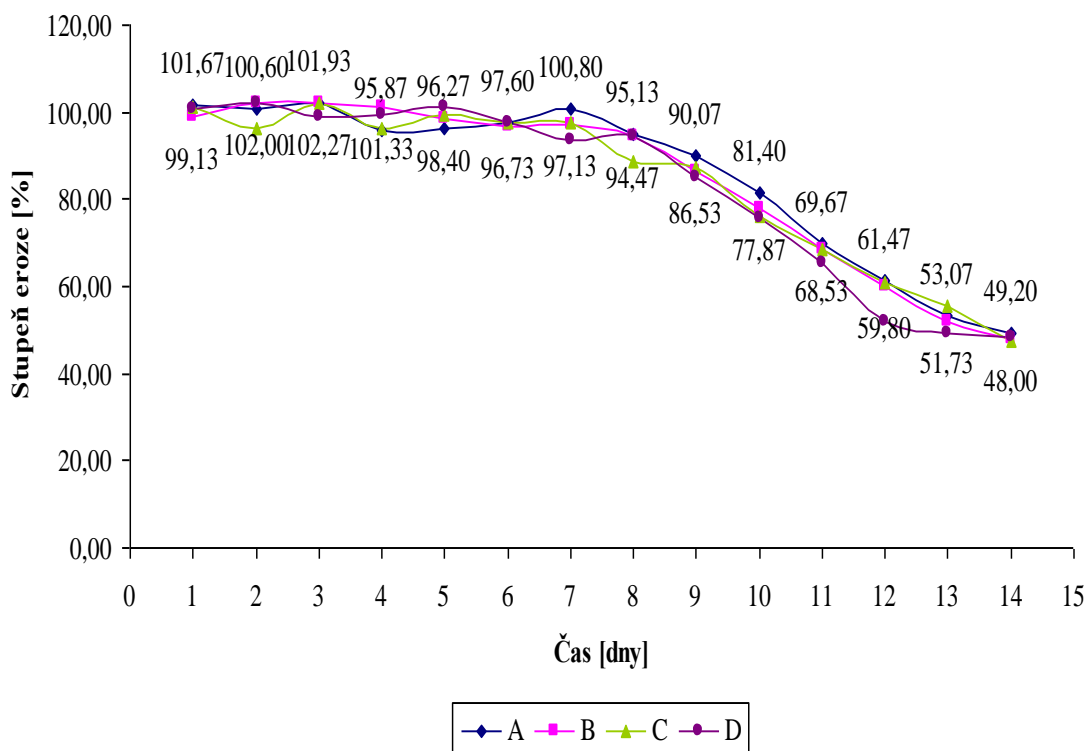
Tab. 17: Opakovaně měřené hodnoty z DSC analýzy pro polymer T3 po dlouhodobém sušení

Čas [dny]	T-C		T-D	
	Inf [°C]		Inf [°C]	
6	20,4	po 21 dnech	20,3	po 20 dnech
7	13,1	po 22 dnech	18,5	po 20 dnech
8	18,5	po 29 dnech	18,5	po 27 dnech
9	22,9	po 30 dnech	32,3	po 28 dnech
10			31,2	po 28 dnech
11	21,5	po 12 dnech		

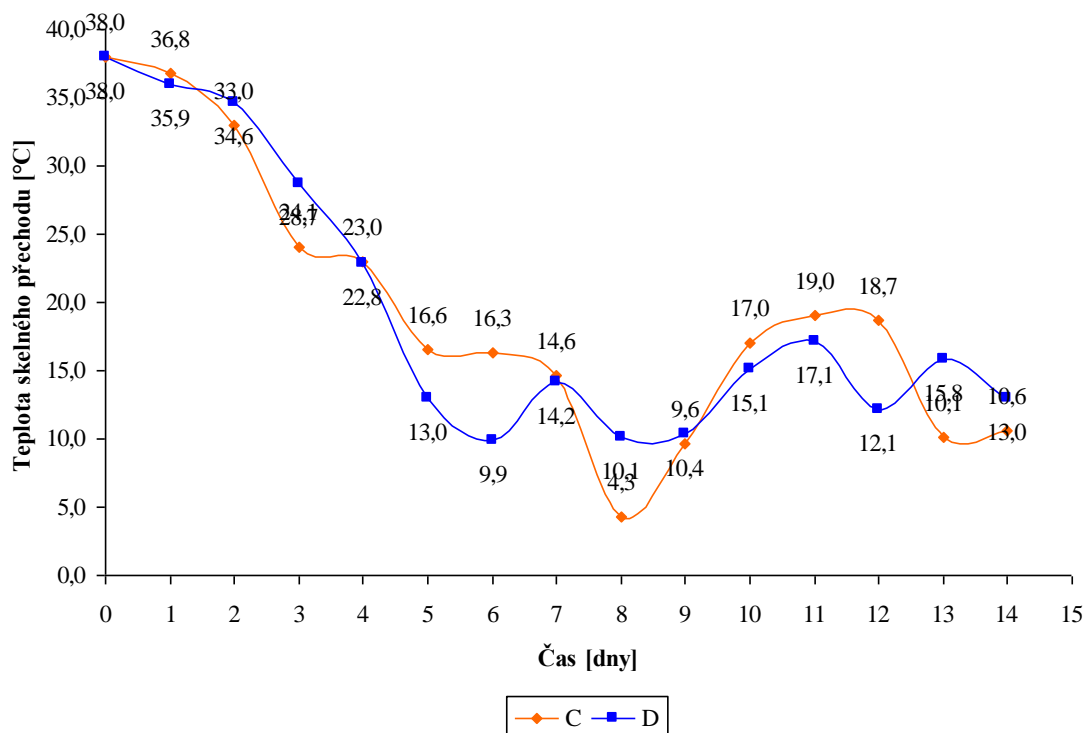
Obr. 3: Stupeň botnání (%) nosiče PLGA v časovém průběhu



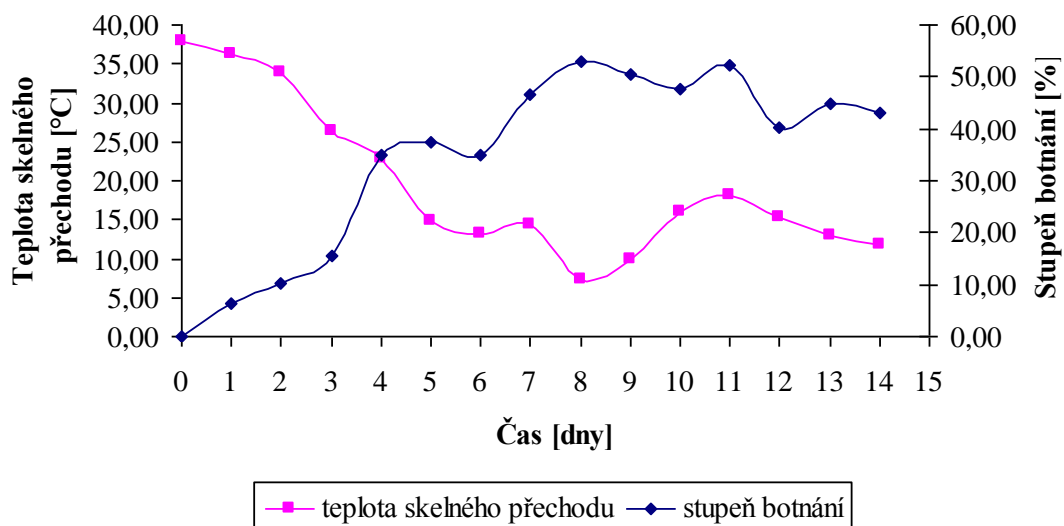
Obr. 4: Stupeň eroze (%) nosiče PLGA v časovém průběhu



