

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

ADHEZIVNÍ VLASTNOSTI TENKÝCH FILMŮ
NA BÁZI PLASTIFIKOVANÝCH POLYESTERŮ

Diplomová práce

Hradec Králové 2019

Jana Soukupová

Čestně prohlašuji, že tato diplomová práce je mým autorským dílem a vypracovala jsem ji samostatně pod odborným vedením PharmDr. Evy Šnejdrové, Ph.D. Veškerá literatura a další zdroje, ze kterých jsem při práci čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a řádně citovány. Také prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Jana Soukupová

Touto cestou bych ráda poděkovala své školitelce PharmDr. Evě Šnejdrové, Ph.D. za odborné vedení, poskytnutí cenných rad a věcných připomínek při vypracování diplomové práce a za čas věnovaný konzultacím. Děkuji také paní laborantce Romaně Nobilisové za praktické rady při experimentální části práce.

OBSAH

1	ABSTRAKT	6
2	ABSTRACT.....	7
3	ZADÁNÍ PRÁCE	8
4	ÚVOD.....	9
5	TEORETICKÁ ČÁST	10
5.1	Adheze.....	10
5.1.1	Mechanismus bioadheze	10
5.1.2	Teorie adheze	11
5.2	Adhezivní testy.....	14
5.2.1	Reologické metody testování adhezivity	17
5.3	Tahové testy	20
5.3.1	Měření smykové síly.....	20
5.3.2	Měření odtrhávací síly	20
5.3.3	Měření tahové síly.....	21
5.4	„Smývací“ testy.....	22
5.5	Modelové substráty pro testování mukoadheze <i>in vitro</i>	23
5.6	Liberace léčiv z tuhých disperzí.....	24
5.7	Složení tenkých filmů v této diplomové práci	26
5.7.1	Větvený kopolymer kyseliny D,L- mléčné a glykolové PLGA.....	26
5.7.2	Methyl-salicylát	27
5.7.3	Kyselina salicylová	28
6	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	30
6.1	Použité suroviny.....	30
6.2	Přístroje	30
6.3	Příprava vzorků pro měření na rotačním reometru	30
6.3.1	Plastifikace polyesterů	30
6.3.2	Příprava mucinu hydratovaného fosfátovým pufrem	31
6.3.3	Příprava směsi hydratovaného mucinu a plastifikovaného polyesteru	31
6.4	Příprava tenkých filmů pro disoluční testy	31
6.5	Měření na rotačním reometru.....	32

6.5.1	Příprava reometru.....	32
6.5.2	Měření tokového chování	32
6.5.3	Vyhodnocení viskozitních křivek	33
6.5.4	Výpočet adhezivní z hodnot viskozity jednotlivých složek.....	33
6.5.5	Test adhezivní neplastifikovaných polyesterů a mucinu	34
6.6	Test disoluce salicylátu z tenkých filmů	34
7	VÝSLEDKY	36
7.1	Viskozita tavenin polyesterů	36
7.2	Reologické chování plastifikovaného polyesteru.....	38
7.3	Reologické chování mucinu	41
7.4	Reologické chování směsí polyesteru s mucinem.....	44
7.6	Reologický synergismus	50
7.7	Adhezivní test na reometru	51
7.8	Disoluce salicylátů	53
8	DISKUZE	56
8.1	Viskozita polyesterů.....	56
8.2	Viskozita mucinu a jeho směsí s plastifikovaným 8D	57
8.3	Reologický synergismus	58
8.4	Adhezivní test polyesterů a hydratovaného mucinu.....	58
8.5	Liberace salicylátu z tenkého filmu	59
9	ZÁVĚR.....	61
10	SEZNAM LITERATURY	62

1 ABSTRAKT

UNIVERZITA KARLOVA

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické technologie

Jméno a příjmení: Jana Soukupová

Název diplomové práce: *Adhezivní vlastnosti tenkých filmů na bázi plastifikovaných polyesterů*

Školitel: PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.

