FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

TERMICKÁ ANALÝZA PLASTIFIKOVANÝCH OLIGOESTERŮ

RIGORÓZNÍ PRÁCE

Hradec Králové, 2007 Leona Bergrová

Vedoucím rigorózní práce byl Doc. RNDr. Milan Dittrich, CSc., jemuž chci tímto poděkovat za odborné vedení a poskytnuté rady při jejím vypracování.

OBSAH

Seznam použitých zkratek

1. ÚVOD 7

2. TEORETICKÁ ČÁST 8

2. 1. Termická analýza 8

2. 1. 1. Obecné rozdělení metod termické analýzy 8

2. 1. 2. Nejčastěji používané metody termické analýzy 8

2. 1. 2. 1. Diferenciální skanovací kalorimetrie (DSC) 9

2. 1. 2. 1. 1. Princip a charakterizace metody DSC 9

2. 1. 2. 1. 2. Využití DSC obecně 10

2. 1. 2. 1. 3. Využití DSC ve farmacii 10

2. 1. 2. 1. 4. DSC křivky 10

2. 1. 2. 1. 5. Faktory ovlivňující termoanalytické metody 11

2. 1. 2. 1. 5. 1. Vliv podmínek experimentu 11

2. 1 .2. 1. 5. 2. Vliv vzorku 12

2. 1. 2. 1. 5. 3. Vliv přístroje 13

2. 1. 2. 1. 6. Teplota skelného přechodu polymerů 13

2. 1. 2. 1. 7. Fyzikální stavy polymerů 14

2. 1. 2. 2. Termogravimetrie 14

2. 1. 2. 3. Diferenční termogravimetrie 15

2. 1. 2. 4. Diferenční termická analýza 15

2. 1. 2. 5. Derivační diferenční termická analýza 16

2. 1. 2. 6. Emanační termická analýza 16

2. 1. 2. 7. Termická dilatometrická analýza 16

2. 1. 2. 8. Tepelná luminiscenční analýza 17

2. 1. 2. 9. Klasická termická analýza 17

2. 2. Alifatické oligoestery 17

2. 2. 1. Fyzikální, chemické a biologické vlastnosti PLA a PGA 17

2. 2. 2. Biodegradace 19

2. 2. 3. Využití a přípravky s PLA a PGA 20

2. 2. 3. 1. Chirurgický šicí materiál 20

2. 2. 3. 2. Nosiče léčiv 23

3. CÍL RIGORÓZNÍ PRÁCE 26

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 27
4. 1. Použité chemikálie, přístroje a další pomůcky 27
4. 1. 1. Použité chemikálie 27
4. 1. 2. Použité přístroje 28
4. 1. 3. Další pomůcky 28
4. 2. Příprava vzorků 29
4. 3. Příprava testovacích médií 29
4. 4. Označení sérií vzorků 29
4. 5. Popis přístroje 30
4. 6. Postup při měření na přístroji 30
4. 7. Vkládání vzorků do přístroje 30
4. 8. Měření termických charakteristik oligoesterů 3D, 5D a 5M 31
4. 9. Hodnoty termických charakteristik – tabulky 31
4. 10. Obrázky časového vývoje hodnot T_g odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média 38
5. DISKUSE 50
5. 1. Termické chování nosiče 3D 51
5. 2. Termické chování nosiče 5D 52
5. 3. Termické chování nosiče 5M 52
6. ZÁVĚR 55
7. LITERATURA 57

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK:

PLA - kyselina poly (DL – mléčná)

PGA - kyselina polyglykolová

PLGA - kopolymer kyseliny DL - mléčné a glykolové

3D, 5D - terpolymery kyseliny DL - mléčné a glykolové s dipentaerythritolem

5M - terpolymer kyseliny DL - mléčné a glykolové s mannitolem

TEC - triethylcitrát

TA - triacetin

EP - ethylpyruvát

ES - ethylsalicylát

DSC - diferenciální skanovací kalorimetrie

T_g - teplota skelného přechodu

T_f - teplota tečení

T_m - teplota tání

V - médium destilovaná voda

6 - médium pufr fosfát citrátový, pH 6, 0

1. ÚVOD

Z historického hlediska patří termoanalytické metody k nejstarším metodám bádání o přírodě. Vznik termické analýzy spadá do období, kdy si lidé poprvé všimli, že některé kameny v okolí jejich ohniště se vlivem tepla mění (praskají, taví se, mění barvu a podobně). Zaznamenat toto období před mnoha tisíci lety je prakticky nemožné. Neumíme ani přibližně určit dobu, kdy naši předkové poprvé ovládli oheň, přičemž ovládnutí ohně v rozhodující míře ovlivnilo chod lidských dějin.

Teplo bylo použité na identifikaci minerálů a hornin podle zachovaných písemných záznamů Theofrasta už 300 let před naším letopočtem. Popsal základy mineralogického systému na základě barvy, hustoty, tvrdosti a tavitelnosti nerostů. Využívání poznatků o vlivu tepla na různé vlastnosti látek od té doby značně pokročilo. Skutečnost, že v období před 19. stoletím nebyl zaznamenán výraznější pokrok v termické analýze, se dá vysvětlit tím, že přesné stanovení teploty bylo spojené se značnými těžkostmi. Je možno konstatovat, že termická analýza se jako vědní disciplína začala konstituovat až ve druhé polovině 19. století. Kvalitativní skok ve vývoji termické analýzy nastal, když William Chander Roberts – Austen (1943 – 1902) přišel na myšlenku měřit namísto teploty zkoumané látky teplotní rozdíl mezi zkoumanou látkou a nějakým referenčním materiálem v závislosti na stoupající teplotě. (1)

Ve své práci jsem se zabývala jednou z metod termické analýzy, diferenciální skanovací kalorimetrií, zkráceně DSC. Využití DSC je dnes velmi široké, tato metoda se využívá například k ověření totožnosti surovin, k ověření jejich kvality a stability, k hodnocení fázových přechodů látek a jejich směsí, ke sledování kinetiky a mechanismu reakcí apod. (2, 3, 4, 5, 6, 7)

2. TEORETICKÁ ČÁST

2. 1. Termická analýza

Pod pojmem termická analýza rozumíme v současnosti soubor metod, které nám umožňují sledovat změny stavu zkoumané látky na základě měření její určité fyzikální vlastnosti jako funkce teploty, přičemž je zkoumaná látka vystavená kontrolovanému teplotnímu programu. Změny sledované fyzikální vlastnosti zkoumané látky jsou přirozeně vyvolané různými fyzikálními a chemickými ději probíhajícími při změně teploty. (1, 2)

Metody termické analýzy se často kombinují s jinými metodami, takže lze daleko lépe popsat chování tepelně namáhaných vzorků. Příkladem je spojení termické analýzy s chromatografickými metodami, s IR spektroskopií, s mikrostrukturní analýzou a nebo také spojení s chemickou analýzou. (8, 9)

Z několika desítek termoanalytických metod jsou tři metody výrazně nejdůležitější. Mezi tyto metody zařazujeme diferenční termickou analýzu (DTA), termogravimetrii (TG) a diferenciální skanovací kalorimetrii (DSC).

2. 1. 1. Obecné rozdělení metod termické analýzy:

1. Metody statické - vzorek je vystaven konstantní teplotě v závislosti na čase
2. Metody dynamické - sledujeme chování vzorku v závislosti na stoupající, případně klesající teplotě (2)

2. 1. 2. Nejčastěji používané metody termické analýzy

1. diferenciální skanovací kalorimetrie (DSC)
2. termogravimetrie (TG)
3. diferenciální termogravimetrie (DTG)
4. diferenciální termická analýza (DTA)
5. derivační diferenční termická analýza (DDTA)
6. emanační termická analýza (ETA)
7. termická dilatometrická analýza (TD)

8. tepelná luminiscenční analýza
9. klasická termická analýza (2, 3, 8)

2. 1. 2. 1. Diferenciální skanovací kalorimetrie (DSC)

2. 1. 2. 1. 1. Princip a charakterizace metody DSC

Metoda DSC využívá dvou lineárně ohřívaných misek (pánviček), z nichž jedna miska obsahuje vzorek v kapsli, ve druhé misce je kapsle prázdná, srovnávací. Pojem diferenciální znamená, že se plynule porovnávají teploty v obou miskách. V případě nějaké fyzikální změny (např. změna jedné krystalické modifikace na druhou) či chemické změny vzorku (průběh chemické reakce) dochází ke spotřebování či uvolnění tepla a tím i k porušení izotermních podmínek. Přístroj se snaží udržet izotermní podmínky v obou miskách dodáváním tepla podle potřeby do jedné či druhé misky. Množství tepla potřebné k navození izotermních podmínek je zapisováno v závislosti na čase nebo teplotě. Tímto způsobem vznikají na DSC záznamu píky.
Měří se tedy příkon potřebný k udržení izotermních podmínek. (2, 5, 10)

K výhodám diferenciální skanovací kalorimetrie patří především přesnost měření, možnost podrobit vzorek měření při širokém rozmezí teplot (podle charakteru zkoumané látky i opakované měření s jedním vzorkem) a velmi malá spotřeba zkoumané látky - řádově jen miligramy.

Při DSC se používají dva typy kalorimetrů, a to DSC s tepelným tokem (Heat - flux DSC) a DSC s kompenzací výkonu (Power – compensation DSC).

U DSC s tepelným tokem se neměří přímo rozdíl příkonů, ale tato veličina je odvozená z teplotního rozdílu mezi vzorkem a referenční látkou. (Měří se rozdíl teplot mezi zkoumaným vzorkem a referenční látkou). Komerčně prodávané kalorimetry jsou většinou tohoto typu (Mettler - Toledo, Shimadzu). Používají se dva typy přístrojů, a to diskový typ DSC a cylindrický typ DSC.

U DSC s kompenzací výkonu se měří přímo rozdíl příkonů za podmínek udržení stejné teploty vzorku a referenční látky. Kalorimetry tohoto typu jsou komerčně dostupné pouze u firmy Perkin - Elmer. U DSC s výkonovou kompenzací se používají dva samostatné termostaty za účelem monitorování obou misek individuálně. (5, 10)
Rozdílný princip měření u obou typů kalorimetrů vede k rozdílné orientaci píků. (11)

2. 1. 2. 1. 2. Využití DSC obecně

Pomocí DSC se studují procesy v kondenzované fázi, tj. tuhé látky (nejčastěji), nebo kapaliny. Dolní teplotní limit měření DSC u kalorimetrů představuje -150 °C, horní teplotní limit je většinou okolo 600 °C. Právě horní hranice teploty je nevýhodou této metody. Z tohoto teplotního intervalu vyplývá také výběr materiálů a procesů, které je možno metodou DSC studovat. Mezi fyzikální procesy je možno zařadit změny krystalických modifikací, krystalizaci, var, sublimaci, skelný přechod, tání. V případě chemických dějů jsou to reakce v tuhé fázi, reakce v tavenině, termický a termooxidační rozklad, oxidace.

2. 1. 2. 1. 3. Využití DSC ve farmacii

Ve farmaceutickém průmyslu se využívá DSC např. k identifikaci surovin, při kontrolách jakosti a čistoty, ke kvantifikaci látek nebo směsí. Využívá se ale také při stabilitních studiích. Dále se tato metoda využívá při studiu lékových forem s cílenou distribucí a ke stanovení teploty skelného přechodu polymerů. (3, 4, 5, 7, 10, 12)

2. 1. 2. 1. 4. DSC křivky

Výstupem DSC jsou kalorimetrické křivky, nazývané také termogramy, které vyjadřují tepelný tok jako funkci teploty nebo času.

Termoanalytické křivky se registrují a publikují mezinárodně sjednoceným způsobem tak, že vzrůst teploty se zaznamenává zleva doprava, endotermické píky od základní čáry směrem nahoru a exotermické píky od základní čáry směrem dolů.

Základní čára (baseline) - ta část křivky, kde je registrovaná teplotní diference blízko nule nebo konstantní. Odpovídá časovým úsekům, v kterých jsou změny stavu vzorku zkoumané látky zanedbatelně malé.

Pík - představuje tu část křivky, která se odkloňuje a opět vrací k základní čáře. Charakterizuje ho začátek píku, přední inflexní bod, maximum, zadní inflexní bod a konec píku.

Endotermický pík - teplota vzorku zkoumané látky je nižší, než je teplota vzorku referenčního materiálu.

Exotermický pík - teplota vzorku zkoumané látky je vyšší, než je teplota referenčního vzorku.

Extrapolovaný začátek píku (onset) - průsečík extrapolované přední části základní čáry s tečnou píku, vedenou předním inflexním bodem.

Extrapolovaný konec píku (endset) - průsečík extrapolované zadní části základní čáry s tečnou píku, vedenou zadním inflexním bodem.

Maximum píku - je bodem tečny rovnoběžné s lineární interpolovanou základní čárou s píkem.

Výška píku - představuje rozdíl mezi hodnotou měřené veličiny v maximu píku a současnou hodnotou této veličiny na lineárně interpolonavé základní čáře.

Šířka píku - představuje buď časový anebo teplotní interval mezi začátkem a koncem píku.

Plocha píku - je plocha vymezená píkem a lineární interpolovanou základní čárou.

2. 1. 2. 1. 5. Faktory ovlivňující termoanalytické metody

Termická analýza je dynamická metoda, a proto průběh křivek závisí na větším počtu různých faktorů. V odborné literatuře se uvádí, že vliv na průběh křivky a tedy také hodnoty sledovaných veličin může mít až 18 faktorů. (1)

Mezi nejdůležitější faktory ovlivňující měření patří:

- vliv podmínek experimentu
- vliv vzorku
- vliv přístroje

2. 1. 2. 1. 5. 1. Vliv podmínek experimentu

Zde můžeme zahrnout faktory, které se netýkají přímo zkoumaného vzorku, ani použitého přístroje, ale můžeme je zvolit, respektive ovlivnit, před samotným měřením. Mezi tyto nejdůležitější faktory v této skupině patří vliv rychlosti ohřevu a vliv atmosféry.

Vliv rychlosti ohřevu

Tento faktor má výrazný vliv na hodnotu teploty maxima píku a také na plochu píku. Nejběžnější používaná rychlost ohřevu v TA je od 5 °C /min do 20 °C / min. Extrémně nízké hodnoty uváděné v termoanalytických pracích jsou 0, 5 °C / min a extrémně vysoké rychlosti ohřevu jsou 100 až 200 °C / min.

Standardizační výbor ICTA doporučuje používat v DTA mezinárodně sjednocenou rychlost ohřevu 10 °C / min. V současné době můžeme konstatovat z vědeckých publikací, že tato rychlost ohřevu silně převažuje. V případě používání vyšší rychlosti ohřevu při rozkladných reakcích různých látek také plocha a výška píku narůstá lineárně se zvyšující se rychlostí ohřevu. Vysoká rychlost ohřevu může také celkově změnit průběh TA křivek a to např. tak, že rychlý vývoj oxidu uhličitého zabrání přístup kyslíku z atmosféry k povrchu vzorku, a tím může deformovat bezprostředně následnou reakci, tedy exotermický pík.

Vliv atmosféry

Při měření TA křivek lze použít jak statickou, tak dynamickou (kontrolovanou) atmosféru. Při dynamické atmosféře je proud plynu s konstantní rychlostí průtoku vedený pracovním prostorem pece. Měření se tedy může provádět jak v inertní atmosféře (dusík, argon), tak v oxidační atmosféře (kyslík, vzduch). Může samozřejmě dojít také k chemické reakci atmosféry pece se vzorkem a tím k zásadní změně průběhu TA křivky.

2. 1. 2. 1. 5. 2. Vliv vzorku

Zde můžeme zahrnout takové vlivy, jako je hmotnost zkoumané látky, vliv stlačení vzorku a vliv velikosti zrn vzorku. Tyto faktory ovlivňují šířku, symetrii píku, mají vliv na výšku píku, na jeho plochu a také na posun základní čáry DTA křivky.

Vliv hmotnosti zkoumané látky

Množství vzorku používaného pro měření TA křivek se běžně pohybuje od několika miligramů až po jeden gram. Zvýšení hmotnosti vzorku s cílem získat větší plochy píku vede k nežádoucímu zvětšování šířky píku a tím ke snížení rozlišovací schopnosti metody. Snížení hmotnosti vzorku je zase limitováno citlivostí přístroje.