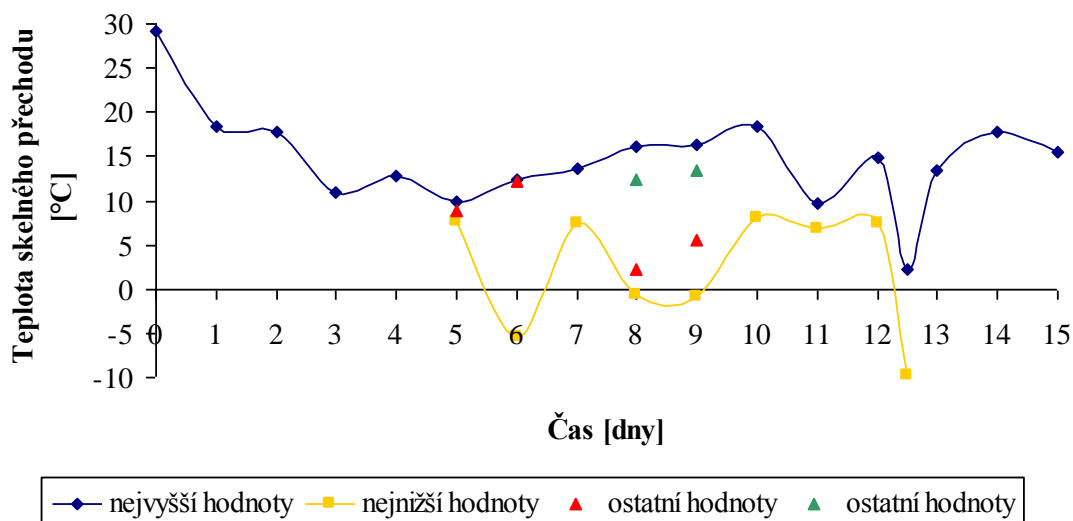
Obr. 5: Hodnoty T_g (DSC analýza) tělísek C, D polymeru PLGA



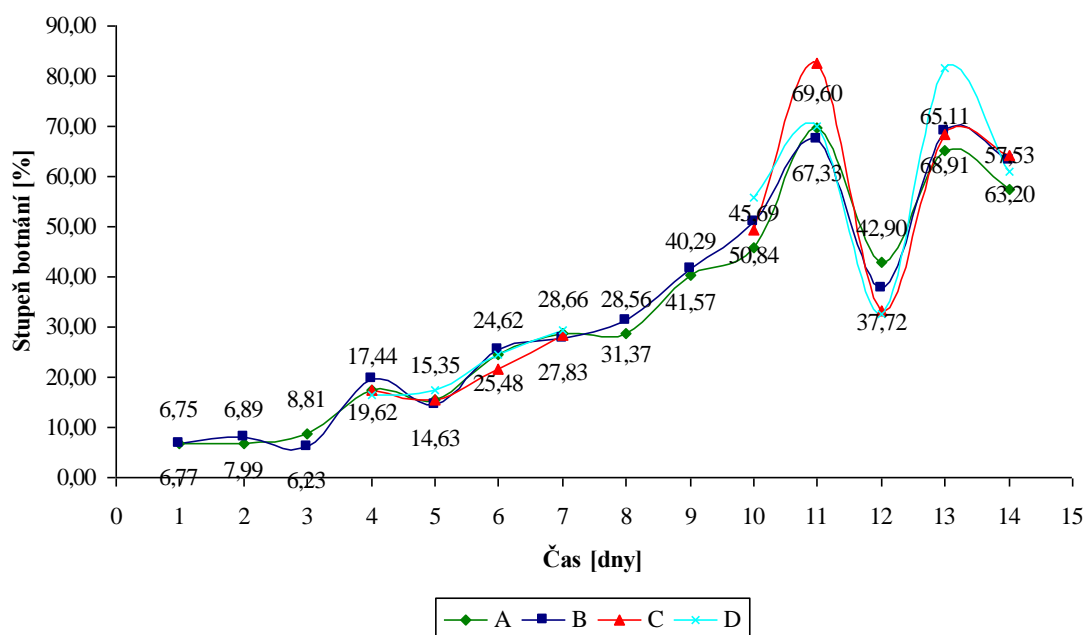
Obr. 6: Průměrné hodnoty stupně botnění a teploty skelného přechodu polymeru PLGA



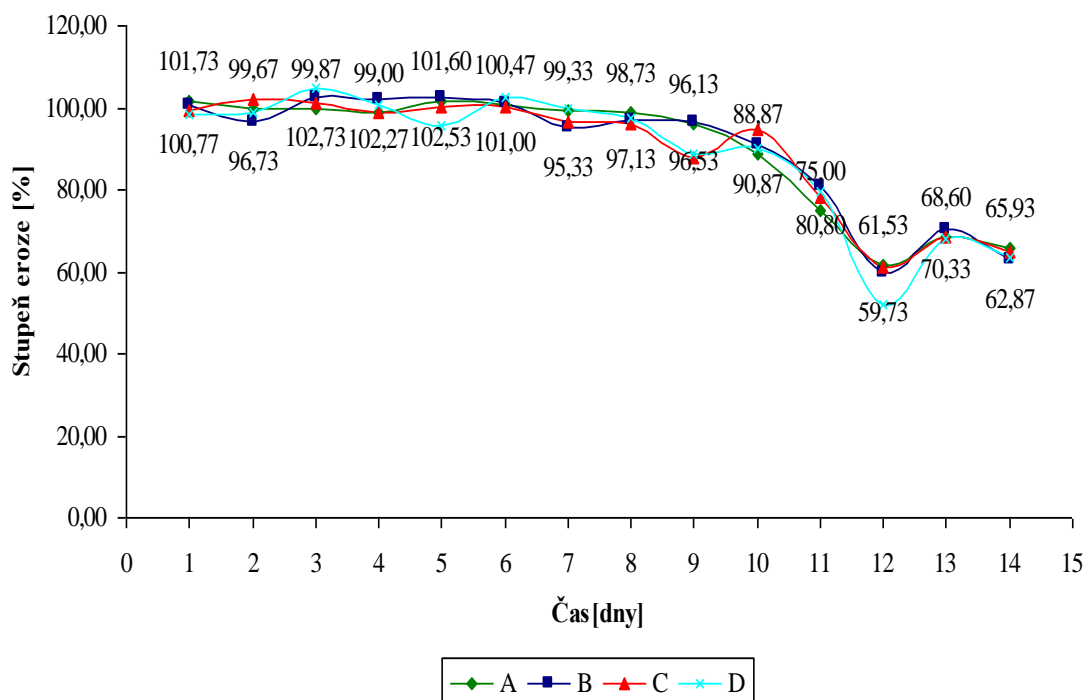
Obr. 7: Hodnoty teploty skelného přechodu polymeru PLGA opakovaně měřené