Tato diplomová práce se zabývá reologickými, adhezivními a disolučními vlastnostmi tenkých filmů na bázi větvených polyesterů kyseliny D,L- mléčné a glykolové, plastifikovaných methyl-salicylát, s inkorporovanou kyselinou salicylovou. Teoretická část popisuje bioadhezi, její mechanismus a teorie vzniku, *in vitro* adhezivní testy zaměřené především na metodu reologického synergismu, tahové a „smývací“ zkoušky. V experimentální části práce byly studovány tokové vlastnosti plastifikovaného polyesteru, hydratovaného mucinu z prasečích žaludků a jejich směsí na absolutním rotačním reometru. Analýza tokových křivek ukázala newtonské chování plastifikovaných polyesterů a pseudoplastické chování mucinu a jeho směsí s polyesterem. Z viskozity polymeru, mucinu a jejich směsí při rychlostním spádu 10 s^{-1} byly na základě reologického synergismu stanoveny adhezivní vlastnosti tenkých filmů. Na absolutním reometru byly rovněž provedeny tahové testy a vyhodnoceny pomocí maximální síly, plochy pod křivkou a doby k odlehčení. Adhezivita polymerních filmů je ovlivněna viskozitou polyesteru a viskozitou mucinu. Vysoké hodnoty viskozity mohou být limitující pro adhezivitu, protože polymer nepřilne k substrátu. Disoluční test salicylátů z tenkých filmů byl realizován při $37 \text{ }^\circ\text{C}$ při pH 7,4. Množství uvolněného salicylátu bylo stanoveno spektrofotometricky při vlnové délce 298 nm. Rychlost liberace je ovlivněna viskozitou polymerního systému a silou adheze k mucinovému podkladu.

Klíčová slova: PLGA, větvené polyestery, methyl-salicylát, tenké filmy, reologický synergismus, mukoadheze, kyselina salicylová

2 ABSTRACT

CHARLES UNIVERSITY

Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove

Department of Pharmaceutical Technology

Name: Jana Soukupova

Title of diploma thesis: *Adhesive properties of thin layers based on plasticized polyesters*

Supervisor: PharmDr. Eva Snejdrova, Ph.D.

This diploma thesis deals with rheological, adhesive and dissolution properties of thin layers based on the branched polyester of D,L- lactic acid and glycolic acid, plasticized with methyl-salicylate, and loaded with salicylic acid. The theoretical section describes bioadhesion, its mechanism and theories, *in vitro* adhesive tests focused mainly on the method of rheological synergism, tensile and „wash off“ tests. In the experimental section, the flow properties of plasticized polyesters, hydrated mucin from porcine stomach, and their mixtures were studied using absolute rotational rheometer. The analysis of the viscosity curves revealed that plasticized polyesters are Newtonian systems, mucin and its mixtures with polymer have pseudoplastic behaviour. Adhesive properties of the thin layers were established by equation of rheological synergism based on viscosity of polymer, mucin and their mixtures measured at shear rate of 10 s^{-1} . The adhesive properties of thin layers were also determined using tensile test on rheometer, and evaluated as the maximal force, the area under the force/time curve, and the failure time. The adhesion of polymeric thin layers is affected by the viscosity of polymer and the viscosity of mucin. Dissolution test of salicylate from thin layers was performed at $37 \text{ }^\circ\text{C}$ at pH 7.4. Amount of the salicylate released was determined spectrophotometrically at 298 nm. The course of the drug release was influenced by the viscosity of the thin layer and by the adhesive strength to the mucin substrate.

Key words: PLGA, branched polyesters, methyl-salicylate, thin layers, rheological synergism, mucoadhesion, salicylic acid.

3 ZADÁNÍ PRÁCE

Zadáním této diplomové práce byla formulace tenkých filmů na bázi větvených polyesterů kyseliny D, L – mléčné a glykolové, plastifikovaných methyl-salicylátem, s inkorporovanou kyselinou salicylovou a studium adhezivních vlastností a průběhu liberace léčiva.

Zadání práce lze konkretizovat do následujících dílčích kroků:

- 1) Na absolutním reometru změřit tokové vlastnosti PLGA polyesterů větvených na dipentaerythritolu (8D) a tripentaerythritolu (3T). Zvolit polyester vhodný pro formulaci tenkých filmů s kyselinou salicylovou.
- 2) Vybraný polyester plastifikovat methyl-salicylátem v koncentraci 10 %, 20 % nebo 30 %.
- 3) Mucin z prasečích žaludků hydratovat fosfátovým pufrům pH 7,4 v poměru 1:1, 1:2 a 1:5.
- 4) Vytvořit směs hydratovaného mucinu a plastifikovaného polymeru v poměru 1:1, 1:2 a 2:1.
- 5) Na absolutním reometru změřit tokové vlastnosti plastifikovaného polyesteru, hydratovaného mucinu a jejich směsí. Zvolit vhodnou charakteristiku pro dosažení do rovnice reologického synergismu a zhodnotit adhezivní vlastnosti tenkých filmů.
- 6) Na absolutním reometru změřit adhezivní sílu polymerů 3T, 8D a hydratovaného mucinu. Výsledky porovnat s reologickým synergismem.
- 7) Do plastifikovaného polymeru inkorporovat metodou tavení kyselinu salicylovou a testovat disoluci při 37 °C do fosfátového pufru pH 7,4.