Vliv stlačení vzorku

V termoanalytické praxi nebývá význam tohoto faktoru posuzován jednotně a poměrně často se jeho význam zanedbává. Stlačení vzorku přímo souvisí s hodnotou jeho koeficientu tepelné vodivosti a při reakcích s plynnou fází značně ovlivňuje difúzi. Silné stlačení vzorku ulehčuje přenos tepla a na druhé straně silně zhoršuje difúzi plynu při reakcích, kde se uvolňuje plynná složka.

Vliv velikosti zrn vzorku

Právě tento faktor je pravděpodobně jedním z nejdůležitějších a nejvíc studovaných faktorů ovlivňující průběh TA křivky. Snahou je, aby velikost zrn vzorku byla pokud možno stejná a rozmístění vzorku v pánvičce bylo rovnoměrné. Případné nedostatky se mohou velice projevit především na symetrii a ploše píku.

2. 1. 2. 1. 5. 3. Vliv přístroje

Základní části termoanalytického přístroje, jako je zdroj tepelné energie, systém registrace teploty, způsob záznamu TA křivky, způsob kontroly atmosféry a především typ, materiál a geometrický tvar držáku vzorku, to jsou faktory, které ovlivňují výsledek termické analýzy.

2. 1. 2. 1. 6. Teplota skelného přechodu polymerů - T_g

Teplota skelného přechodu je jednou ze základních charakteristik všech polymerů. Souvisí především s mechanickými a difúzními vlastnostmi materiálů. Při této teplotě začíná pohyblivost celých velkých částí (segmentů) řetězce.

Hodnota T_g určitého polymeru závisí právě na délce segmentů (vzdálenosti míst konformačních změn vazeb) a na molekulové hmotnosti.

K pohyblivosti segmentů řetězců dochází pouze u amorfní fáze, v níž jsou molekuly v konformaci náhodného klubka, krystalická fáze teplotu skelného přechodu nemá. I když se mění tepelná kapacita soustavy, změna má entropický charakter a proto není fázovým přechodem.

Naměřené hodnoty závisí např. na rychlosti zahřívání vzorků, na hmotnosti vzorků, vlastnosti vzorku (např. přítomnost nečistot, vody..) (7)
Vlhkost snižuje T_g (ale i teplotu krystalizace).

Signál skelného přechodu je úměrný rychlosti ohřevu, je tedy lepší nastavit vyšší rychlost. Pro krystalizaci a tavení je ale lepší rychlost pomalejší (kvantitativní přechod mezi jednotlivými formami).

Bližší vysvětlení:

U polymerů rozeznáváme z hlediska uspořádanosti molekul dva základní stavy - amorfní a krystalický. Pro polymery platí, že mohou existovat zcela amorfní struktury,

ale nemohou existovat zcela krystalické struktury. Podíl krystalické fáze v celkovém množství materiálu vyjádřený v hmotnostních procentech je krystalinita.

Amorfní polymery se při změnách teploty chovají odlišně od semikrystalických polymerů. U semikrystalických polymerů se projevují zvlášť obě fáze se silou podle zastoupení ve směsi.

2. 1. 2. 1. 7. Fyzikální stavy polymerů

Polymery jsou při nízkých teplotách zpravidla tvrdé a křehké. Jejich mechanické vlastnosti jsou ovlivněny fixací molekul v určitých neměnných polohách. Probíhá oscilace v rámci vazeb. Mluvíme o stavu sklovitém.

S postupným zvyšováním teplot se oscilace zvýrazňují. Mezní teplotou je teplota skelného přechodu, T_g, při níž zaniká stav sklovitý amorfních polymerů nebo křehký stav semikrystalických polymerů. Při této teplotě se začínají jednotlivé segmenty řetězce pohybovat a z toho plyne i změna vlastností polymeru. Po překonání T_g přechází polymer do stavu kaučukovitého, kdy dochází vlivem tepelných pohybů k překonání interakcí mezi segmenty a vyvolání jejich volné pohyblivosti. Polymer přestává být křehký a podle charakteru polymeru a podle teploty se chová plasticky nebo elasticky. Amorfní polymery jsou ve stavu kaučukovitém, částečně krystalické ve stavu houževnatém.

Při dalším zahřívání se plynule zvyšuje pohyblivost segmentů řetězců a při překonání tzv. teploty tečení - T_f dojde ke změně amorfního polymeru ze stavu kaučukovitého na stav plastický, kdy je soustava již zcela tekutá. Krystalická fáze v semikrystalickém polymeru se mění v kapalnou při teplotě tání - T_m. Teplota T_f bývá většinou nižší než hodnota T_m. (2)

2. 1. 2. 2. Termogravimetrie - TG

Termogravimetrie je metoda, která umožňuje sledovat procesy spojené se změnou hmotnosti navážky vzorku buď při kontinuálním zvyšování teploty (dynamický způsob) nebo v izotermickém režimu (statický způsob). V prvním případě se sledují závislosti aktuální hmotnosti navážky vzorku na teplotě nebo čase, tedy m = m (T), resp. m = m (t), tzv. termogravimetrické křivky. Pro křivku TG jsou charakteristické horizontální úseky (prodlevy) a zlomy. Prodlevy signalizují, že v daném úseku teploty se látka nemění, zlomy na křivce znamenají, že při dosažené teplotě (času) se látka mění až do dosažení nové prodlevy. Z termogravimetrické křivky např. vyplývají teplotní intervaly, v nichž

dochází u látky k rozkladným reakcím, z velikosti hmotnostních změn Δ m a příslušných teplotních intervalů lze opět usoudit na složení, případně kvantitativní zastoupení určitých složek ve vzorku. V případě těsně následujících změn hmotnosti je výhodnější registrovat derivaci TG křivky, tedy dm / dt = f (T), čili derivační termogravimetrickou křivku (DTG) a tím docílit lepšího rozlišení. Izotermická gravimetrie sleduje závislosti hmotnosti v čase při konstantní teplotě a umožňuje tak přímo sledovat kinetiku různých pochodů a reakcí. Další informace o množství a vlastnostech plynných složek unikajících při rozkladu lze získat metodikou frakční termogravimetrie. Plynné složky se nechají selektivně kondenzovat nebo absorbovat a zahřívaný vzorek se váží spolu s kondenzačními a absorpčními nádobkami. Úbytek hmotnosti odpovídá jen nekondenzovaným nebo neabsorbovaným součástem vzorku, jejichž množství lze po připojení dalšího zařízení určit jiným způsobem.

2. 1. 2. 3. Diferenční termogravimetrie – DTG

Diferenční termogravimetrie je termická analytická metoda, při které sledujeme rychlost změny hmotnosti vzorku na teplotě: dm / dt = f (T). Průběh DTG (ale i TG) křivky je ovlivňován řadou faktorů, např. vliv použitého přístroje a experimentálních podmínek, jako je rychlost ohřevu a přenosu tepla, rychlost registrace křivky, způsob měření teploty, dále množství vzorku, velikost částic vzorku, jeho tepelná vodivost a způsob úpravy vzorku (např. jeho napěchování). Bylo prokázáno, že u vzorků práškovité povahy vzrůstá s velikostí navážky vzorku i doba potřebná k proběhnutí reakce v celém objemu vzorku.

2.1.2.4. Diferenční termická analýza – DTA

Princip metody je založen na měření rozdílu teplot zkoumaného vzorku a srovnávacího vzorku (etalonu). Při této metodě tedy současně zahříváme (ochlazujeme) analyzovaný vzorek a srovnávací látku podle zvoleného teplotního programu a sledujeme teplotní rozdíly mezi nimi. Zatímco teplota srovnávací látky sleduje zvolený teplotní program, teplota zkoumaného vzorku podléhá změnám, které jsou odrazem fyzikálních a chemických přeměn, které v něm probíhají. Touto metodou lze postihnout řadu fyzikálních a chemických změn hmoty, provázených změnou entalpie, které se projevují jako změny endo- nebo exotermní. Mohou to být změny krystalické struktury, var, sublimace, odpařování, tání, chemické reakce rozkladné apod. Základní požadavky kladené na referenční vzorek jsou: inertnost a stabilita (nesmí prodělávat fázovou

přeměnu) v měřeném intervalu teplot, etalon a zkoumaný vzorek musí mít co nejpodobnější tepelnou kapacitu a tepelnou vodivost, případně stejnou velikost částic, jsou-li vzorky práškovité. Jako etalony se nejčastěji používají oxid hlinitý, oxid hořečnatý , oxid křemičitý nebo některé čisté kovy. Rozdíly teplot se registrují současně s teplotou referenčního vzorku jako závislosti $\Delta T = f(T)$, resp .$T = f(\Delta T)$ nebo ve formě časové závislosti $\Delta T = f(T)$.Tato metoda je ve srovnání s klasickou termickou analýzou mnohem citlivější na probíhající fázové změny a lze ji použít i při studiu fázových přeměn v tuhém stavu.

2. 1. 2. 5. Derivační diferenční termická analýza – DDTA

Derivační diferenční termická analýza je moderní modifikací předchozí metody, její princip je také shodný, pouze se registruje časová derivace křivky DTA, tedy $d(\Delta T) / dt = f(T)$, resp. $d(\Delta T) / dt = f(t)$. Některé procesy, např. rozkladné reakce, neprobíhají při konstantních teplotách a křivky DTA jsou charakterizovány postupným odkláněním od základní nulové linie, což ztěžuje přesné změření plochy píků a kvantitativní vyhodnocení. Na křivkách DDTA jsou i malé změny zřetelnější ve srovnání se záznamem DTA.

2. 1. 2. 6. Emanační termická analýza – ETA

Tato metoda je založena na měření množství inertního plynu uvolňovaného při zahřívání tuhých látek, značených těmito plyny (Rn, Ne, Kr, Ar, Xe). Jejich atomy slouží jako stopové indikátory, které ovšem s látkou nereagují .Uvolňování z matrice je řízeno převážně difúzí. Metoda umožňuje sledovat procesy nedoprovázené změnou hmotnosti nebo entalpie a tedy nezjistitelné metodami uvedenými výše.

2. 1. 2. 7. Termická dilatometrická analýza - TD

Termická dilatometrická analýza (dilatometrie) je metodou, pomocí které se sledují některé fyzikální nebo chemické procesy, probíhající v rovnoměrně vyhřívaném vzorku, které jsou spojené se změnou délkové či objemové roztažnosti. Teploty charakteristické pro různé efekty lze odečítat na termodilatometrických křivkách, reprezentovaných závislostmi $\Delta l / l = f(T)$, resp. $\Delta V / V = f(T)$. Stejně jako v předchozích případech je názornější využití derivační termodilatometrické křivky (DTD), představující derivaci termodilatometrické křivky.

2. 1. 2. 8. Tepelná luminiscenční analýza

Principem této metody je měření světelné emise, k čemuž je zapotřebí speciální termoluminiscenční aparatury s fotonásobičem.

2. 1 .2 .9. Klasická termická analýza (TA)

Klasická termická analýza představuje nejstarší a nejjednodušší metodu používanou pro stanovení teploty tání a tuhnutí u čistých látek, resp. teplot ztekucení a dalších charakteristických teplot u slitin či složitějších nekovových soustav. Je založena na registraci uvolňovaného nebo pohlcovaného tepla při fázové přeměně. Měří se teplota systému v závislosti na čase. Probíhající fázové přeměny se na křivkách závislosti $T = f(t)$ projevují typickými anomáliemi. V případě čisté látky, binárního eutektika, resp. peritektika se na křivce projeví izotermická prodleva, počátek a konec krystalizace tuhého roztoku se projeví zlomem, odpovídajícím změně rychlosti ochlazování resp. ohřevu. Tato metoda je vhodná např. pro sledování krystalizace kovů a slitin, které jsou doprovázeny výrazným tepelným efektem. Nehodí se proto pro sledování fázových přeměn v tuhém stavu, které jsou málo tepelně zabarveny a tato metoda je v takových případech nepříliš citlivá. Tato metoda se běžně využívá např. ve slévárenské praxi k průběžné kontrole stavu tavenin (nukleace, modifikace) před odléváním. (8)

2. 2. Alifatické oligoestery

2. 2. 1. Fyzikální, chemické a biologické vlastnosti PLA a PGA:

Polyestery kyseliny mléčné a glykolové mají velmi různorodé fyzikální, chemické a mechanické vlastnosti, které závisí hlavně na poměru a rozmístění obou složek. Mohou to být vysoce viskózní kapalné látky, amorfní houževnaté nebo lepivé hmoty, ale i amorfní křehké nebo semikrystalické křehké materiály. Jedná se o bezbarvé, nažloutlé nebo nahnědlé látky. S molekulovou hmotností polymeru souvisí hydrofilní charakter a rychlost degradace polymeru. K určení molekulové hmotnosti se používá nejčastěji gelová permeační chromatografie - GPC a viskozimetrie.

PGA je biodegradabilní polymer s teplotou skelného přechodu okolo 35 °C a teplotou tání okolo 225 °C. Molekulu si lze představit jako $(C_2H_2O_2)_n$. Ve stavební jednotce molekuly PGA se nachází relativně polární esterová vazba a nepolární methylenová skupina. PGA je vysoce krystalický polymer s krystalinitou v rozmezí 35 až 75 %. Ostatní užívané biodegradabilní polymery tak vysokou krystalinitu nemají. Ze struktury molekuly vyplývají jak chemické, fyzikální vlastnosti, tak vlastnosti mechanické. Polymer se ve většině organických rozpouštědlech nerozpouští, dále se vyznačuje vysokou pevností. V organismu se odbourává hydrolýzou esterových vazeb. Výsledná doba odbourávání je závislá na struktuře polymeru, stupni krystalinity, molekulové hmotnosti, ale také na fyzikálně - chemických vlastnostech prostředí.

PLA má některé vlastnosti odlišné. Rozdíl je dán přítomností methylové skupiny na α - uhlíku. α - uhlík umožňuje vznik L, D a DL izomerů. L - PLA je tvořena z L (-) - laktidu, D - PLA je tvořena z D (+) - laktidu, DL - PLA z DL - laktidu, který je racemickou směsí L (-) a D (+) izomeru. Dnes se převážně využívají L - PLA, DL - PLA a jejich kopolymery.

L - PLA je biodegradabilní polymer s teplotou skelného přechodu okolo 65 °C, teplotou tání okolo 175 °C. Jedná se o látku semikrystalickou, s krystalinitou okolo 35 %, L - PLA je tedy méně krystalická látka než PGA. Molekula se znázorňuje jako $(C_3H_4O_2)_n$. Polymer je na rozdíl od PGA rozpustný ve většině organických rozpouštědel, např. v chloroformu, dichlormethanu, esterech, tetrahydrofuranu nebo toluenu.

DL - PLA je polymer amorfní, s teplotou skelného přechodu okolo 57 °C. Tento polymer má velmi malou pevnost.

PLA je hydrolyticky stabilnější než PGA, její hydrolytická stabilita opět závisí na typu PLA, molekulové hmotnosti, krystalinitě, geometrickém uspořádání polymeru a fyzikálně - chemických vlastnostech prostředí. Menší ochota k hydrolýze je způsobena sterickým bráněním esterových vazeb methylovou skupinou. Amorfní DL - PLA degraduje rychleji než semikrystalická L - PLA. (13)

Rozpustnost

Rozpustnost závisí obecně na molární hmotnosti, stupni krystalinity a vlastním složení polymeru. Tyto látky jsou rozpustné v halogenovaných uhlovodících, některé i v alkoholech. Méně polární látky se rozpouští v aromatických uhlovodících a esterech.

Teplota skelného přechodu - T_g

Teplota skelného přechodu lineárních PLGA kopolymerů je vyšší než fyziologická teplota 37 °C a proto se nachází kopolymery při této teplotě ve stavu sklovitém. T_g se snižuje s poklesem obsahu kyseliny mléčné v kopolymeru a se snížením jejich molekulové hmotnosti.

PLA/PLGA jsou v posledních letech velice podrobně zkoumány, dokonce jsou schváleny FDA jako polymery vhodné pro parenterální použití. Využívají se hlavně pro svou biokompatibilitu, biodegradabilitu a netoxičnost. (14)

Mezi hlavní výrobce PLGA polymeru patří Birmingham Polymers, Boehringer Ingelheim (Resomer™) a Polysciences. Cena polymeru je velmi vysoká, cena za jeden kilogram se pohybuje od 2000 až do 6000 dolarů.