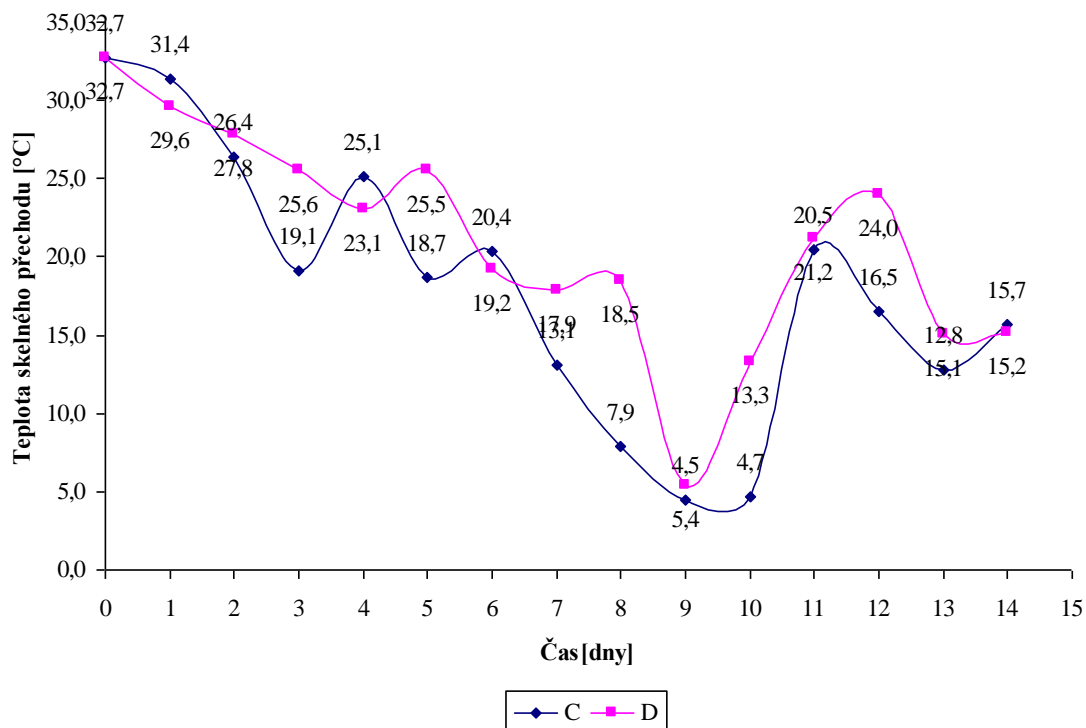
Obr. 8: Stupeň botnění (%) nosiče T3 v časovém průběhu



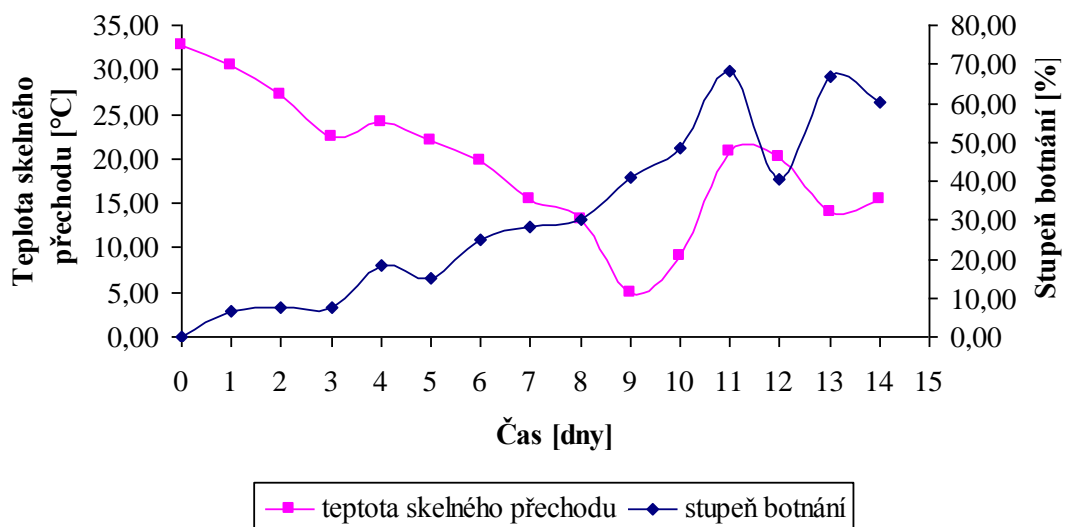
Obr. 9: Stupeň eroze (%) nosiče T3 v časovém průběhu



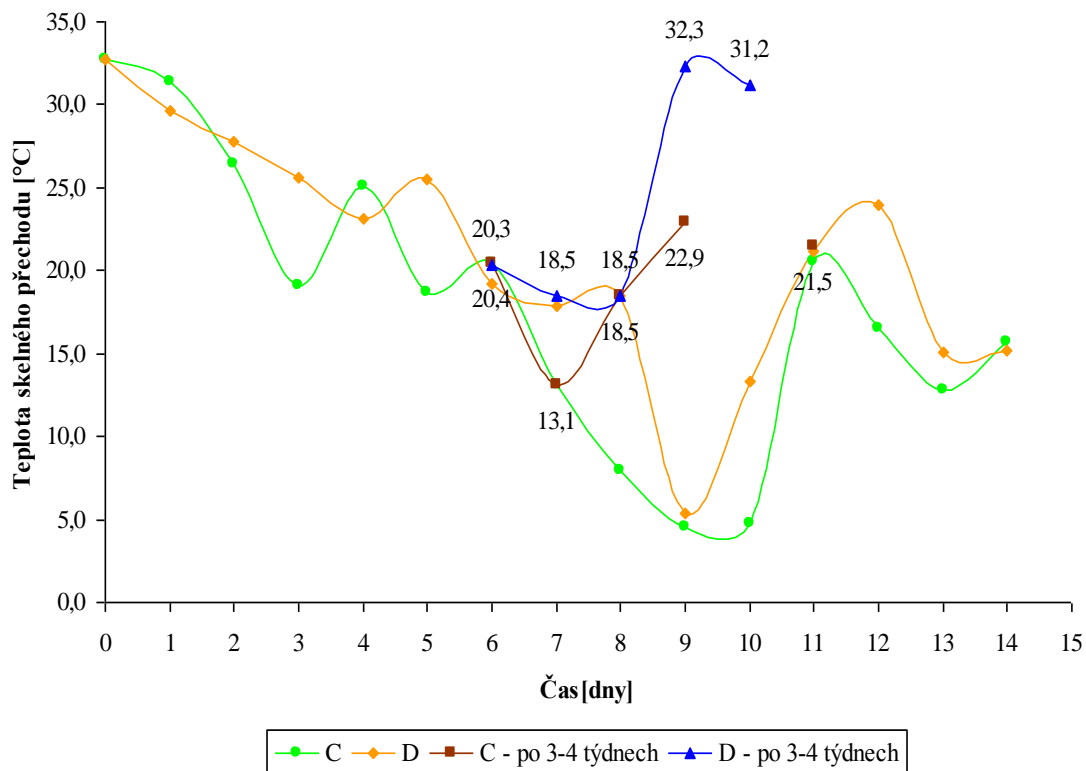
Obr. 10: Hodnoty T_g (DSC analýza) tělísek C, D polymeru T3