2. 2. 2. Biodegradace

Biodegradace velice zjednodušeně znamená rozklad polymerů na malé částice nebo až na monomerní částice v živém organismu. Jedná o rozklad polymerů resorpcí (metabolismem) nebo vyloučením fragmentů z lidského těla. (15, 16, 17) Biodegradace polyesterů probíhá za fyziologických podmínek pomocí kyselin, bazí (hydrolýzou), dále pomocí enzymů, ale i jinými mechanismy. (18) Degradace je součást eroze, což znamená ztrátu materiálu z celkového objemu materiálu. PLA, PLGA degradují v organismu na kyselinu mléčnou a glykolovou a ty se metabolizují na oxid uhličitý a vodu, což jsou běžné odpadní produkty metabolismu. (19)

Vlastní degradaci polymeru předchází bobtnání, což je proces, při němž dochází k absorpci určitého množství vody nebo jiné mísitelné kapaliny. Potom následuje destrukce, při níž nejprve dochází k hydrolýze esterových vazeb, tím se snižuje molekulová hmotnost polymeru a zvyšuje se jejich hydrofilita. Nejprve nastává

degradace amorfní části polymerní matrix, potom části krystalické. Obecně platí, že čím je vyšší stupeň krystalizace polymeru, tím je pomalejší jeho biodegradace. V další fázi eroze pokračuje destrukce polymerního tělíska, ubývá hmotnost polymeru a částice se rozkládají na různě velké segmenty. Biodegradace polymeru trvá podle složení několik týdnů až let. (20, 21) Vliv na rychlost biodegradace má poměr zastoupení glykolátu a laktátu. Bylo zjištěno, že zvýšená biodegradabilita je spojena se zvýšením poměru glykolátu v kopolymeru. (22)

2. 2. 3. Využití a přípravky s PLA, PGA

První informace o tom, že kyselina mléčná a kyselina glykolová jsou schopny tvořit polyestery, nalézáme již ve 30. letech 20. století. V té době známé sloučeniny uvedeného typu ale neměly výhodné mechanické, fyzikální ani chemické vlastnosti, proto jim nebyla věnována dostatečná pozornost. Koncem 60. let 20. století bylo navrženo jejich použití jako chirurgického šicího materiálu. Jedná se o kopolymery kyseliny glykolové a mléčné v poměru 90 : 10. (23, 24) První syntetický vstřebatelný šicí materiál se objevuje na trhu až v roce 1972, o dva roky později se jako zlatý standard v nemocnicích po celém světě etabluje šicí materiál ETHICON VICRYL (polyglactin 910).

2.2.3.1.Chirurgický šicí materiál

Dnes se využívá šicí vlákno VICRYL PLUS (polyglactin 910) - jedná se o první běžně vyráběný antibakteriální šicí materiál na světě - revoluční antibakteriální šití. Šicí vlákno je potažené nejčistší formou antiseptika triclosan a proto brání osídlení operační rány bakteriemi, zejména bakteriemi Staphylococcus aureus a Staphylococcus epidermidis nejméně po dobu 48 hodin. Zajímavostí je, že tento syntetický vstřebatelný materiál je standardně dodáván jako atraumatický, tj. vlákno není do jehly navlékáno, ale zalisováno.

Charakteristika vlákna VICRYL PLUS: Jedná se o vstřebatelný syntetický sterilní šicí materiál, pletené vlákno složené z glykolidu a laktidu, obsahuje širokospektrální antibakteriální přísadu Irgacare MP (triclosan). Vlákno VICRYL PLUS je určeno pro přiblížení každé měkké tkáně a / nebo k ligaturám, včetně mikrochirurgie pro cévy s průměrem menším než 2 mm. Vlákno je zcela resorbováno mezi 56 až 70 dny od implantace. (36)

Příklady dalších dnes používaných vstřebatelných vláken, které obsahují kyselinu glykolovou nebo mléčnou:

Monolac

Monolac je syntetický, vstřebatelný, monofilamentní chirurgický šicí materiál z kopolymeru glycolidu a ε-caprolactonu. Materiál má povrchovou úpravu, která je neantigenní a není fibroproduktivní. Vlákna jsou dodávána obarvená fialovým nedráždivým barvivem D&C Violet No2 (Color index Nr. 60725) nebo neobarvená. Monolac vyvolává minimální akutní zánětlivou reakci ve tkáních. Postupná ztráta pevnosti v tahu a absorpce probíhá hydrolýzou. Polymer je degradován na adipovou kyselinu, která je následně vstřebána a metabolizována organismem. Absorpce vlákna se projevuje postupnou ztrátou pevnosti v tahu a v postupném rozplynutí materiálu. Implantační studie na zvířatech ukazují, že nebarvené vlákno si po 7 dnech zachovává 50 %, barvené vlákno 60 % původní mechanické pevnosti a po 14 dnech nebarvené vlákno 20 % a barvené vlákno 30 % původní mechanické pevnosti. Ke kompletní absorpci materiálu dochází mezi 90 až 120 dny. Monolac je vhodný pro spojení měkkých tkání a k ligaturám tam, kde je potřebné použití vstřebatelného materiálu.

Indikace: Kůže, GIT anastomózy, urologie, gynekologie. (35)

Chirlac rapid braided

Chirlac rapid braided je syntetický, vstřebatelný, pletený chirurgický šicí materiál z polymeru glykolové kyseliny. Materiál má povrchovou úpravu, která je neantigenní a není fibroproduktivní. Vlákna jsou dodávána obarvena fialovám nedráždivým barvivem nebo neobarvená. Chirlac rapid vyvolává minimální akutní zánětlivou reakci ve tkáních. Postupná ztráta pevnosti v tahu a absorpce probíhá hydrolýzou. Polymer je degradován na glykolovou kyselinu, která je následně vstřebána a metabolizována. Absorpce vlákna se projevuje postupnou ztrátou pevnosti stehu, bez viditelné změny tloušťky vlákna. Implantační studie na zvířatech ukazují, že vlákno si po 5 dnech zachovává cca 60 % původní mechanické pevnosti. Ke kompletní ztrátě původní mechanické pevnosti dochází až po 12 - 14 dnech. Chirlac rapid je určen pro spojení měkkých tkání všude tam, kde je vhodná krátkodobá podpora rány a kde je vhodná rychlá absorpce šicího materiálu. Chirlac rapid je určen pro šití kůže, v dětské chirurgii, gynekologii (episiotomie), v oční chirurgii (sutura spojivky) a zubní chirurgii pro šití sliznice dutiny ústní.

Indikace: Obecná, plastická a oční chirurgie, gynekologie, stomatochirurgie (kůže, podkoží, episiotomie, sliznice, spojivka, všude, kde je vhodná krátkodobá podpora rány a rychlá resorpce). (35)

Chirlac braided

Chirlac braided (Chirlac pletený) je vstřebatelný syntetický chirurgický šicí materiál s mimořádně vysokou pevností v tahu, vyrobený z homopolymeru kyseliny glykolové (kys. hydroxyoctová). Materiál vykazuje homogenní strukturu i povrch, při průniku tkání má malé tření a velmi dobře se uzlí. Vlákna jsou dodávána obarvena fialovým nedráždivým barvivem nebo neobarvená. Chirlac je pokryt vrstvou rovněž vstřebatelné substance. Tato úprava snižuje kapilární efekt, zároveň snižuje tzv. pilový efekt materiálu při zachování výborné uzlitelnosti. Chirlac je v tkáni odbourávám jednoduchou hydrolýzou.jeho štěpné produkty jsou v těle metabolizovány. Ke ztrátě pevnosti dochází asi po 30 dnech, ke kompletní absorpci dochází mezi 80. - 90. dnem. Chirlac je vhodný pro šití měkkých tkání, střev, svalů, facií, parenchymových orgánů, podvazy drobných cév, intradermální steh.

Indikace: Obecná, plastická a oční chirurgie, ortopedie, traumatologie, gynekologie, neurochirurgie (měkké tkáně, střeva, svaly, facie, GIT anastomózy, parenchymové orgány, podvazy drobných cév, ligatury). (35)

Caprolac

Caprolac je chirurgický syntetický vstřebatelný monofilament z kopolymeru kyseliny L -mléčné a ε - caprolactonu. Monofilní vlákno není antigenní ani pyrogenní a vyvolává minimální akutní zánětlivou reakci ve tkáních. Postupná ztráta pevnosti v tahu a resorpce probíhá hydrolýzou. Kopolymer je degradován na kyselinu L - mléčnou a kyselinu ε - hydroxykapronovou, které jsou následně vstřebány a metabolizovány. Resorpce vlákna se projevuje postupnou ztrátou pevnosti stehu, bez viditelné změny tloušťky vlákna. Implantační studie na zvířatech ukazují, že vlákno si po 8 týdnech zachovává cca 50 % původní mechanické pevnosti. Ke kompletní resorpci materiálu dochází po 180 dnech. Caprolac je vhodný pro spojování měkkých tkání. Vlákno udržuje svou pevnost v tkáni déle než jiné vstřebatelné materiály. Tato vlastnost jej činí vhodným zejména pro pomalu se hojící tkáně, které vyžadují delší jištění rány (facie, ortopedie, cévní anastomózy), resp. pro pacienty s dalšími komplikacemi (diabetes, onkologie, obezita).

Indikace: Obecná chirurgie, ortopedie, gynekologie, urologie (facie, svaly, GIT anastomózy, měkké tkáně, vazy, vhodný pro pomalu se hojící tkáně, které vyžadují delší jištění rány). (35)

Nyní se PLA a její kopolymery využívají jako materiál podporující hojení ran, absorbovatelné výplně tkání, ortopedické implantáty, systémy cílené distribuce léčiv, ale i jinde. (26, 27, 28, 29, 30)

2.2.3.2.Nosiče léčiv

Jako nosiče léčiv byly vyvinuty přípravky obsahující PLA, PGA od 70. let. (25)
Např. v onkologii se využívají vysoce porézní biodegradabilní implantáty z L - PLA obsahující poměrně nízké koncentrace adriamycinu, jež byly implantovány do blízkosti tumoru. Postupně došlo k destrukci tumoru. Další příklad je methotrexat inkorporovaný do polymerního filmu vyrobeného jak z DL - PLA, tak z L - PLA o odlišných molekulových hmotnostech. Léčivo se uvolňuje z tohoto systému v závislosti na molekulové hmotnosti polymeru a na celkovém obsahu léčiva v polymeru. Také další významné léčivo, cisplatina , již byla připravena ve formě implantátu. Jednalo se o pevný cylindrický implantát z DL - PLA, který uvolňoval cisplatinu déle než 4 týdny. Tento implantát je schopen udržet vyšší koncentraci léčiva v subkutánních tkáních po dobu nejméně 20 dní, na rozdíl od subkutánně vpravených roztoků léčiv. Cisplatina je součástí také v biodegradabilním implantátovém systému zvaném Atrigel, jedná se o kopolymer DL - PLA s kaprolaktonem nebo DL - PLA glykolidem rozpuštěné v dimethylsiloxanu. Maximální koncentrace cisplatiny v séru bylo dosaženo asi za dva dny, pak nastal postupný pokles hladiny léčiva trvající zhruba jeden měsíc. (31, 32, 33)

DL - PLA se využívá převážně pro matricové systémy. Biodegradabilní implantáty vyrobené z kyseliny polymléčné se využívají také pro inkorporaci některých antibiotik, jako např. gentamycinu, sulfadiazinu, adriamycinu apod. Pro inkorporaci gentamycinu se používají amorfní matricové systémy vyrobené jak z DL - PA, tak L - PLA. Implantát uvolňující antibiotikum je ve formě prášku a nebo tenkého filmu.

Do PLGA kopolymerů byla úspěšně inkorporována také řada látek, které vyžadují dlouhodobé kontinuální uvolňování, např. finasterid, disulfiram, melanotan - 1 (analog α - melanocyty stimulujícího hormonu). Biodegradabilní matrix z PLGA se osvědčila i pro

implantáty s řízeným uvolňováním diklofenaku sodného. Jeho modifikací lze připravit implantátový systém obsahující v gelové formě, který lze aplikovat pomocí speciálního injekčního vybavení. Tato aplikace se jeví do budoucna jako výhodná pro pacienty trpící chronickými bolestmi.

Přestože jsou polymery z PLA a PGA považovány za biokompatibilní a netoxické, v literatuře se objevují zmínky o tom, že byly zaznamenány zánětlivé reakce u implantátů z PLA a PGA, které se nastaly v rozmezí 7 až 20 týdnů po aplikaci implantátu do těla, ale tyto zánětlivé změny v dalších týdnech postupně vymizely. Tyto komplikace jsou přisuzovány degradačním produktům odváděným z implantátu, dále se ukázal významný vliv místa aplikace implantátu (více komplikací bylo pozorováno v oblasti kosti vřetenní a lopatky, než např. v kotníku), věku, nebo i objemu polymerního implantátu. (34)

DL - PLA se používá také k přípravě implantátů s programovaným uvolňováním. S využitím výhod povrchové eroze byly vyvinuty polymerní matrice umožňujících uvolňování jednoho léčiva ve dvou fázích či dvou různých léčiv, jedno po druhém. První fáze uvolňování léčiva trvá 1- 2 týdny, pak následuje druhá fáze stejného trvání. Matrix se skládá z několika vrstev povrchově erodujícího polymeru. Pokud polymer eroduje příliš rychle, docílíme žádoucího uvolňování z implantátu inkorporací objemově erodujícího polymeru.

Syntetické struktury na bázi kyseliny mléčné se využívají jako „ lešení "při pěstování náhradních orgánů „ na zakázku ", zatím jen ve výzkumu. Příkladem je pokus, kdy se nejprve hlodavcům přestřihne mícha. Poté se jim v přerušeném místě aplikují lidské kmenové buňky zabudované na struktuře PLGA. Ukazuje se, že lidské buňky obnovují funkci míchy až na úroveň 14 (ve stupnici, která má maximum 21 stupňů). U zvířat kontrolní skupiny, která léčbu kmenovými buňkami touto metodou nepodstoupila, se dosahovalo zlepšení na úrovni hodnoty 3. Snyderův tým věří, že kmenové buňky, chované v těchto biomostech jsou tím správným směrem, který nakonec dokáže vychovat kmenové nervové buňky k tomu, aby obnovily funkce přerušených nervů.

Burnham Institute v kalifornské La Jolla vytvořil speciální lešení, které drží nervové kmenové buňky tak, aby se nerozutekly dříve, než stačí vytvořit funkční propojení se svými sousedkami. Velikost takového lešení se pohybuje v rozměrech milimetrů a tvoří ho materiál PLGA.

Podobné pokusy probíhají také na Floridské státní univerzitě v Tallahassee. I zde se snaží najít cestu, jak obnovit nervové spoje v porušené míše. K těmto účelům zde ale používají jen samotný polymer kyseliny mléčné (PLA).

Materiál PLGA v Tallahassee používají k jiným účelům. Vyvinuli zde metodu, kterou z PLGA udělají pěnu, která má určitou velikost bublin. Bubliny imitují plicní sklípky a na takto zformované pěně nechávají růst buňky. Tak se jim pak podaří vypěstovat funkční plicní tkáň, která by se dala transplantovat.

Na fóliích z PLGA se provádí pokusy s kultivací lidských osteoblastů. Prakticky se jedná o pokusy nechat růst kost podle předem dané zakázky a mimo tělo. Tyto pokusy provádí Marianne Ellisová západně od Londýna na univerzitě v Bath. (37)

3. CÍL RIGORÓZNÍ PRÁCE

Na pracovišti školitele bylo zadáno přispět ke studiu degradačního chování větvených oligoesterů s přídavkem plastifikačního činidla z hlediska pozorování změn hodnoty teploty skelného přechodu. Byly vybrány terpolymery kyseliny DL - mléčné a kyseliny glykolové s mannitolem a dipentaerythritolem.