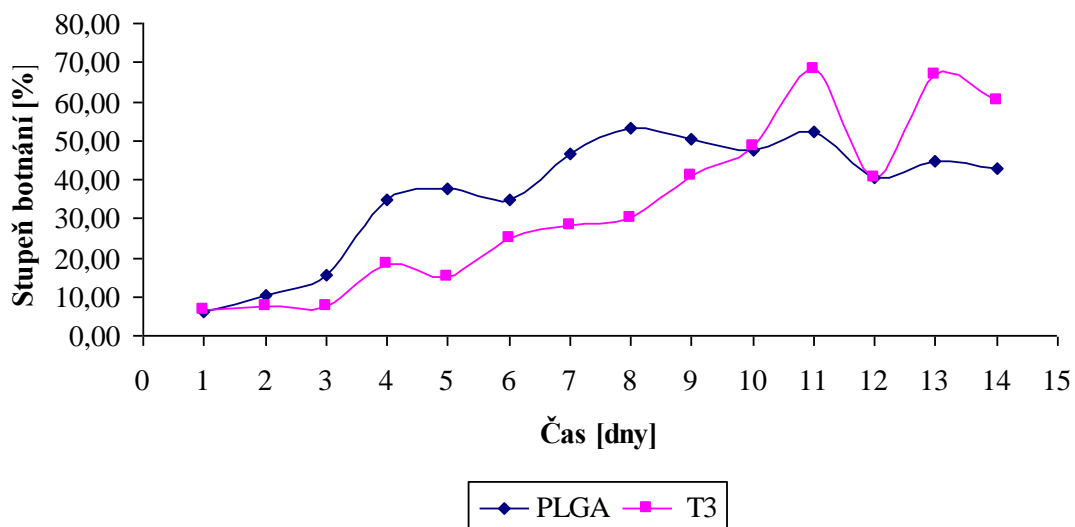
Obr. 11: Průměrné hodnoty stupně botnání a teploty skelného přechodu polymeru T3



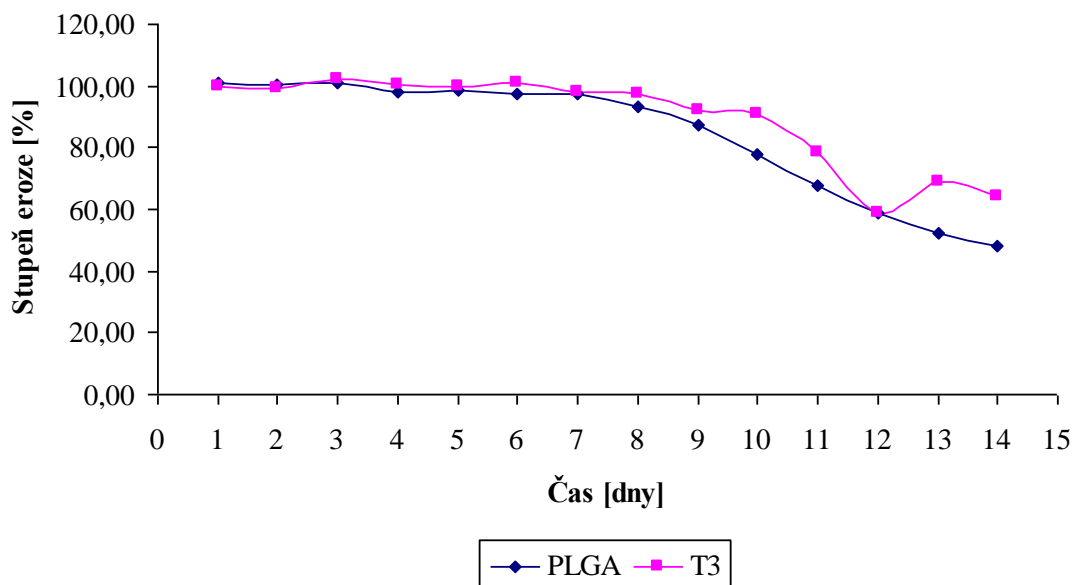
Obr. 12: Opakovaně měřené hodnoty z DSC analýzy pro polymer T3



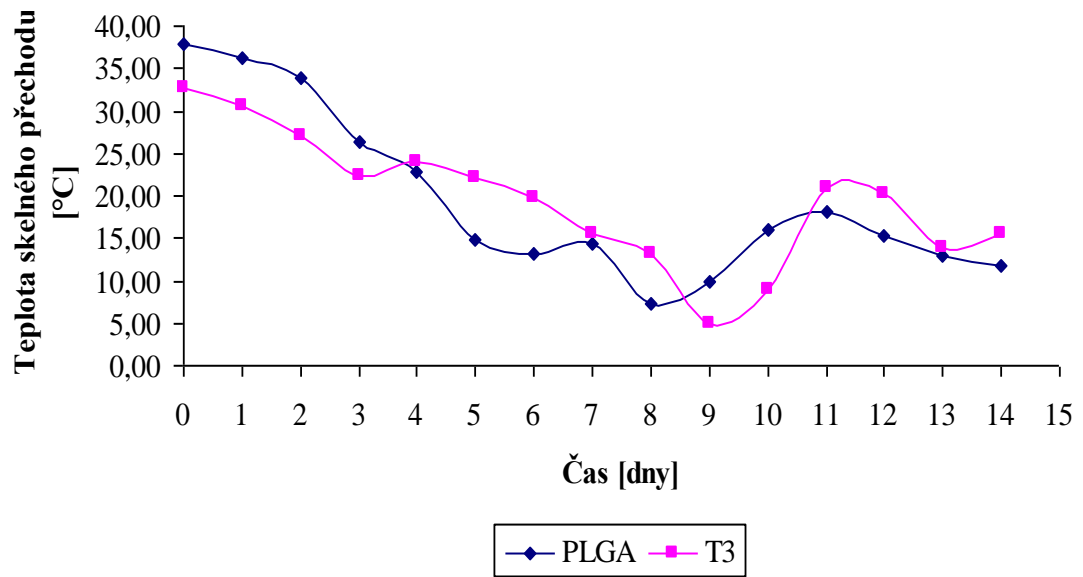
Obr. 13: Průměrné hodnoty stupně botnění obou testovaných polymerů