Cíl práce je možno specifikovat v následujících bodech:

1. Vzorky nosičů hmotnosti přibližně 350 mg s přísadou plastifikátoru o hmotnosti přibližně 150 mg podrobit zahřátí v termostatu a promísit a tak připravit vzorky pro další zpracování.
2. Z první třetiny vzorku navážit do hliníkového kelímku tělísko o hmotnosti 3 až 10 mg, druhou a třetí třetinu podrobit působení kapalných médií - dle zadání školitele čištěné vody a izotonického roztoku fosfát citrátového pufru o pH 6, 0.
3. Odebírat postupně vzorky z médií ve stanovených intervalech a sušit je do konstantní hmotnosti.
4. Odebrané a vysušené vzorky podrobit měření metodou DSC na zařízení NETZSCH DSC 200 PC.
5. Vyhodnotit naměřené výsledky pomocí speciálního přístrojového software z hlediska jednotlivých parametrů teploty skelného přechodu.
6. Hledat a interpretovat jednotlivé souvislosti mezi změnami teploty skelného přechodu a kvalitou média a případně dobou působení média a připravit tak podklady pro další studium mechanismu bobtnání nosičů.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4. 1. Použité chemikálie, přístroje a další pomůcky

4. 1. 1. Použité chemikálie

Oligoesterové nosiče (3D, 5D, 5M), Katedra farmaceutické technologie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Plastifikátory (TEC – Merck, TA - Aldrich Chemical Company, EP – Sigma -Aldrich, ES - Fluka Chemica)

Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát p .a., Lachema a. s., odštěpný závod Neratovice

Kyselina citronová p. a., Lachema a. s., odštěpný závod Neratovice

Azid sodný p. a., Fluka

Destilovaná voda, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Tab.1: Základní charakteristiky testovaných oligoesterů

Označení	M/D (% hmotn.)	M_n	M_w	M_w/M_n	M_w(SEC)/M_w(MALLS)	T_g
3D	0/3	3600	5300	1,5	1,19	27,3
5D	0/5	1900	2300	1,2	1,04	16,3
5M	5/0	1600	2200	1,4	1,36	21,0

Hodnoty výše uvedené byly naměřeny v a. s. Synpo Pardubice prof. Š. Podzimkem a ing.V. Špačkem. Molekulové hmotnosti byly stanoveny metodou CPC - MALLS, hodnota skelného přechodu metodou DSC.

Vysvětlivky:

M_n -číselně střední relativní molekulová hmotnost - je vyjádřením molekulové hmotnosti mediánové molekuly v daném vzorku polymeru při hypotetickém seřazení molekul podle velikosti

M_w - hmotnostně střední molekulová hmotnost - je charakteristikou hypotetické molekuly, která je ve středu mezi dvěma polovinami hmotnosti daného vzorku s molekulami hypoteticky seřazenými podle velikosti

M_w/M_n - stupeň polydisperzity - hodnota stupně polydisperzity slouží jako odhad šířky distribuce molekulových hmotností polymerů. U monodiperzních polymerů se rovná hodnotě 1.

M_w(SEC)/M_w(MALLS) - podíl středních hodnot molekulové hmotnosti M_w zjištěných klasickou SEC s refraktometrickým detektorem a metodou SEC s detektorem MALLS

T_g - teplota skelného přechodu polymeru

4. 1. 2. Použité přístroje

DSC kalorimetr Netzsch 200 – výrobce Netzsch – Gerätebau, Germany

Analytické digitální váhy, AND HR - 120

Předvážky digitální, KERN 440 - 53

Biologický termostat, BT 120

Horkovzdušná sušárna, HS 61 A

Potenciometr digitální s pH metrem, Gryf 208L

Ruční lis pro víčkování kelímků Netzsch

Exsikátory

4. 1. 3. Další pomůcky

Skalpel

Nůž

Kopistka

Kádinky 5 ml

Tyčinky

Pipetky

Scintilační lahvičky

Zkumavky Eppendorf

Hliníkové kelímky Netzsch

Střička

Papírové sáčky

4. 2. Příprava vzorků

Pomocí kopistky či nože jsme navážili na analytických vahách do 5 ml kádinky 350 mg zkoumaného oligoesteru (3D, 5D, 5M) a pomocí pipetky přidali 150 mg plastifikátoru (TEC, TA, EP, ES), obojí s povolenou odchylkou max. 5 %. Tyčinkou jsme směs promíchali a vložili na 20 min. do termostatu nastaveného na 50 °C. V průběhu zahřívání jsme směs několikrát míchali. Po 20 min jsme vzorek rozdělili na třetiny. Z první třetiny jsme na analytických vahách navážili do hliníkových kelímků tělíska o hmotnosti 3 až 10 mg, kelímek ihned zavíčkovali a vložili do označeného papírového sáčku a ten do exsikátoru. Druhou a třetí třetinu jsme vpravili do scintilačních lahviček. Druhou třetinu jsme zalili destilovanou vodou a třetí třetinu pufrem o pH 6, 0. Lahvičky jsme uzavřeli víčkem, řádně označili a dali do termostatu s teplotou 37 °C. V intervalech 1, 3, 7, 14, 21, 28 dní jsme po odlití média odebrali kopistkou vzorky z okraje nabobtnalého polymeru, přenesli do zkumavek Eppendorf a vyměnili médium. Odebrané vzorky jsme vysušili do konstantní hmotnosti. Po vysušení jsme na analytických vahách navažovali vzorky o hmotnosti 3 až 10 mg (méně jen v případě, že zůstalo polymeru málo) s přesností 0, 01 mg do hliníkových kelímků, ihned zavíčkovali, kelímek vložili do papírového sáčku označeného názvem polymeru, dobou bobtnání, médiem, hmotností prázdného kelímku, navážkou a hmotností kelímku se vzorkem a uložili do exsikátoru do doby, než byl vzorek změřen.

4. 3. Příprava testovacích médií

S vedoucím rigorózní práce jsme vybrali 2 média, destilovanou vodu a pufr o pH 6, 0. Tento pufr jsme připravili podle tabulek Tables laboratory Merck. Jeden litr pufru jsme získali smícháním roztoku A (7, 697 g kyseliny citronové v 366, 30 g destilované vody) a roztoku B (41, 81g dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu disodného v 584, 189g destilované vody). Pomocí pH metru jsme změřili pH a upravili na požadovanou hodnotu. Nakonec jsme přidali jako konzervační látku azid sodný v koncentraci 0, 02 %.

4. 4. Označení sérií vzorků

1. série: např. LV - 5M – TEC – V - 1 - znamená, že se jedná o sérii formálně označenou dvěma písmeny LV, polymer 5M, plastifikátor TEC, médium vodu a dobu působení média 1 den.

2. série: např. V - 5M – TEC – V – 1 – znamená , že se jedná o sérii oynačenou písmenem V, polymer 5M, plastifikátor TEC, médium vodu a dobu působení média 1 den. Na rozdíl od první série byly tyto vzorky změřeny až za 3 měsíce po navážení do hliníkových kelímků.

4. 5. Popis přístroje

- diferenciální skanovací kalorimetr s tepelným tokem, DSC kalorimetr 200 Netzsch
- výrobce Netzsch –Gerätebau, Germany
- teplotní rozsah od -150 °C do +600 °C
- rychlost ohřevu -0,1 až + 99,9 °C /min
- zahřívání - kolem senzoru cirkulační topné těleso
- kalorimetrický rozsah +/-750mW
- kalorimetrická citlivost 4až 4,5 μV / mW (pro indium)
- chlazení - tekutý dusík,Dewarova nádoba
- rychlost proplachovacího plynu - 20ml / s
- hliníkové kelímky o objemu 25 μl

Další součásti přístroje:

-Dewarova nádoba na tekutý dusík
- měřící jednotka DSC 200PC
- zařízení na kontrolu průtoku plynu (6.240.6-40,0)
-LN_2 - (6, 321,1) s manuálním ovládáním přívodu plynu
-DSC 200 software s PC

4. 6. Postup při měření na přístroji

Vždy nejméně 1 hod před začátkem měření jsme zapnuli měřící jednotku. Po hodině zahřívání přístroje jsme opatrně nasadili přetlakový ventil na Dewarovu nádobu, na ventil jsme nasadili utěsňovací zařízení, zašroubovali a zavřeli obě páčky. Pak jsme pustili plynný dusík a následovalo natlakování Dewarovy nádoby s kapalným dusíkem pomocí páček na Dewarově nádobě. Po zapnutí počítače jsme spustili program kliknutím na ikonu NETZSCH - TA4.

4. 7. Vkládání vzorků do přístroje

Nejprve jsme si na monitoru počítače překontrolovali teplotu v měřící komoře (neboť víka komory lze otevřít jen tehdy, pokud je uvnitř teplota 20 °C), pak jsme ručně

odstranili vrchní kryt komory a pak pinzetou další dvě víka. Následovalo přenesení hliníkového kelímku pinzetou do pravé pánvičky a umístění prázdného (srovnávacího) kelímku do pánvičky levé. Víka komory jsme opět pomocí pinzety uzavřeli a zakryli vnějším krytem. Tím byl vzorek připraven k měření.

4. 8. Měření termických charakteristik oligoesterů 3D, 5D a 5M

U zadaných vzorků jsme zjišťovali hodnotu teploty skelného přechodu T_g. Vzorky jsme v přístroji elektricky odporově zahřívali a chladili kapalným dusíkem ve dvou cyklech, konstantní rychlostí 10 °C za minutu. Hodnotu T_g jsme vyhodnotili pomocí software, které je součástí přístroje. Na záznamu DSC nás zajímal především začátek, střed a konec relaxační vlny, inflexní bod záznamu a změna tepelné kapacity systému $\Delta c_p.10^3$, která je dána výškou vlny.

4. 9. Hodnoty termických charakteristik vzorků - tabulky

Tab. 2: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 3D, plastifikace triacetinem (30 %), médium pufr o pH 6, 0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	**$\Delta c_p .10^3$**	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	**$\Delta c_p .10^3$**
LV-3D-TA-6-1	-23,1	-41,3	-22,4	-59,5	335	-7,8	-2,8	-3,9	2,2	383
LV-3D-TA-6-3	-12,1	-50,1	-11,7	-88,1	489	-0,1	8,0	7,8	16,0	680
LV-3D-TA-6-7	12,5	18,1	19,7	23,7	596	12,5	16,8	18,4	21,2	549
LV-3D-TA-V-1	-10,1	0,6	0,2	11,2	688	-10,0	0,3	-0,5	10,7	668
LV-3D-TA-V-3	6,0	11,8	12,2	17,6	601	6,3	11,9	12,5	17,6	617
LV-3D-TA-V-7	12,4	18,0	18,6	23,7	707	13,4	17,7	18,6	22,0	537

	1. měření					2. měření				
VZOREK	onset	mid	infl	end	Δc_p	onset	mid	infl	end	Δc_p
V-3D-TA-6-14	29,9	31,7	34,0	33,5	6	27,0	30,1	31,7	33,3	576
V-3D-TA-6-21	28,4	30,6	34,9	32,8	603	25,9	28,9	29,6	31,9	603
V-3D-TA-V-14	24,2	26,3	27,5	28,4	619	23,8	26,2	27,6	28,7	649
V-3D-TA-6-21	28,4	30,6	34,9	32,8	603	25,9	28,9	29,6	31,9	603
V-3D-TA-V-14	24,2	26,3	27,5	28,4	619	23,8	26,2	27,6	28,7	649
V-3D-TA-V-21	22,4	24,3	26,4	26,1	644	21,7	24,2	26,1	26,7	610

Tab. 3: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 3D, plastifikace triethylcitrátem (30%), médium pufr o pH 6, 0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	onset	mid	infl	end	$\Delta c_p .10^3$	onset	mid	infl	end	$\Delta c_p .10^3$
LV-3D-TEC-6-1	-7,6	0,6	0,1	8,8	685	-9,5	-1,6	-0,4	6,2	592
LV-3D-TEC-6-3	-1,5	5,3	6,6	12,0	684	-1,8	5,1	4,7	11,9	671
LV-3D-TEC-6-7	20,2	24,6	27,2	29,1	704	19,1	24,2	27,1	29,3	685
LV-3D-TEC-V-1	-10,0	3,6	-0,8	17,2	764	-10,4	3,2	0,5	16,8	754
LV-3D-TEC-V-3	-3,5	3,0	4,7	9,4	685	-3,5	3,0	4,7	9,4	629
LV-3D-TEC-V-7	17,5	20,8	21,7	24,0	517	15,7	19,1	20,4	22,6	577
LV-3D-TEC-V-7	13,6	19,3	20,7	25,0	712	15,5	19,0	20,4	22,6	593
LV-3D-TEC-V-14	21,5	24,9	26,3	28,4	625	21,1	24,4	25,3	27,6	610

Tab. 4: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 5D, plastifikace triacetinem (30%), médium pufr o pH 6,0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	onset	mid	infl	end	$\Delta c_p .10^3$	onset	mid	infl	end	$\Delta c_p .10^3$
LV-5D-TA-6-1	14,6	18,0	19,6	21,4	568	14,7	17,6	19,2	20,5	547
LV-5D-TA-6-3	18,4	21,2	22,5	24,0	590	18,1	20,7	22,4	23,3	575
LV-5D-TA-6-7	21,2	24,3	25,3	27,5	636	20,0	22,9	24,0	25,8	572
LV-5D-TA-ep	-11,2	-6,6	-10,3	-2,0	543	-12,2	-6,6	-10,1	-1,0	595
LV-5D-TA-V-1	14,1	17,3	19,1	20,5	558	14,3	17,5	18,7	20,7	571
LV-5D-TA-V-3	19,0	21,7	23,3	24,3	547	18,7	21,2	22,8	23,8	563
LV-5D-TA-V-7	16,7	21,0	21,7	25,3	618	17,8	20,7	22,0	23,7	545
LV-5D-TA-V-14	16,4	19,9	21,3	23,4	674	17,5	20,2	21,5	22,9	622

Tab. 5: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 5D, plastifikace triethylcitrátem (30%), médium pufr o pH 6,0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	$\Delta c_p .10^3$	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	$\Delta c_p .10^3$
LV-5D-TEC-ep	-15,0	-10,0	-11,0	-5,0	373	-15,0	-10,8	-12,4	-6,7	329
	-21,5	-2,2	14,8	17,1	1235					
	-4,5	5,6	14,8	15,7	584					
	8,1	11,8	14,8	15,5	334	8,7	12,3	14,1	15,9	299
LV-5D-TEC-6-1	12,2	15,8	16,9	19,4	579	13,3	16,3	17,8	19,3	559
LV-5D-TEC-6-3	19,6	21,6	22,7	23,7	450	18,6	21,0	22,7	23,4	520
LV-5D-TEC-6-7	17,5	19,7	22,1	21,9	520	17,4	19,5	20,8	21,6	532
LV-5D-TEC-V-1	19,2	21,9	23,5	24,7	170	19,0	21,5	23,0	24,.0	158
LV-5D-TEC-V-3	21,5	24,1	25,3	26,8	566	20,9	23,4	25,0	25,9	602
LV-5D-TEC-V-7	13,6	19,3	20,7	25,0	712	15,5	19,0	20,4	22,6	593

Tab. 6: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 5M, plastifikace triacetinem (30%), médium pufr o pH 6,0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	$\Delta c_p .10^3$	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	$\Delta c_p .10^3$
LV-5M-TA-ep	-17,0	-8,4	-11,8	0,3	1370	-15,6	-9,9	-14,0	-4,2	924
	-17,0	-12,2	-11,8	-7,2	778					
	16,8	19,8	21,4	22,8	238					
LV-5M-TA-6-1	3,2	7,1	7,5	11,1	324					
	3,2	10,6	7,5	18,1	611	2,2	9,9	8,2	17,6	598
	21,7	26,2	24,7	30,8	198					
LV-5M-TA-6-3	12,8	18,9	21,5	25,1	641	13,8	18,3	19,8	22,8	562
LV-5M-TA-6-7	28,3	30,3	32,1	32,3	782	25,5	28,8	30,3	32,1	647
LV-5M-TA-6-14	27,3	29,4	31,6	31,5	721	24,6	27,8	29,0	30,9	639
LV-5M-TA-6-21	29,9	32,2	34,6	34,5	745	29,9	32,2	34,6	34,5	738
LV-5M-TA-V-1	6,4	12,0	11,4	17,7	624	6,3	12,1	12,3	18,0	655
LV-5M-TA-V-3	18,0	22,6	23,6	27,3	651	17,5	22,1	22,6	26,7	605
LV-5M-TA-V-7	19,8	22,7	24,1	25,6	627	19,5	22,4	24,1	25,3	594