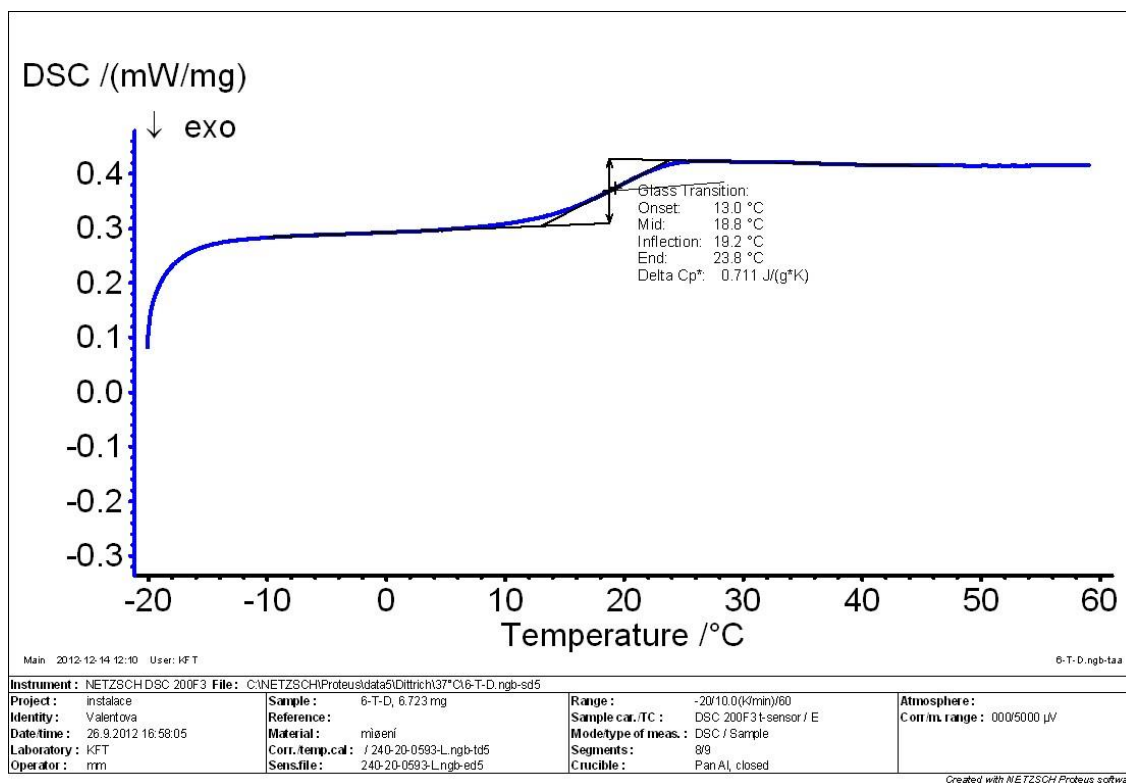
Obr. 14: Průměrné hodnoty hodnot stupně eroze obou testovaných polymerů



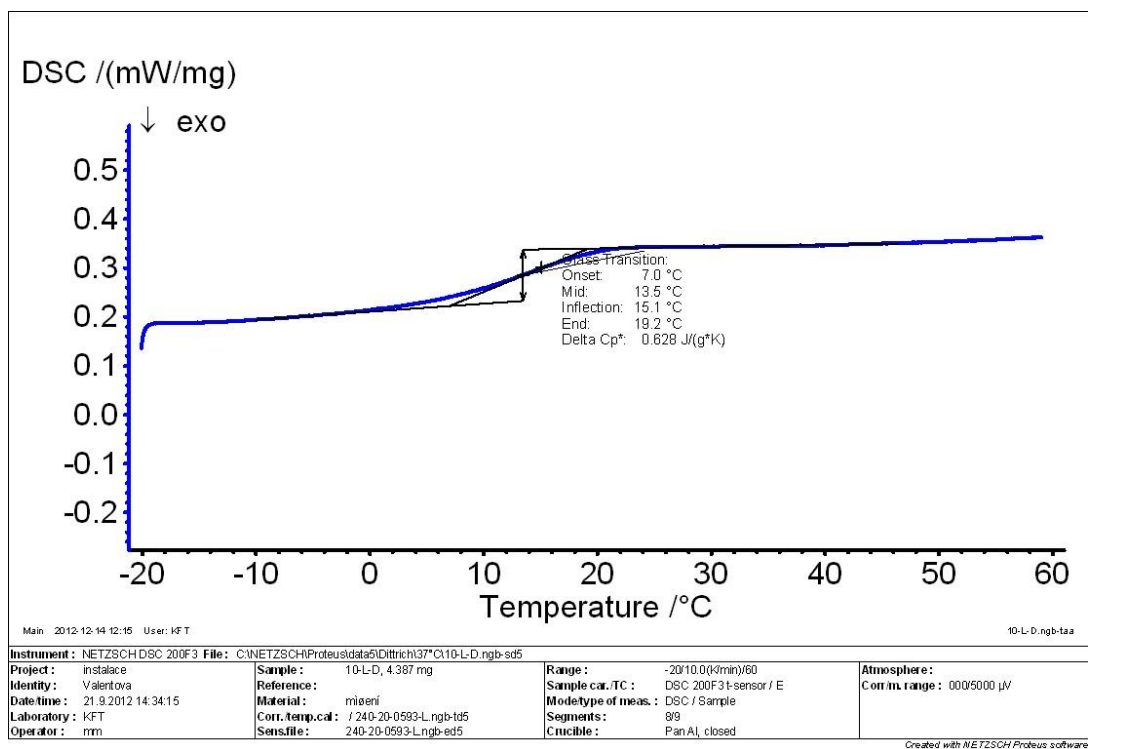
Obr. 15: Průměrné hodnoty teploty skelného přechodu Tg obou testovaných polymerů