Tab. 7: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 5M, plastifikace triethylcitrátem (30%), médium pufr o pH 6,0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	onset	mid	infl	end	$\Delta c_p .10^3$	onset	mid	infl	end	$\Delta c_p .10^3$
LV-5M-TEC-ep	16,4	19,7	21,1	22,9	170	16,2	19,2	20,4	22,2	164
LV-5M-TEC-6-1	5,7	12,2	11,6	18,7	627	5,3	12,1	12,5	18,9	629
LV-5M-TEC-6-3	16,5	22,1	23,6	27,8	617	16,5	21,8	21,1	27,0	612
LV-5M-TEC-6-7	20,1	26,5	27,1	32,8	764	20,1	26,2	27,1	32,3	735
LV-5M-TEC-6-14	33,2	34,2	36,3	35,3	657	28,8	31,7	33,4	34,5	642
LV-5M-TEC-6-21	20,0	22,8	24,9	25,6	612	20,7	23,7	24,7	26,7	624
LV-5M-TEC-V-1	2,4	10,3	10,8	18,3	639	5,3	11,4	11,1	17,4	545
LV-5M-TEC-V-3	14,6	21,6	23,5	28,5	675	13,2	20,4	23,0	27,7	652

Tab. 8: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 3D, plastifikace ethylpyruvátem (30%), médium pufr o pH 6,0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	onset	mid	infl	end	Δc_p	onset	mid	infl	end	Δc_p
V-3D—EP-6-1	8,9	14,4	15,6	19,9	611	9,8	14,9	14,9	19,9	572
V-3D-EP-6-3	7,2	13,3,	13,8	19,5	595	7,4	13,1	13,2	18,7	567
V-3D-EP-6-7	20,5	25,0	26,6	29,5	682	19,9	23,6	25,5	27,2	532
V-3D-EP-6-14	27,9	30,0	32,5	32,1	582	26,0	29,1	30,6	32,3	610
V-3D-EP-6-14	27,9	30,0	32,5	32,1	582	26,0	29,1	30,6	32,3	610
V-3D-EP-6-21	22,9	27,0	28,0	31,0	629	22,0	25,5	26,8	28,9	592
V-3D-EP-6-1	8,4	14,4	15,6	20,5	679	8,6	14,3	14,9	20,0	628
V-3D-EP--ep	-29,2	-25,8	-24,4	-22,4	593	-29,0	-26,1	-24,6	-23,2	470
V-3D-EP-V-1	-6,1	-2,6	-6,9	1,0	568	-4,1	2,5	3,9	9,1	679
V-3D-EP-V-3	6,1	14,1	9,9	22,0	549	26,2	27,0	28,4	27,7	2921
V-3D-EP-V-7	17,8	21,6	22,3	25,4	616	17,4	21,1	21,8	24,9	586
V-3D-EP-V-14	13,7	20,7	26,0	27,8	680	16,7	21,0	21,6	25,3	587
V-3D-EP-V-21	20,1	23,0	24,9	25,9	491	19,5	22,5	23,8	25,5	595

Tab. 9: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 3D, plastifikace ethylsalicylátem (30%), médium pufr o pH 6,0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	onset	mid	infl	end	Δc_p	onset	mid	infl	end	Δc_p
V-3D-ES-6-1	-10,6	-6,1	-6,0	-1,5	431	-11,2	-6,5	-5,0	-1,7	451
V-3D-ES-6-3	46,3	-21,7	-13,4	-89,7	592	-14,0	-53,3	-13,7	-92,7	333
V-3D-ES-6-7	1,5	7,0	8,8	12,5	558	0,2	5,8	8,6	11,3	554
V-3D-ES-ep	-5,4	-0,9	-0,9	3,6	493	-6,2	-1,4	0,0	3,4	485
V-3D-ES-V-1	-4,6	0,0	2,2	4,6	474	-1,3	2,7	1,7	6,7	225
V-3D-ES-V-3	-3,9	0,7	0,4	5,4	524	-3,5	1,1	2,0	5,7	509
V-3D-ES-V-7	-1,7	3,0	3,9	7,6	630	-1,7	3,1	3,9	7,9	595

Tab. 10: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 5D, plastifikace ethylpyruvátem (30%), médium pufr o pH 6,0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	onset	mid	infl	end	Δc_p	onset	mid	infl	end	Δc_p
V-5D-EP-6-1	20,6	23,0	24,6	25,5	592	20,0	22,6	24,2	25,1	594V-
V-5D-EP-6-3	23,4	25,3	27,4	27,2	534	22,3	24,7	26,4	27,0	590
V-5D-EP-6-7	17,7	21,1	26,3	24,4	479	18,8	21,8	23,6	24,8	599
V-5D-EP-V-1	18,8	21,2	23,1	23,5	543	18,2	20,9	22,7	23,6	562
V-5D-EP-V-3	18,0	21,4	23,4	24,8	573	18,9	21,5	23,4	24,1	594
V-5D-EP-V-7	12,7	16,3	17,3	20,0	632	14,7	17,6	19,2	20,4	613
V-5D-EP-V-14	25,1	27,0	29,0	28,9	618	24,2	26,9	28,2	29,7	588

Tab. 11: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 5D, plastifikace ethylsalicylátem (30%), médium pufr o pH 6,0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	**Δc_p**	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	**Δc_p**
V-5D-ES-6-1	3,0	6,2	6,3	9,3	453	2,7	6,2	6,8	9,7	476
V-5D-ES-6-3	2,4	4,8	5,5	7,2	430	2,2	4,9	6,1	7,6	446
V-5D-ES-6-7	23,3	24,8	27,0	26,4	504	22,1	24,4	25,5	26,7	580
V-5D-ES-ep	-2,4	2,6	3,6	7,7	521	-3,1	2,3	1,2	7,6	537
V-5D-ES-V-3	8,1	11,2	12,5	14,3	501	7,7	10,8	12,3	14,0	499
V-5D-ES-V-7	20,5	22,8	24,3	25,2	618	20,4	22,8	25,0	25,2	586

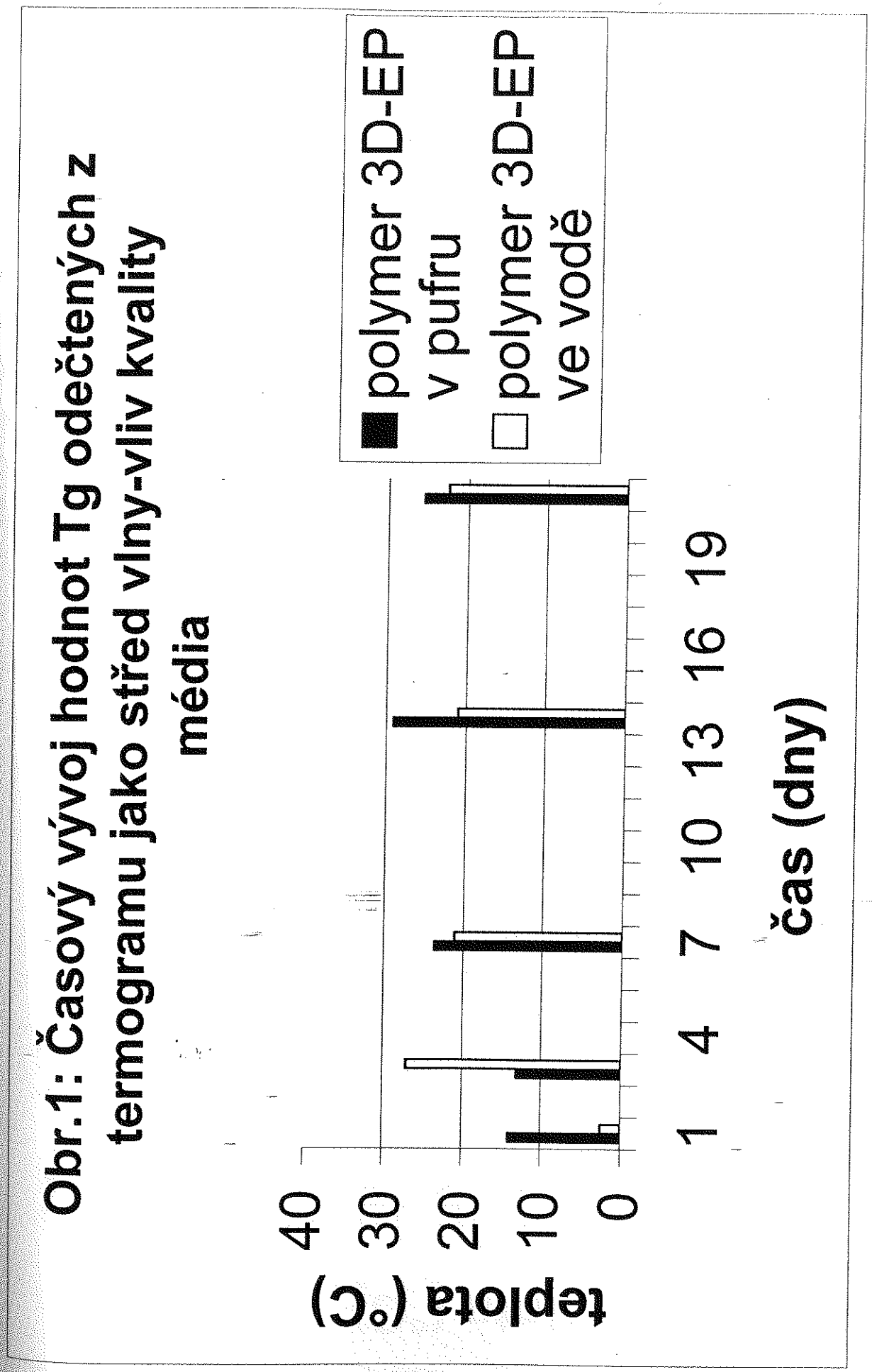
Tab. 12: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 5M, plastifikace ethylpyruvátem (30%), médium pufr o pH 6,0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	**Δc_p**	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	**Δc_p**
V-5M-EP--6-3	24,0	26,9	28,4	29,7	694	22,9	26,6	27,9	30,3	637
V-5M-EP-6--7	26,3	27,8	30,3	29,4	533	24,1	26,9	28,5	29,7	561
V-5M-EP-6--7	26,3	27,8	30,3	29,3	513	24,1	26,9	28,5	29,7	570
V-5M-EP--6-14	28,9	32,0	35,8	35,1	779	26,2	29,7	31,0	33,1	612
V-5M-EP--ep	-23,2	-20,2	-19,1	-17,2	420	-23,3	-19,9	-18,9	-16,5	410
V-5M-EP--V-1	10,6	17,3	16,6	23,9	676	10,2	17,0	16,4	23,7	670
V-5M-EP--V-3	21,3	25,3	28,3	29,3	644	20,4	24,9	25,4	29,4	607
V-5M-EP--V-7	18,6	21,5	23,7	24,4	567	18,7	21,8	22,9	24,9	603
V-5M-EP--V-14	27,3	29,0	31,6	30,7	646	25,1	28,1	29,7	31,0	644

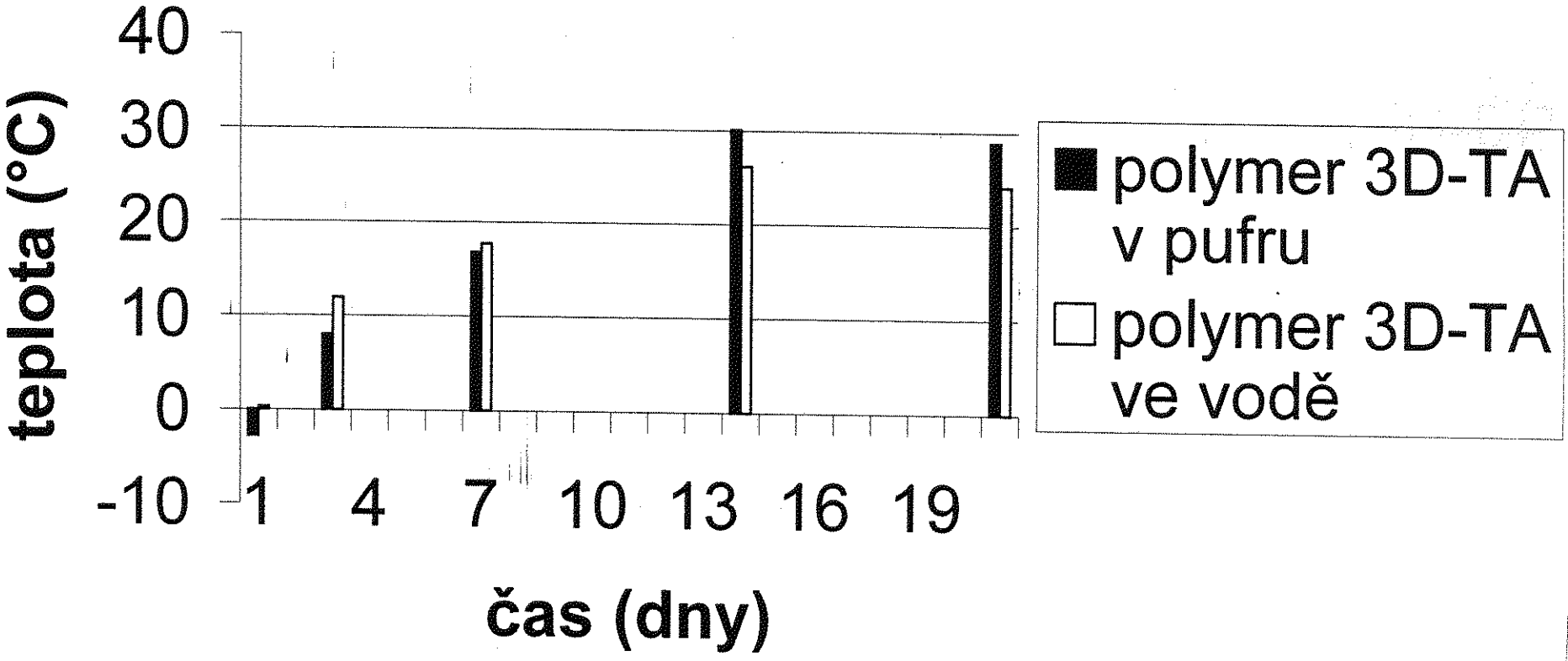
Tab. 13: Charakteristiky teploty skelného přechodu nosiče 5M, plastifikace ethylsalicylátem (30%), médium pufr o pH 6,0 nebo čištěná voda

	1. měření					2. měření				
VZOREK	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	**Δc_p**	**onset**	**mid**	**infl**	**end**	**Δc_p**
V-5M-ES-6-1	-4,2	17,9	35,4	40,0	1410	-17,8	-10,9	-15,5	-3,9	1759
V-5M-ES-6-3	-5,5	-7,3	-4,7	-9,0	379	-9,9	-5,6	-9,6	-1,3	726
V-5M-ES-6-6	-2,6	-1,7	-3,5	-0,9	320	-9,9	-5,6	-9,6	-1,3	726
V-5M-ES-6-7	15,6	20,9	21,5	26,2	684	14,8	19,2	20,6	23,6	556
V-5M-ES-6-14	20,9	23,9	25,5	27,0	804	22,6	25,0	26,4	27,5	611
V-5M-ES-ep	-10,5	-6,2	-5,1	-1,8	492	-10,9	-5,5	-3,5	-0,1	516
V-5M-ES-V-3	0,2	2,7	2,5	5,3	375	-1,3	3,3	3,7	7,9	474
V-5M-ES-V-7	23,3	26,1	28,1	28,9	690	22,7	26,3	26,9	29,9	675

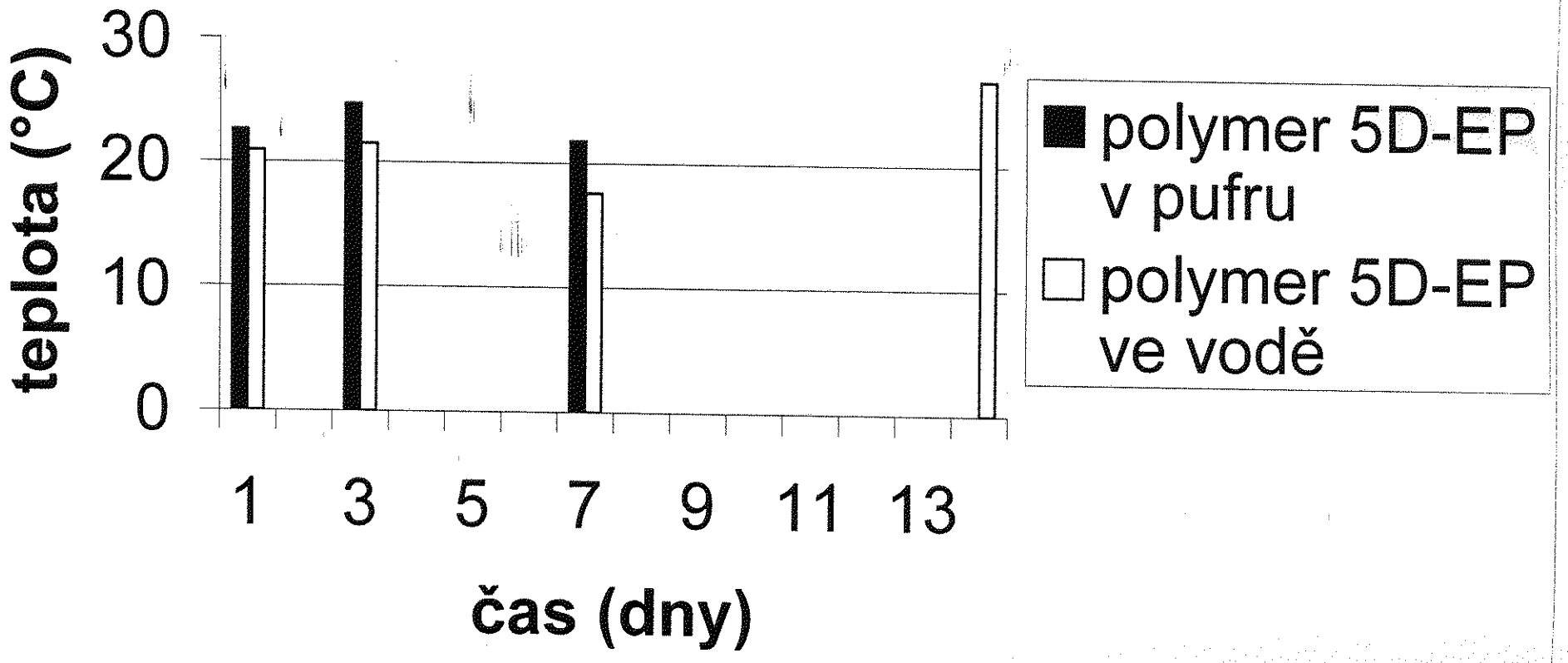
4. 10. Obrázky časového vývoje hodnot T_g odečtených z termogramu jako střed vlny - vliv kvality média



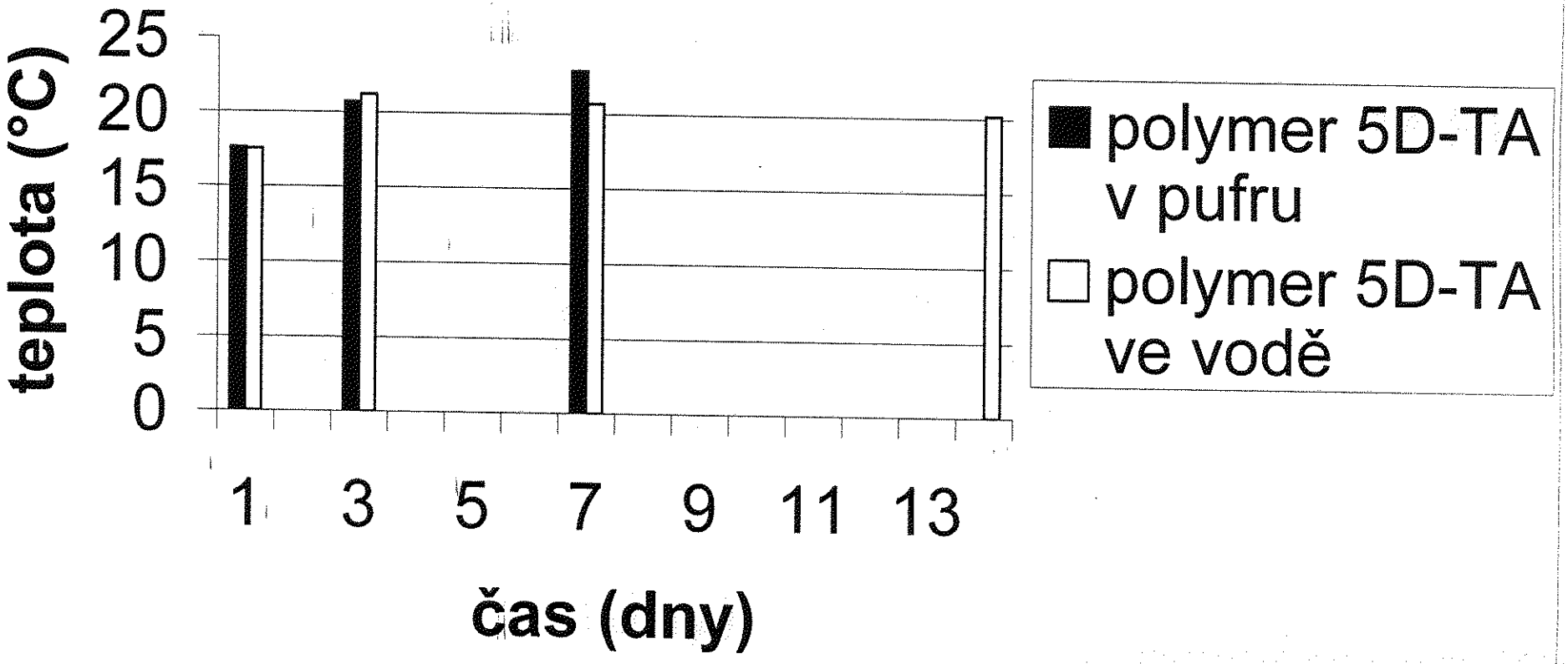
Obr. 2:Časový vývoj hodnot Tg odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média



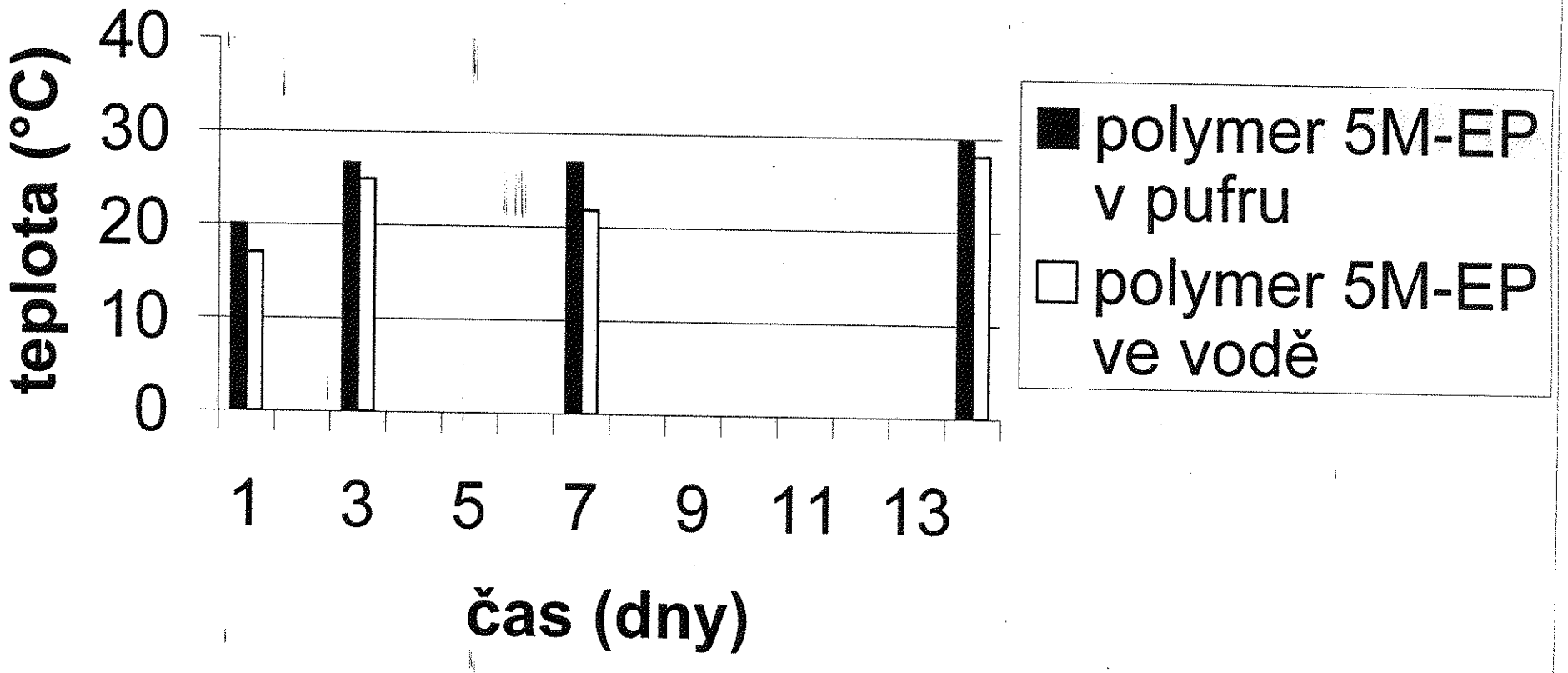
Obr. 3: Časový vývoj hodnot Tg odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média



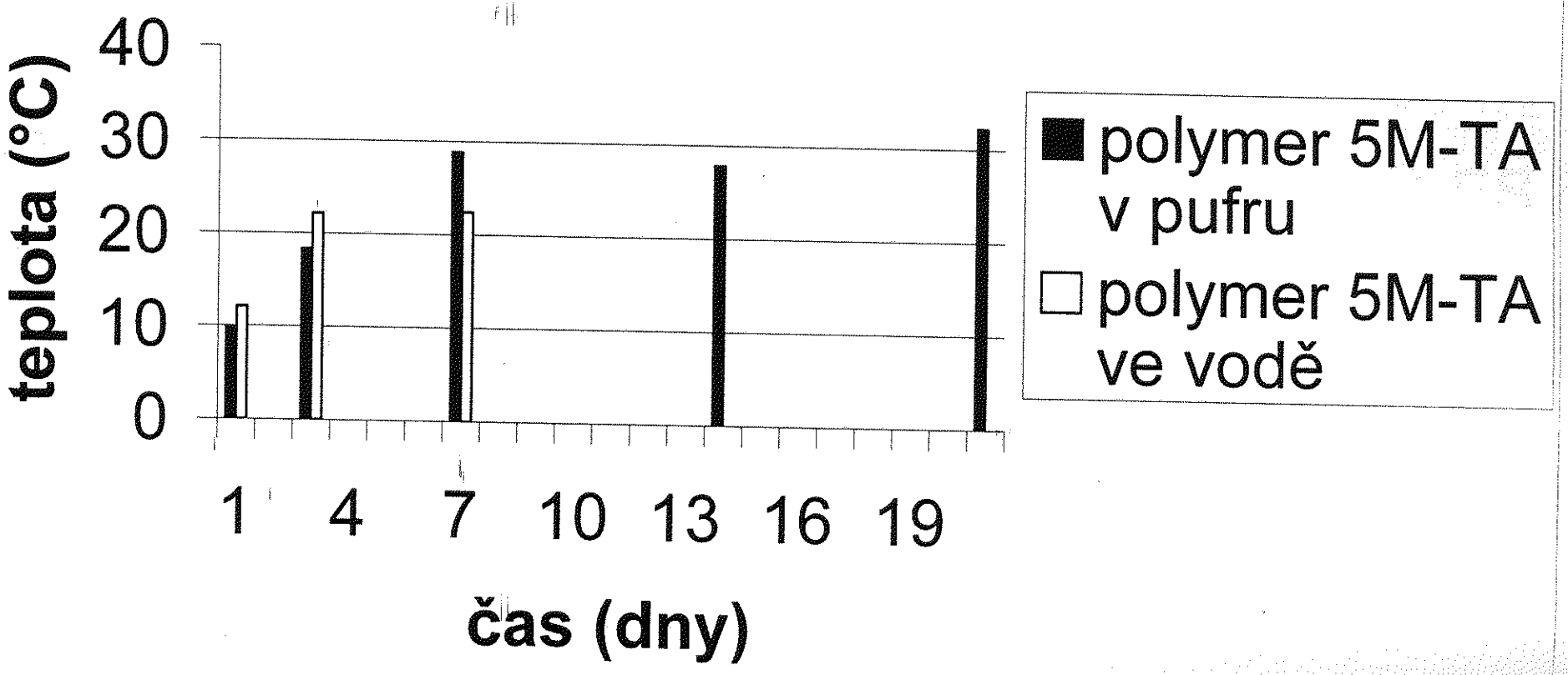
Obr. 4: Časový vývoj hodnot Tg odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média



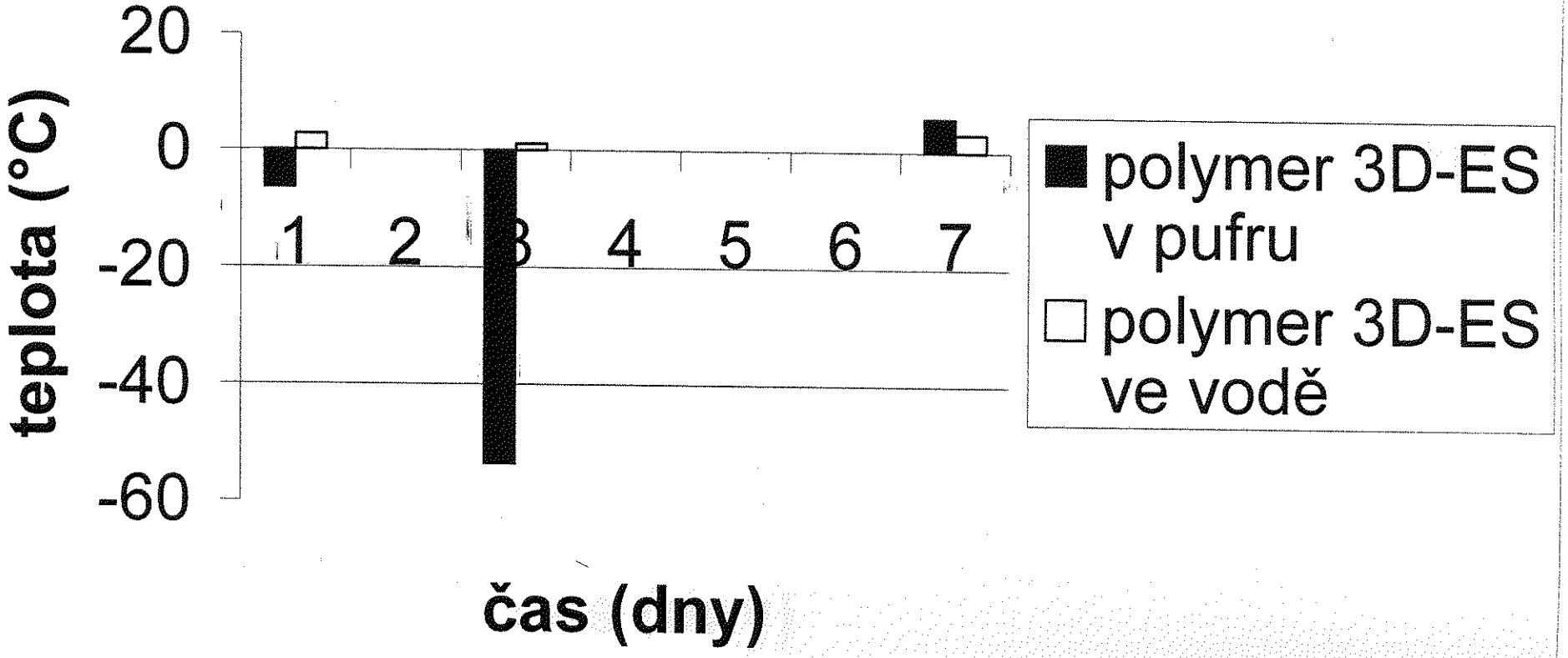
Obr. 5: Časový vývoj hodnot Tg odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média



Obr. 6: Časový vývoj hodnot Tg odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média