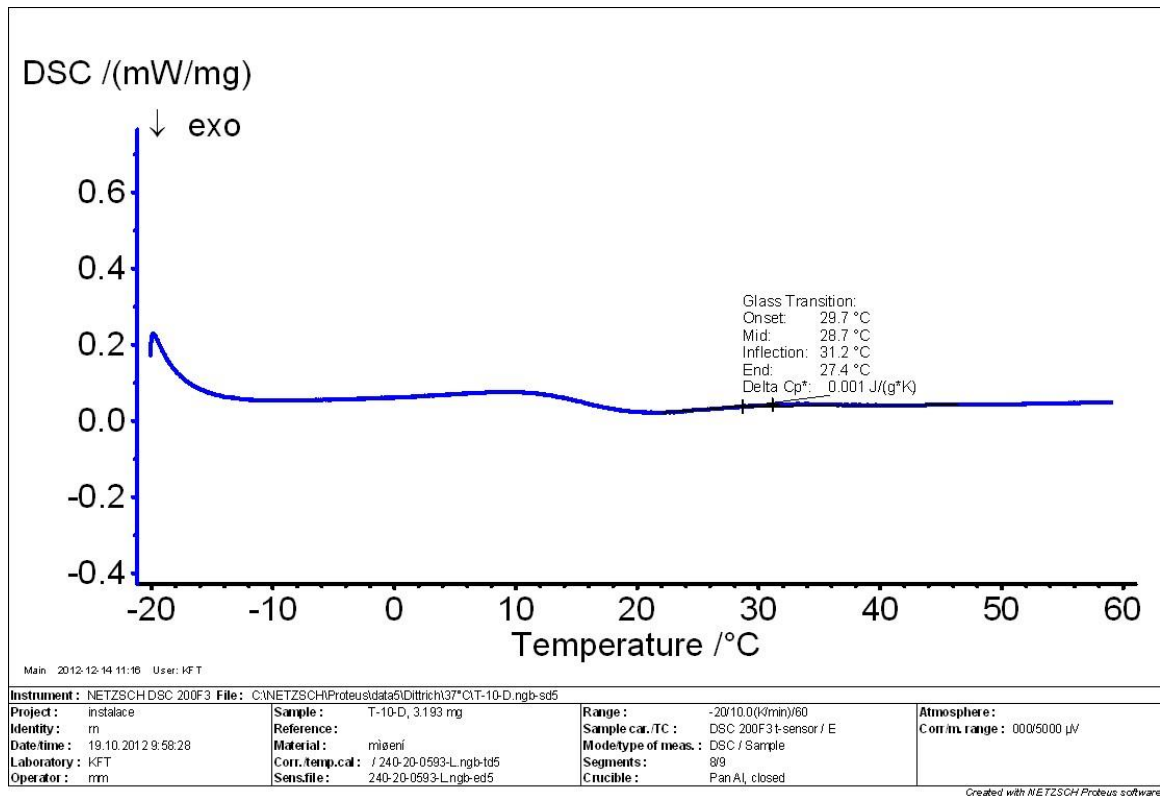
Obr. 16: DSC analýza vzorku T-6-D



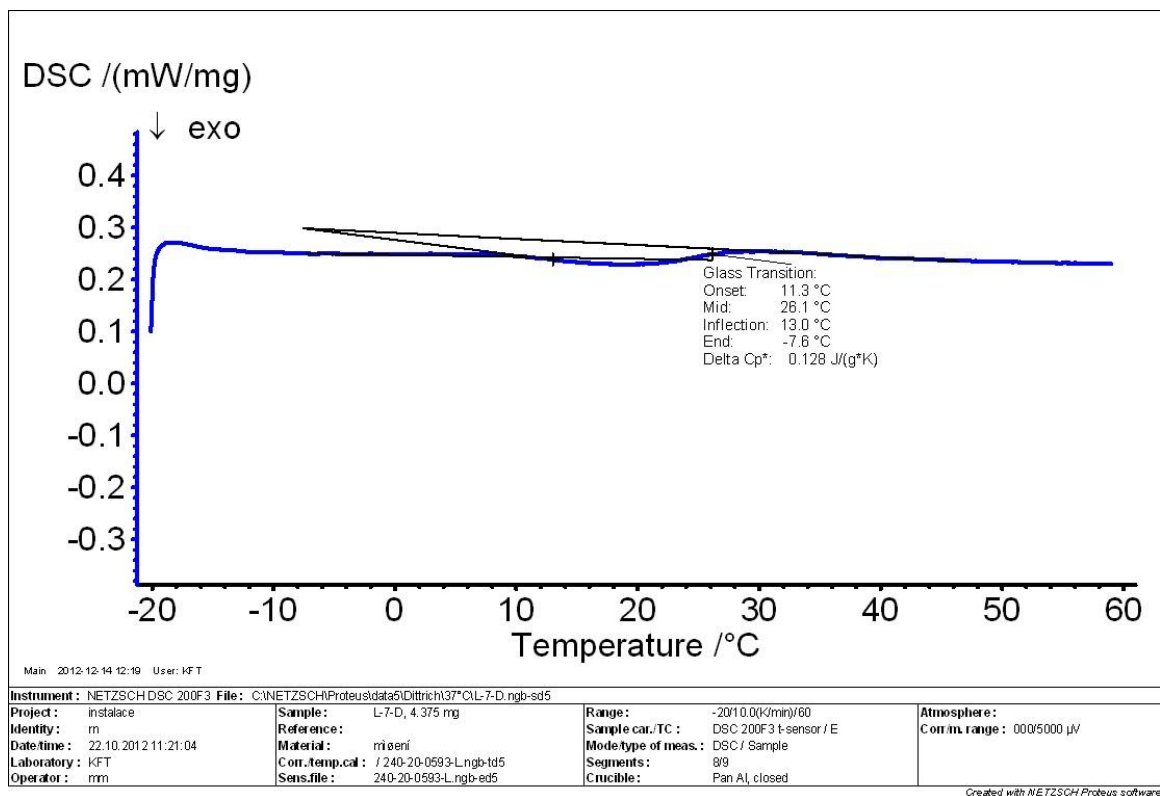
Obr. 17: DSC analýza vzorku L-10-D



Obr. 18: DSC analýza vzorku T-10-D



Obr. 19: DSC analýza vzorku L-7-D



6. DISKUSE

6.1 K TÉMATU PRÁCE

Téma práce bylo zadáno v souvislosti se studiem procesů, které doprovázejí biodegradaci polyesterů a oligoesterů alifatických hydroxykyselin. Jedná se především o souvislost mezi časovým průběhem eroze, botnání a teploty skelného přechodu. Biodegradaci materiálů daného typu je možno dostatečně věrohodně modelovat a studovat jako hydrolýzu v prostředí vody nebo roztoků pufrů. Dochází ke štěpení esterových vazeb za vzniku nových koncových skupin, mění se hodnoty pH, zvyšuje se osmotický tlak, materiál se hydrofilizuje. Důsledkem je nejen změna stupně botnání, ale také dochází ke změnám difuzivních poměrů. Pro studium byly vybrány dva typově odlišné nosiče, lineární kopolymer PLGA a vysoce větvený terpolymer kyseliny DL-mléčné, kyseliny glykolové a tripentaerythritolu. Jako médium byla zvolena čištěná voda splňující požadavky současně platného lékopisu.

6.2 K DEGRADACI NOSIČŮ

Jako degradace v případě polymerních biomateriálů se zpravidla chápe zánik vazeb v molekule polymeru s důsledkem ve snižování jeho molární hmotnosti. Zároveň se mění řada dalších parametrů, především mechanických. V tab. 2 a 3 a na obr. 2 jsou hodnoty molární hmotnosti a polydisperzity. Měření byla provedena v a.s. Synpo Pardubice pod vedením prof. Ing. Štěpána Podzimka, CSc. Srovnáním hodnot v tabulkách je možno dojít k závěru, že hodnoty parametru M_n postupně klesají do limitní hodnoty, která je pro oba nosiče odlišná. U lineárního nosiče PLGA je za 9 dní působení vody hodnota M_n přibližně 2000 a zůstává stejná až do 14. dne, tedy do konce zkoušky. Obdobný průběh hodnot byl zaznamenán také při testování větveného terpolymeru. Limitní hodnota molární hmotnosti byla vyšší, téměř dvojnásobná oproti PLGA. Možným vysvětlením je rychlejší difúze nízkomolekulárních více hydrofilních produktů z tělísek. U lineární PLGA byl pokles hodnot M_w obdobný jako u hodnot M_n . Svědčí o tom také stabilizace hodnot stupně polydisperzity na hodnotách kolem 1,2. V případě větveného terpolymeru je pokles hodnot M_w dlouhodobější. To může souviset

především s vyšší počáteční molekulovou hmotností a v menší míře také s konstitucí molekuly hvězdicového větvení a vyšší densitou náhodného klubka.

Eroze jako úbytek hmotnosti polymerů je důležitou součástí degradačních procesů. Na obr. 4 a 9 je průběh hodnot v úseku od 1 dne do 14 dní. Pro oba polymery je shodná počáteční fáze, při které prakticky nedochází k ubývání polyesterového nosiče. Potom následuje fáze eroze, která má u PLGA po týdenní prodlevě přibližně lineární průběh. Během druhého týdne došlo k rozpuštění a difúzi přibližně poloviny původní suché hmotnosti tělíska. Větvený terpolymer začal erodovat až po 9 až 10 dnech po ponoření do vody. Za 14 dní od začátku experimentu zbývaly přibližně dvě třetiny původního materiálu. Poslední dvě hodnoty je možno s vysokou pravděpodobností možno pokládat za zatížené chybou způsobenou nedostatečně sušeným materiálem.