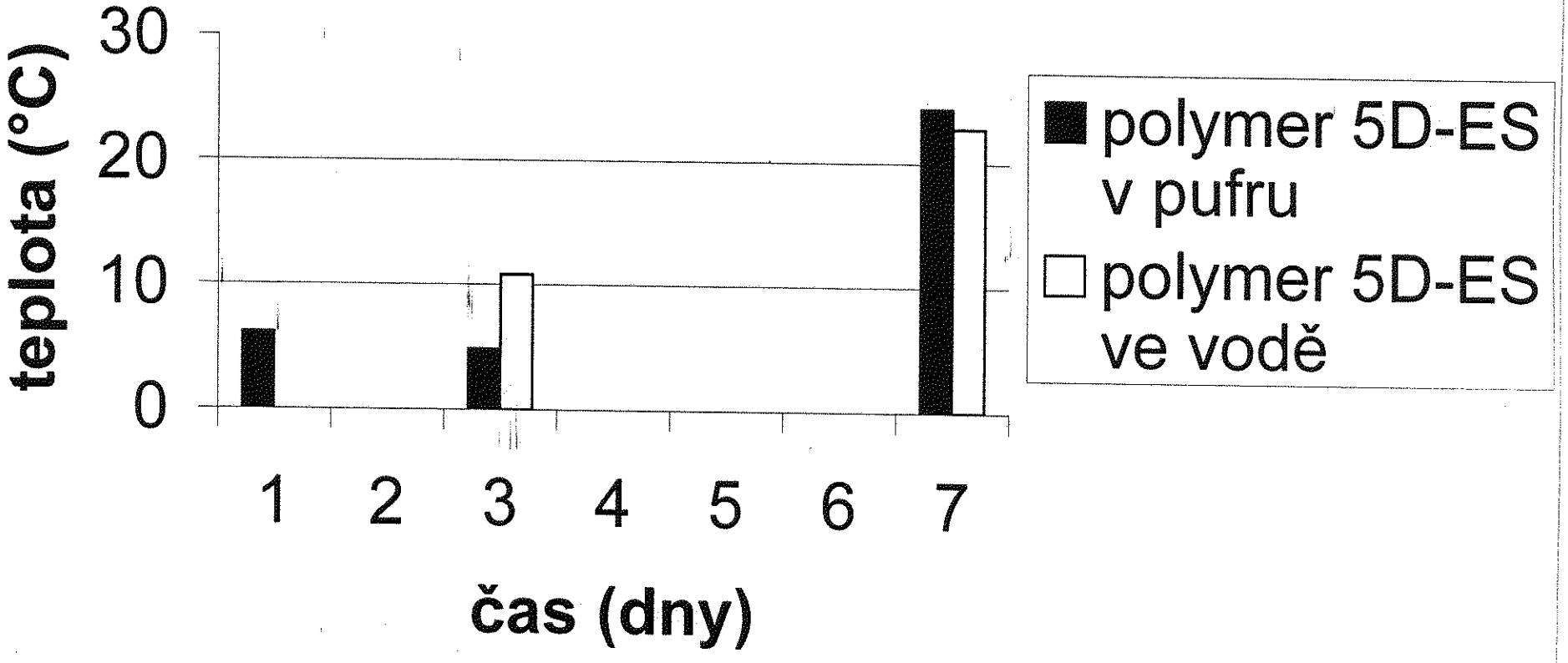


Obr. 7: Časový vývoj hodnot Tg odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média

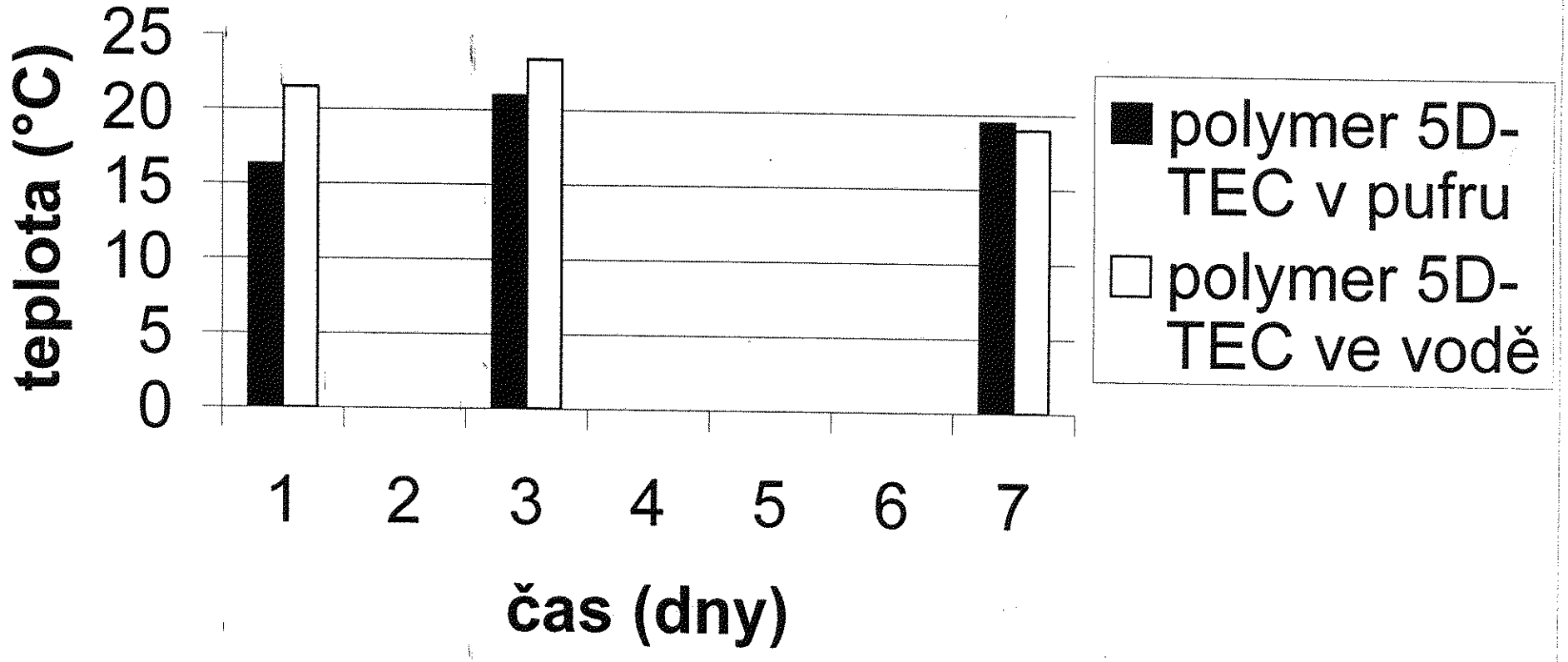


Obr. 8: Časový vývoj hodnot Tg odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média

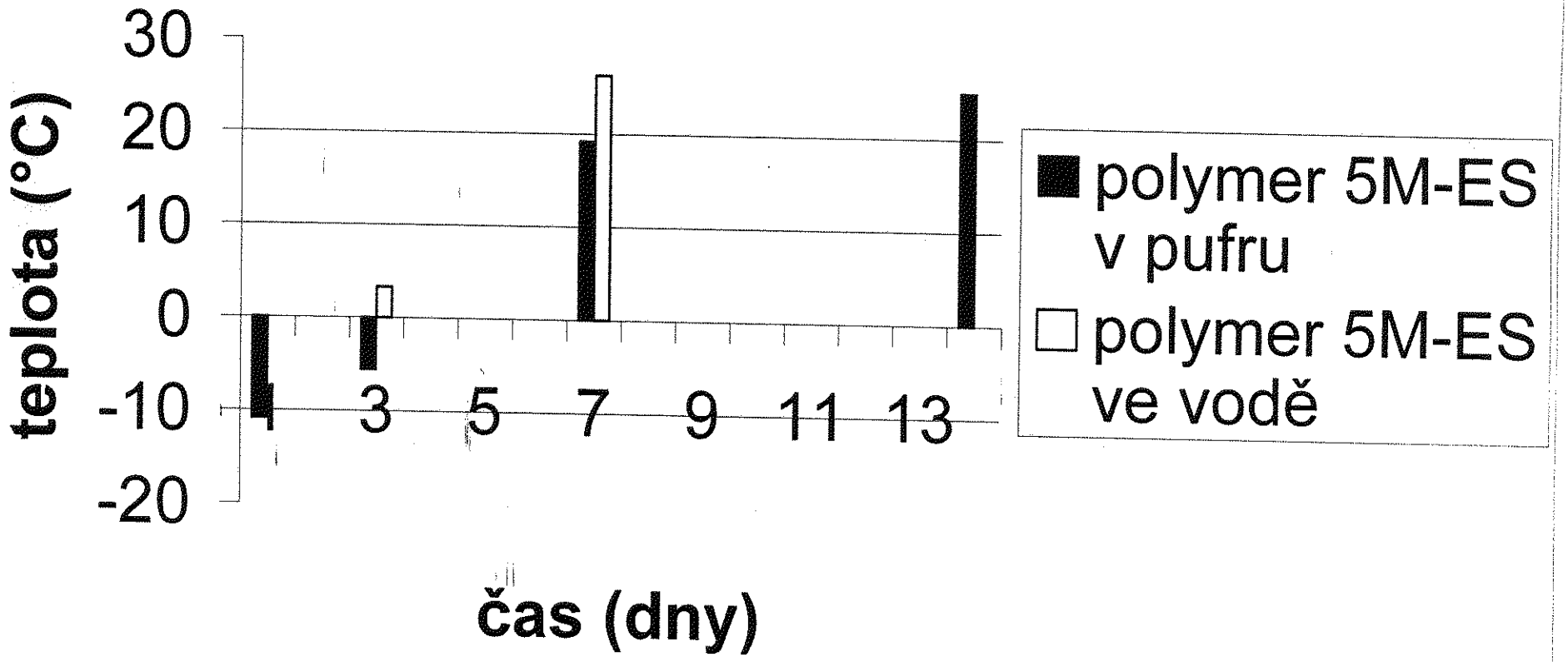
Obr. 9: Časový vývoj hodnot Tg odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média



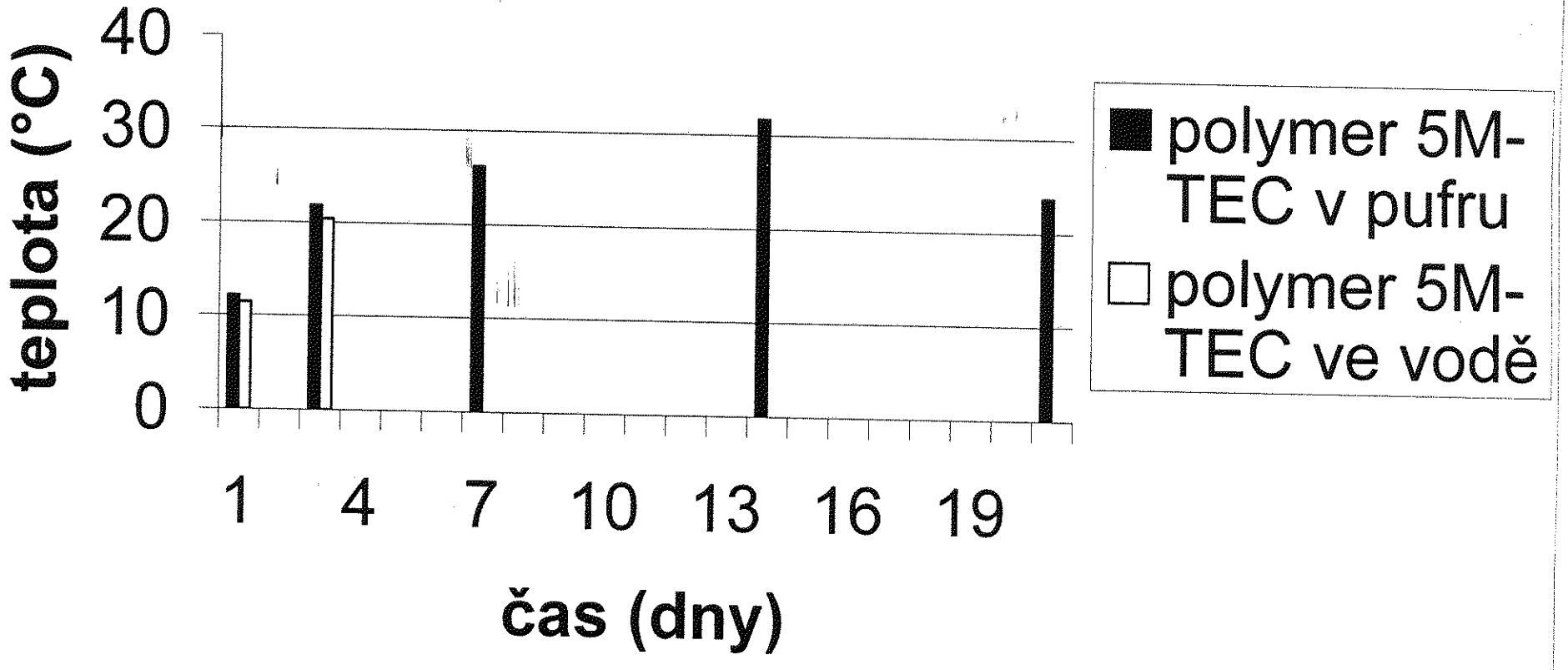
Obr. 10: Časový vývoj hodnot Tg odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média



Obr. 11: Časový vývoj hodnot Tg odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média



Obr. 12: Časový vývoj hodnot Tg odečtených z termogramu jako střed vlny-vliv kvality média



5. DISKUSE

Téma předložené rigorózní práce navazovalo na diplomovou práci nazvanou Termická analýza oligoesterů s větvenými řetězci obhájenou v roce 2006 na katedře farmaceutické technologie FaF UK v Hradci Králové. V diplomové práci bylo studováno termické chování biodegradabilních alifatických oligoesterů. Předmětem studia byly větvené oligoestery odvozené od mannitolu nebo od dipentaerytritolu jako centrální větvící složky a ekvimolární směsi kyselin DL-mléčné a glykolové jako složek tvořících oligoesterové řetězce. Tyto nosiče byly sledovány během jejich destrukce vodným médiem v podobě čištěné vody a vodného roztoku pufru. Vzhledem k tomu, že všechny studované nosiče byly amorfní, byla jedinou jejich hodnocenou charakteristikou teplota skelného přechodu Tg. Závěrem práce bylo, že během degradace nosičů dochází ke změnám hodnot teploty skelného přechodu. Tyto změny neměly monotónní průběh. Pro jejich racionální vysvětlení nebylo dostatečné množství dat. Proto nebylo možno s dostatečnou pravděpodobností prokázat, jestli se jedná o projev specifických změn materiálu, nebo jestli není dominantním faktorem nestandardnost procesu sušení zbotnalých vzorků.

Předložená rigorózní práce obsahuje výsledky testování interakcí plastifikovaných nosičů. Ve všech případech byla zvolena 30% koncentrace plastifikátoru. Tato koncentrace je reálná z hlediska možného použití plastifikovaných oligoesterů jako implantátů *in situ*. Všechny plastifikátory použité v experimentu se s nosiči velmi dobře mísily na molekulární úrovni. Práce měla pilotní charakter s cílem zmapovat změny teploty skelného přechodu nosičů během procesu jejich degradace. Proto bylo ve všech případech sledováno pouze jedno tělísko konstantní hmotnosti.

Vzorky byly měřeny standardním způsobem ve dvou cyklech s jednotnou rychlostí zahřívání a chlazení. Rychlost zahřívání a chlazení byla jednotně 10 °C/minutu. Tato rychlost je pokládána za standardní pro většinu měření. První cyklus sloužil pro standardisaci struktury a fyzikálního stavu amorfu. Teplota skelného přechodu byla tedy odečítána ve druhém cyklu, data z prvního cyklu jsou uvedena pro kontrolu případných změn po teplotním namáhání vzorků. Teplota skelného přechodu je děj, který probíhá v poměrně široké teplotním intervalu. V tabulkách jsou uvedeny všechny charakteristiky vlny termogramu – její začátek, střed, inflexní bod a konec, včetně tepelné kapacity děje. Jako nejdůležitější, a tedy reprezentativní parametr změn ve vzorcích byla zvolena

střední hodnota odpovídající bodu na ose úseček vytínajícímu polovinu výšky vlny v termogramu.

5.1. Termické chování nosiče 3D

Výsledky měření jsou uvedeny v tabulkách (2) a na obrázku 2, tab. (3) - obr. 8 , tab. (8) - obr.1 a tab. (9) - obr. 7. Tabulka (2) se týká teploty skelného přechodu nosiče 3D se 3% koncentrací dipentaerytritolu jako větvící složky plastifikovaného 30% triacetinem. Z dat týkajících se chování v přečištěné vodě je možno konstatovat, že do 14. dne charakteristika postupně roste z počáteční hodnoty 0,3 °C na hodnotu 26,2 °C. Potom se tato hodnota prakticky stabilizuje. V pufru pH 6 bylo chování velmi podobné, došlo ke vzrůstu z -2,8 °C na 26,2 °C do 14. dne a potom ke stabilizaci. Jako vysvětlení systematických změn charakteristiky uvádíme pomalé kontinuální rozdělování triacetinu použitého jako plastifikátoru do vodného média. V tomto případě trvá tento proces 7 až 14 dní.