6.3 K BOTNÁNÍ NOSIČŮ

Na obr. 3 a 8 je znázorněn průběh hodnot stupně botnání tělísek ze dvou různých nosičů v prostředí vody po dobu 14 dní. Jsou patrné zřetelné rozdíly v časovém průběhu objemových změn, které souvisí s odlišnou molekulární strukturou nosičů. I když je větvený terpolymer více hydrofilní, převážil parametr konstituce molekuly, případně i vyšší molekulové hmotnosti především v počáteční fázi děje. Za tři dny byl stupeň botnání u terpolymeru přibližně 7,5 %, zatímco u lineární PLGA měla stejná charakteristika hodnotu přibližně dvojnásobnou. U obou nosičů bylo zaznamenáno mezi 4. a 5. dnem nevýrazné maximum hodnot. Trend růstu stupně botnání u obou nosičů dále pokračuje. V případě terpolymeru pokračuje do výrazného maxima v 11. dnu, kdy byl stupeň botnání téměř 70 %. Poté následuje výrazné minimum hodnot (12. den) kolem 40 % a v dalším dni byla charakteristika opět v maximu. Nosič PLGA měl maximální hodnoty mezi 8. a 11. dnem, potom následoval trend ke snižování hodnot. Zajímavé je, že maximální stupeň botnání byl u větveného terpolymeru vyšší (68 %) než u lineárního kopolymeru (53 %). Vysvětlením může být více hydrofilní charakter terpolymeru a jeho rychlejší eroze počínající kolem 10. dne a tedy intenzivnější osmotické působení testovaného tělíska.

6.4 K HODNOTÁM TEPLoty SKELNÉHO PŘECHODU NOSIČŮ

Přímý vztah mezi hodnotami M_n a T_g řeší rovnice podle Flory a Foxe. Z ní plyne, že by grafický záznam změn hodnot obou veličin v čase měl být v ideálním případě shodný. Jak je patrné srovnáním obr. 2 pro hodnoty M_n a obr. 5 a 10 pro hodnoty T_g , není tomu tak. Příčinou je jednak nižší citlivost metody SEC-MALS při stanovení molární hmotnosti než je stanovení T_g metodou DSC, další příčinou nesouladu může být změna hodnot konstanty K v rovnici Flory a Foxe způsobená vysokým podílem nízkomolekulárních oligomerů. Změna hodnot K je reálná v případě větveného terpolymeru, u něhož může také docházet ke změně stupně větvení molekuly během degradace, tedy ke vzniku sloučeniny jiného typu.

Záznam časového vývoje teplot skelného přechodu pro lineární PLGA je na obr. 5. Za normálních okolností by mělo docházet k jejich snižování v těsné souvislosti se snižováním hodnot M_n . V případě jednoho z tělísek bylo nalezeno výrazné minimum hodnot v intervalu 8. dne, potom následoval významný růst hodnot v následujících třech dnech téměř o 15 °C. Maximum hodnot v tomto případě bylo mezi 11. a 12. dnem. To tedy znamená zajímavé zjištění, že hodnoty T_g byly v intervalu 4,5 dne a 12 dní stejné. Podobná řada hodnot byla prokázána pro druhé tělísko se stejnými vstupními parametry. Odlišností řady hodnot T_g tohoto paralelně testovaného tělíska jsou dvě prokázána minima hodnot T_g přibližně v 6. a necelém 9. dni a tři maxima v 7., 11. a 13. dni. Vzhledem k tomu, že se jedná o kolísání hodnot v rozmezí od 4 K do 7 K, nelze tuto skutečnost pokládat za artefakt nebo nepřesnost měření.

Pozoruhodná podobnost průběhu hodnot teploty skelného přechodu byla zaznamenána v případě termického chování větveného terpolymeru (obr. 10). Počáteční pokles hodnot je komplikovaný dvěma nevýraznými maximy u každého vzorku posunutými o jeden až dva dny. Potom následuje výrazné minimum hodnot u jednoho vzorku za 9 dní, u druhého za 10 dní. Pokračování fáze růstu hodnot T_g je v tomto případě ještě výraznější než u lineární PLGA. Během jednoho až tří dnů hodnoty vzrostly o 15 a 20 K. Po tomto maximu následoval prudký pokles hodnot o 5 a 11 K.

Termická analýza je tedy metodou, která je velmi citlivá na změny složení biodegradabilních polyesterů zvláště v pokročilém stádiu jejich degradačních procesů.

6.5 K RELACI MEZI TEPLOTOU SKELNÉHO PŘECHODU A STUPNĚM BOTNÁNÍ NOSIČŮ

Na základě srovnání průběhu hodnot stupně botnání a teploty skelného přechodu během degradace tělísek z PLGA (obr. 6) je možno konstatovat, že v hlavních rysech se kryjí tendence růstu stupně botnání a poklesu hodnot T_g . Minimum hodnot T_g a maximum hodnot stupně botnání jsou v první fázi prakticky ve stejné časovém úseku. Při dalším průběhu obou dějů dochází k disproporcii. Hodnoty termické analýzy prokazují prudký úbytek koncentrace nových oligoesterových molekul, průběh botnání tomu neodpovídá. Hystereze trvá přibližně 3 dny. V dalším pokračování děje se časový posun botnání projevil zdánlivě paradoxním překryvem fáze vzrůstu koncentrace karboxylů za současného odbotnání. Zdá se tedy, že hystereze je natolik silná, že vyvolá děj, který je proti obecným zákonitostem. Důvodem je zpoždění procesu botnání po procesu změny koncentrace karboxylů. Je možno předpokládat, že botnání není řízeno pouze osmotickými silami.

Stejná situace týkající se větveného terpolymeru je znázorněná graficky na obr. 11. Při srovnání s předešle popsanou situací je možno potvrdit stejný počáteční průběh, tedy korelaci mezi botnáním a teplotou skelného přechodu. Ke změně dochází po 9. dni, kdy pokračuje botnání a roste koncentrace karboxylů. Maximum hodnoty T_g minimum hodnoty stupně botnání jsou dosaženy ve stejném čase. Je možné, že botnání je natolik razantním jevem, že nedojde k hysterezi, protože v dalším průběhu po 12. dni mají oba děje komplementární průběh.

7. ZÁVĚRY

A) Prokázali jsme, že mezi některými jevy doprovázejícími degradaci polyesterů alifatických hydroxykyselin ve vodném prostředí existuje spojitost z hlediska průběhu v iniciálním dvoutýdenním intervalu.

B) Snižování molární hmotnosti probíhá do limitní hodnoty, která je významně vyšší u hvězdicovitě větvených polyesterů než u lineárních, rovnice podle Flory a Foxe v tomto případě popisuje vztah mezi hodnotami M_n a T_g pouze v počáteční fázi degradace.

C) Eroze začíná až po několikadenní časové prodlevě a probíhá přibližně podle kinetiky nultého řádu.

D) Botnání je nerovnovážný proces, který je mimořádně citlivý k parametrům molekuly probíhající s hysterezí.

E) Teplota skelného přechodu je parametr, který aktuálně odráží dění v biodegradabilních matricových systémech z hlediska jejich homogenní degradace.

F) Mezi průběhem botnání a časovou řadou teploty skelného přechodu je v počáteční fázi těsná korelace, s postupujícím dějem se průběh dat rozchází patrně vlivem hystereze botnání.

8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

A, B, C, D	vzorky polymerů
Inf	bod inflexe[°C]
m ₀	počáteční hmotnost vzorku [g]
m _B	hmotnost zbotnalého vzorku [g]
m _s	hmotnost vysušeného vzorku [g]
mPEG	methoxypoly(ethylenglykol)
PCL	poly(ε-kaprolakton)
PGA	polyglykolová kyselina
PLLA	kyselina poly(L-mléčná)
PLGA	kopolymer mléčné a glykolové kyseliny

9. LITERATURA

- [1] Lou, X., Detrembleur, C., Jérôme, R.: Novel aliphatic polyesters based on functional cyclic (di)esters, *Macromol Rapid Commun*, 24, 2003, s. 161-172
- [2] Schild, HG.: Poly (N-isopropylacrylamide)-experiment, theory and application, *Prog Polym Sci*, 17, 1992, s. 163-249
- [3] Bawa, P., Pillay, V., Choonara, YE, du Toit, LC: Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery, *Biomed Mater*, 4, 2009, s. 1-15
- [4] Ohkawa, K., Shoumura, K., Yamada, M., Nishida, A., Shirai, H., Yamamoto, H.: Photoresponsive peptide and polypeptide systems, 14. Biodegradation of photocrosslinkable copolypeptide hydrogels containing L-ornithine and δ -7-coumaryloxyacetyl-L-ornithine residues, *Macromol Biosci*, 1, 2001, s. 149-56
- [5] Zhao, Y.: Rational design of light-controllable polymer micelles, *Chem Rec*, 7, 2007, s. 286-94
- [6] Meng, FH., Hennink, WE., Zhong, Z.: Reduction-sensitive polymers and bioconjugates for biomedical applications, *Biomaterials*, 30, 2009, s. 2180-98
- [7] Kotwal, A., Schmidt, CE.: Electrical stimulation alters protein adsorption and nerve cell interactions with electrically conducting biomaterials, *Biomaterials*, 22, 2001, s. 1055-64
- [8] Hu, J., Huang, LH., Zhuang, XL., Zhang, PB., Lang, L., Chen, XS., Wei, Y., Jing, XB.: Electroactive aniline pentamer cross-linking chitosan for stimulation growth of electrically sensitive cells, *Biomacromolecules*, 9, 2008, 2637-44

- [9] Maeda, H., Greish, K., Fang, J: The EPR effect and polymeric drugs: a paradigm shift for cancer chemotherapy in the 21st century, *Adv Polym Sci*, 193, 2006, s. 103-21
- [10] Kim, JH., Park, K., Nam, HY., Lee, S., Kim, K., Kwon, IC.: Polymers for bioimaging, *Prog Polym Sci*, 32, 2007, s. 1031-53
- [11] Kukreja, N., Onuma, Y., Daemen, J., Serruys, PW.: The future of drug-eluting stents, *Pharmacol Res*, 57, 2008, s. 171-80
- [12] Tamai, H., Igaki, K., Kyo, E., Kosuga, K., Kawashima, A., Matsui, S., Komori, H., Tsuji, T., Motohara, S., Uehata, H.: Initial and 6-month results of biodegradable poly-L-lactic acid coronary stents in humans, *Circulation* 102, 2000, s. 399-404
- [13] Middleton, JC, Tipton, AJ.: Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials* 21, 2000, s. 2335-46
- [14] Langer, R., Vacanti, JP.: Tissue engineering. *Science* 260, 1993, s. 920-6
- [15] Rezwani, K., Chen, QZ., Blaker, JJ, Boccaccini, AR.: Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composites scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 27, 2006, s. 3413-31
- [16] Deng, C., Chen, XS., Sun, J., Lu, TC., Wang, WS., Jing, XB.: RGD peptide grafted biodegradable amphiphilic triblock copolymer poly(glutamic acid)-b-poly(L-lactide)-b-poly(glutamic acid): synthesis and self-assembly. *J Polym Sci Part A Polym Chem* 45, 2007, s. 3218-30
- [17] Huang, LH., Hu, J., Lang, L., Wang, X., Zhang, PB., Jing, XH., Wang, XH., Chen, XS., Lelkes, PI., MacDiarmid, AG., Wei, Y.: Synthesis and characterization of electroactive and biodegradable ABA block copolymer of polylactide and aniline pentamer, *Biomaterials*, 28, 2007, s. 1741-51

- [18] Wang, SG., Cui, WJ., Bei, JZ.: Bulk and surface modifications of polylactide. *Anal Bioanal Chem* 381, 2005, s. 547-56
- [19] Ohya, Y., Hirai, K., Ouchi, T.: Synthesis and cytotoxic activity of doxorubicin bound to poly(alpha-malic acid) via ester or amide bonds. *Macromol Chem Phys* 193,1992, s. 1881-7
- [20] Xie, ZG, Hu, XL., Chen, XS., Lu, TC., Liu, S., Jing, XB.: A biodegradable diblock copolymer poly(ethylene glycol)-block-poly(L-lactide-co-2-methyl-2-carboxyl-propylene carbonate): docetaxel and RGD conjugation. *J Appl Polym Sci* 110, 2008, s. 2961-70
- [21] O'Brien, MER., Socinski, MA., Popovich, AY., Bondarenko, IN., Tomova, A., Bilynskyi, BT., Hotko, YS., Ganul, VL., Kostinsky, IY., Eisenfeld, AJ., Sandalic, L., Oldham, FB., Bandstra, B., Sandler, AB., Singer, JW.: Randomized phase III trial comparing single-agent paclitaxel poliglumex(CT-2103, PPX) with single-agent gemcitabine or vinorelbine for the treatment of PS 2 patients with chemotherapy-naive advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 3, 2008, s. 728-34
- [22] Yoo, HS., Park, TG.: Folate receptor targeted biodegradable polymeric doxorubicin micelles. *J Controlled Release* 96, 2004, s. 273-83
- [23] Hyun, H., Kim, YH., Song, IB., Lee, JW., Kim, MS., Khang, G., Park, K., Lee, HB.: In vitro and in vivo release of albumin using a biodegradable MPEG-PCL diblock copolymer as an in situ gel-forming carrier. *Biomacromolecules* 8, 2007, s. 1093-100
- [24] Xue, YN., Huang, ZZ., Zhang, JT., Liu, M., Zhang, M., Huang, SW., Zhuo, RX.: Synthesis and self-assembly of amphiphilic poly(acrylic acid-b-DL-lactide) to form micelles for pH-responsive drug delivery. *Polymer* 50, 2009, s. 3706-13
- [25] Wang, YC., Liu, XQ., Sun, TM., Xiong, MH., Wang, J.: Functionalized micelles from block copolymer of polyphosphoester and poly(epsilon-

caprolactone) for receptor-mediated drug delivery. *J Controlled Release* 128, 2008, s. 32-40

[26] Wong, SY., Pelet, JM., Putnam, D.: Polymer systems for gene delivery-past, present, and future. *Prog Polym Sci* 32, 2007, s. 799-837

[27] Tian, HY., Tang, ZO., Zhuang, XL., Chen, XS., Jing, XB.: Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application. *Progress in Polymer Science* 37, 2012, 237-280