Průběh změn hodnot Tg nosiče 3D plastifikovaného triethylesterem kyseliny citronové je v tabulce (3). Situace je analogická systémům s triacetinem. Hodnoty charakteristiky postupně rostou. V intervalu mezi 1. a 14. dnem působení vody hodnota Tg zbotnalé matrice stoupla o více než 20 °C. Tepelná kapacita systému se měnila v procesu degradace systému spíše náhodnými vlivy, nebyly patrné známky irreverzibilních změn po opakovaném ohřevu vzorků.

V tabulce (8) jsou výsledky měření metodou DSC týkající se stejného nosiče. Odlišný je plastifikátor, kterým byl ethylester kyseliny pyrohroznové. Tato, v této problematice nekonvenční, sloučenina měla také silný vliv na teplotu skelného přechodu. Plastifikovaný systém měl hodnotu této charakteristiky –26,1 °C. Po jednodenním působení vody hodnota Tg výrazně stoupla na 2,5 °C, v pufru byla změna ještě výraznější, byla naměřena hodnota Tg 14,3 °C, tedy o 40 °C vyšší. V případě tohoto plastifikátoru bylo zaznamenáno jeho značně rychlejší rozdělení do vnější fáze. Hodnoty charakteristiky se v prostředí roztoku pufru v třídenním intervalu ustálily na 22 °C a do konce pokusu, tedy do 21. dne degradačního působení se prakticky neměnily. Kromě poznatku o velmi rychlé eluci ethylpyruvátu je možno také konstatovat, že degradační produkty nosiče 3D mají i v pokročilém stádiu hydrolýzy v pufru pH 6 stejnou hodnotu charakteristik skelného přechodu. Dalším aspektem prakticky konstantního průběhu skelného přechodu jako děje je stálost hodnot změny tepelné kapacity ΔCp. Tyto hodnoty se pohybovaly kolem 0,6 J/g.K.

V tabulce (9) je zaznamenán průběh chování nosiče 3D plastifikovaného ethylsalicylátem. Účinek této kapaliny na depresi Tg je méně silný než u ethylpyruvátu – 30% ethylpyruvát snížil Tg na –26 °C, ethylsalicylát na –1 °C. K zajímavému efektu došlo po působení vodných médií. Výrazný vzrůst hodnot jako u triacetinu nebo ethylpyruvátu se neprojevil. V prostředí pufru došlo paradoxně ke spíše opačnému jevu, tedy k poklesu po jeho jednodenním posobení. V prostředí vody byl vzrůst hodnot velmi malý, po sedmi dnech byla Tg 3 °C. To tedy znamená, že ethylsalicylát jako plastifikátor v nosiči dlouhodobě perzistoval. K němu se přidala voda jako další molekulárně mísitelná složka s pomalým degradačním působením.

5.2. Termické chování nosiče 5D

Výsledky měření jsou uvedeny v tabulkách (4) - obr. 4, tab. (5) - obr.10, tab. (10)-obr. 3 a tab. (11) - obr. 9.

Nosič 5D se lišil od výše popsaného nosiče 3D vyšší koncentrací větvící složky. Tato skutečnost je předpokladem vyšší koncentrace molekul s konstitucí větveného řetězce a z tohoto faktu plynoucí vyšší hydrofilie materiálu.

Po smísení nosiče 5D s triacetinem byla naměřena hodnota Tg –6,6 °C (tabulka 4). Po jednodenním působení vodného média stoupla hodnota této charakteristiky o 24 °C v prostředí vody i pufru. Po třetím dnu v obou médiích byla hodnota Tg prakticky neměnná.

Velmi obdobně se projevil nosič 5D plastifikovaný 30% triethylcitrátem (tabulka 5). Rozdílná byla pouze mírně vyšší rychlost rozdělování plastifikátoru do hydrofilního média v prostředí vody i pufru. Po plastifikaci nosiče 5D ethylpyruvátem (tabulka 10), došlo také k rychlému ustavení termicky rovnovážného systému, rychlejšímu než u nosiče 3D se stejným plastifikátorem (tabulka 8). Ethylsalicylát vzhledem ke své nižší rozpustnosti ve vodě se rozděloval pomalu (tabulka 11). Proces však byl značně rychlejší než v systémech s nosičem 3D (tabulka 9). K výraznému vzrůstu hodnot Tg došlo v intervalu mezi 3. a 7. dnem. Ve vodném médiu byl vzrůst Tg o 12 °C, v roztoku pufru dokonce o 20 °C. U pufru je možno předpokládat vliv ionizace koncových karboxylů na zvýšení hodnot Tg.

5.3. Termické chování nosiče 5M

Výsledky měření jsou uvedeny v tabulkách (6) - obr. 6, tab. (7) - obr. 12, tab. (12) - obr. 5 a tab. (13) - obr. 11.

Nosič označený symbolem 5M se lišil od dvou výše popsaných především větvící složkou, kterou byl mannitol přidaný do reakční směsi v koncentraci 5 % (hmotn.). Vzhledem ke snížené reaktivitě sekundárních hydroxylových skupin je možno předpokládat nižší stupeň větvení tohoto nosiče. Nezreagované hydroxyly však nosiči 5M zaručují vysokou hydrofilii.

V tabulce (6) jsou výsledky analýz DSC nosiče 5M plastifikovaného 30% triacetinem. Patrný je prudký vzestup hodnoty Tg po jednodenním působení vody nebo pufru. Rozdíl činí kolem 20 °C. Potom pokračuje růst hodnot do třetího až sedmého dne. Maximální hodnota Tg 32,3 °C byla naměřena po 21 dnech působení pufru pH 6. Vysvětlením tak vysoké hodnoty Tg je nejen ionizace koncových karboxylů, ale i snížení podílu nízkomolekulární frakce s vysokou koncentrací mannitolu, která mohla působit plastifikačně.

Termické chování 30% triethylcitrátem plastifikovaného nosiče 5M a jeho degradačních produktů je podchyceno v tabulce (7). Vysokou hodnotu Tg (19,2 °C) je v této fázi nutno pokládat za chybnou hodnotu způsobenou buď záměnou vzorku nebo nepodchyceným silným náhodným vlivem. V prostředí pufru se hodnoty Tg postupně zvyšovaly do 14. dne až na hodnotu 31,7 °C, potom do 21. dne Tg poklesla na 23,7 °C. Vysvětlením může být nižší molekulová hmotnost zbytků nosiče po jeho třítýdenní degradaci. Rychlost rozdělování triethylcitrátu z nosiče do kapalného média byla velmi pomalá a patrně trvala až dva týdny s postupně klesající rychlostí.

Silný plastifikační účinek ethylpyruvátu na nosič 5M je doložen v nízké hodnotě Tg. V tabulce (12) je uvedena hodnota -19,9 °C. Po jednodenním působení vody došlo k výraznému zvýšení hodnoty Tg o 37 °C, potom se zbylý ethylpyruvát eluoval z nosiče mezi 1. a 3. dnem. Za 3 dny byly v obou médiích naměřeny vysoké hodnoty Tg. Po 2 týdnech působení obou médií, tj. vody a ethylpyruvátu, se hodnoty Tg dostanou až těsně pod 30 °C.

Termické chování při degradaci nosiče 5M plastifikovaného 30 % ethylsalicylátem je popsáno v tabulce (13). Stejně jako u matric z nosiče 3D (tab. 9) došlo ke zdánlivě paradoxnímu snížení hodnot Tg při několikadenním působení pufru. Jak je z tab. (13) patrné, u nosiče 5M bylo toto snížení po 1 denním působení pufru až na hodnotu -10,9 °C a po 3 dnech -5,6 °C.

V dalším sedmidenním intervalu se hodnoty Tg drasticky zvýšily o 30 °C, aby do 14. dne zůstaly přibližně konstantní na hodnotě 25 °C. Zajímavé je, že v prostředí vody k těmto náhlým změnám nedochází a hodnoty Tg kontinuálně rostou. Netypické chování

matric v pufru je možno vysvětlit degradací nosiče s plastifikátorem v 1. fázi následovaným elací plastifikátoru a převodem koncových karboxylů na ionizovanou formu.

6.ZÁVĚR

Metodou DSC bylo prokázano, že při degradaci plastifikovaných větvených oligoesterových nosičů dochází zpravidla k postupnému zvyšování hodnot jednotlivých parametrů křivky charakterizující teplotu skelného přechodu. Rychlost těchto změn hodnot v časové řadě působení vody nebo roztoku pufru pH 6,0 se u jednotlivých nosičů a plastifikátorů lišila. Byla dána především stupněm botnání nosiče a rozpustností plastifikátoru ve vodném médiu. Mezi termickým chováním vzorků degradujících ve vodě a v pufru byl rozdíl vycházející z ionizace koncových karboxylových skupin kationtem pufru. Zcela odlišný průběh hodnot teploty skelného přechodu byl prokázán po plastifikaci nosičů 30% ethylesterem kyseliny salicylové. Hydrofobní charakter plastifikátoru a jeho velmi malá rozpustnost ve roztoku pufru měly vliv na snížení hodnot teploty skelného přechodu v první fázi působení média a na následné zvýšení hodnot elucí plastifikátoru po dosažení vyššího stupně botnání a po ionizaci karboxylových skupin.

SOUHRN

Práce je zaměřena na studium teploty skelného přechodu plastifikovaných oligoesterů s větvenými řetězci při jejich degradaci v hydrofilním prostředí. V teoretické části práce jsou uvedeny základní poznatky o termální analýze polymerů, především o teplotě skelného přechodu a základní farmaceuticky významné znalosti o alifatických polyesterech, jejich biologické odbouratelnosti a jejich použití v medicíně jako chirurgického šicího materiálu a jako nosiče léčiv. Experimentální část práce řeší vliv hydrofilního vodného média, typu oligomerního nosiče a druhu plastifikátoru na hodnoty teploty skelného přechodu při degradaci. Byly nalezeny nové vztahy mezi sledovanými parametry a teplotou skelného přechodu plastifikovaných oligoesterových matric.

SUMMARY

The aim of the thesis deals the study of glass transition temperature values of plasticized branched oligoesters during their degradation in hydrophilic media. In the theoretical part is in the overview presented basic knowledge concerning thermal analysis of polymers, mainly glass transition temperature measurements and basic pharmaceutically relevant

findings about aliphatic polyesters, their biodegradability and medical use as surgical suture material and drug carriers. Experimental section of the thesis is focused on the influence of hydrophilic aqueous medium, type of oligomeric carrier, and plasticizer kind on the glass transition temperature values during degradation. New relations among studied parameters in the consequence with glass transition temperature changes of the plasticized oligoester matrices were revealed.

7. LITERATURA

1. Fajnor V.: Termická analýza, 2 .vyd. Bratislava, 1995, s. 88
2. Lázníčková, A., Ďoubal, S., Gasparič, J., Dittrich, M.: Fyzikální chemie pro posluchače farmacie II.díl, Praha, vydavatelství Karolinum, 2000, s.101-121
3. Blažek, A.: Termická analýza, STN Praha, 1974, s. 294
4. Giron, D.: Aplication of thermal analysis in the pharmaceutical industry, J. Pharm. Biomed. Anal., 1986, s.755
5. Hohne, G., Hemminger, W., Flammersheim, H. J.: Differential scanning calorimetry, Heidelberg, Springer - Verlag, 1996, s. 222
6. Marsh, N. K., O 'Hare, P. A. G.: Solution calorimetry, 1. (Ed.) Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1994, s. 331
7. Schwarbrick, J., Boylan, J. C.: Encyclopedia of pharmaceutical technology, Vol.15. New York, Marcel Decker, Inc., 1997, s. 413
8. http.//www.vscht.cz/met/stranky/vyuka/labcv/labor/fyzmed03/teorie.htm
9. Hatakeyma T., Quinn F. X: Thermal analysis, Fundamentals and applications to polymer science, Second edition, 1999
10. Brown, M. E .: Handbook of thermal analysis and calorimetry, Vol.1., Amsterdam, Elsevier, 1998, s. 691
11. Šimon, P., Svestík, Š.,Smrčková, E., Palou, M.: Študijné materiály v 1. letná škola termickej analýzy a kalorimetrie, Bratislava 20. - 22. 9. 2001
12. Šimon, P., Veverka, M., Okuliar, J.: New screening Metod for determination of stability of pharmaceuticals, International Journal of Pharmaceutics, 270, 2004, s. 21 - 26
13. Prudká, M. : Oligoesterové implantáty s kyselinou listovou, Rigorózní práce, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2002, s.11
14. X. S. Wu: Synthesis and properties of biodegradable lactic / glycolic acid polymers, in: Wise, D. L. et al.: Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering, Marcel Decker, New York, 1995, s. 1015 - 1054
15. Shalaby, S. W .(Ed): Biomedical Polymers, Designed to degrade systems, Carl Hauser Verlag, 1994
16. Griffin, G. J. L. (Ed): Chemistry and technology of biodegradable polymers, Blackie, Glasgow, 1994

17. Ferguson, G. M .: Biodegradation of synthetic polymers, Chemistry Australia, 1991, Feb. / Jan., s .10 - 12
18. Holland, S. J. ,Jolly, A. M., Yasin, M., Tighe, B. J. : Polymers for biodegradable medical device VII.: Hydroxybutyrate - hydroxyvalerate copolymers: Degradation of copolymers and their blends with polysaccharides under physiological conditions, Biomaterials, 11, 1990, s. 206 - 215
19. Tice, T. R., Cowsar, D. R.: Pharmacological Technology Journal, 8, 1984, s. 26
20. Pitt, C. G.: Biomaterials, 2, 1981, s. 215
21. Coombes, A. G., Heckman, J. D.: Biomaterials, 13, 1992, s. 297
22. Tice, T. R., Tabibi, S. E., In: Kydonieus ,A. (Ed): Treatise on Controlled Drug Delivery, Marcel Decker, New York, 1992, s. 315
23. Gilding, D. K : Biocompatibility of Clinical Implant Materials, CRC Press, Boca Raton, 1981, s. 209 - 232
24. Benicewicz, B. C., Hopper, P. K .: J. Bioactive Compatible Polymers, 5, 1990, s. 453
25. Wise, D. L.. , Fellmann, T. D. , Anderson, J .E. , Wentworth, R. L.: Lactic glycolic acid polymers, In: Gregoriadis G., (Ed): Drug carriers in Biology and Medicine, New York, Academic Press, 1979, s. 237 - 270
26. Benicewicz, B. C., Hopper, P. K.: J.Bioactive Compatible Polymers, 6, 1996, s. 64
27. Hermann, J. B. Kelly, R. J., Higgins, G. A.: Archiv of Surgery, 486, 1970, s.100
28. Holland, S.J., Tighe, B. J., Gould, P. L.: J. Contr. Rel., 4, 1986, s. 155
29. Leenslang, J. W., Pennings, A. J., Bos, R. R. M., Razema, F. R., Boering, G.: Biomaterials, 8, 1987, s. 70
30. Peppas, A., Langer, R.: Science ,263, 1994, s. 1715
31. Esselbrugge, H., Peters, A. M. P., Schakenraad, J. M., Feijen, J.: Proceedings of International Symposium of Controlled Release of Bioactive Materiále, 18, 1991, s. 232 - 324
32. Singh, U. V., Pandey, S., Umadevi, P., Udupa, N.: Drug Delivery, 4, 1997, s. 101 - 106
33. Dunn, R. L., Yewey ,G. L., Fujita, S. M. ,Joseph, K. R., Whitman, S. l., Southard, G. L.,Dernell, W. S., Straw, R. C., Withrow, S. J., Powers, B. E.: Journal of Bioactive Compatible Polymers, 11, 1996, s. 286 - 300
34. Böstman, O.: Journal of Bone Joint Surgery, 1991, s. 148 - 153

35. http://www.chirmax.cz/chirmax cz/index.php?stranka id=20
36. Medical tribune, II, 26,21.srpna 2006, s.1-3 v příloze Nemocniční speciál
37. http://www.osel.cz/index.php?clanek=1715,

Prameny:

Burnham Institute in La Jolla,California,US,

Bath University,UK,

Informace poskytnuté Markem Mondrinos z Florida State University,Tallahassee