4 ÚVOD

Od 60. let 20. století, kdy byly alifatické polymery využívány pouze jako vstřebatelný šicí materiál v chirurgii, se zájem o biodegradabilní polymery výrazně zvýšil, a to z velké části ve farmaceutické technologii. Pozornost byla soustředěna zvláště na kopolymery kyseliny D,L mléčné a glykolové označované jako poly(laktidy-co-glykolidy) či PLGA. Tyto kopolymery PLGA doplněné o větvicí monomery disponují totiž na rozdíl od lineárních vysokomolekulárních polyesterů kontinuální degradací zajištěnou hydrolýzou nestabilních esterových vazeb a nižším stupněm bobtnání, a tak se s oblibou využívají jako nosiče léčiv, protože právě tyto vlastnosti zajistí výhodnější uvolňování léčiva z polymerního nosiče, snížení frekvence dávkování léčiva, menší výskyt nežádoucích účinků apod. Díky tomu pomáhají zajistit lepší compliance pacienta k léčbě a efektivnější farmakoterapii.

Kopolymery kyselin D,L- mléčné a glykolové dokonale splňují požadavky na systémy pro řízené uvolňování – biodegradabilita, biokompatibilita a nízká toxicita, avšak jejich strukturální vlastnosti (křehkost, pevnost) jsou pro zpracování do těchto systémů limitující. Uspokojivé změny vlastností lze dosáhnout přidáním plastifikátoru, čímž se zlepší i bioadhezivní parametry.

Tenké polymerní filmy tvořené PLGA nachází své aplikační uplatnění jako formy topické (dermální, orální, vaginální) nebo jako formy parenterální (injekce, implantáty in situ).

Tato diplomová práce navazuje tematicky a metodicky na diplomové a rigorózní práce, které se taktéž zabývaly studiem adhezivních vlastností biodegradabilních, větvených, plastifikovaných polyesterů a uvolňováním léčiv z nich s tím rozdílem, že byly použity jiné varianty nebo koncentrace polyesterů, plastifikátorů nebo léčiv.

5 TEORETICKÁ ČÁST

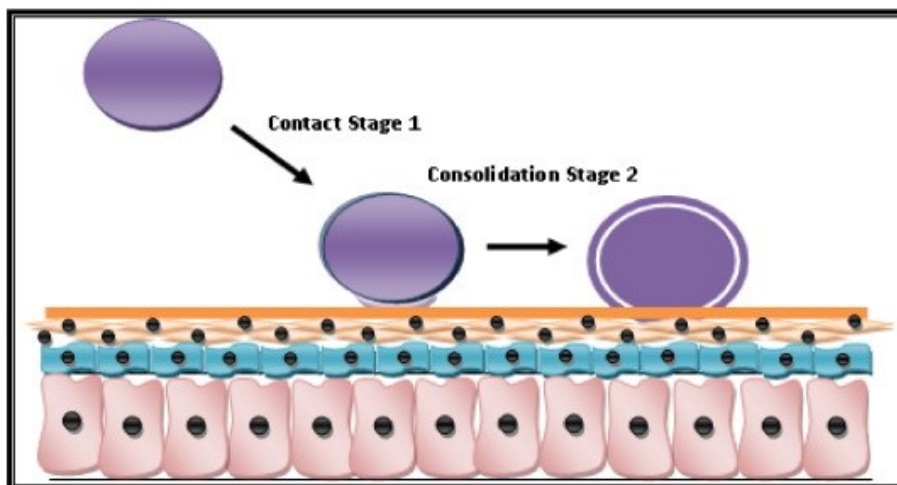
5.1 Adheze

Adheze představuje proces, při kterém materiál přilne k povrchu nebo k jinému materiálu. Přilnutí vyžaduje energii, která může vycházet z vazeb chemických nebo fyzikálních.[1] Podle typu povrchu ke kterému látka adhezuje, můžeme hovořit o bioadhezi, mukoadhezi nebo cytoadhezi. Bioadhezi lze definovat jako stav, během kterého jsou dva materiály, z nichž je alespoň jeden biologické povahy, drženy při sobě po delší dobu díky mezipovrchovým silám.[2] Jedná se o schopnost syntetického nebo biologického materiálu přilnout k biologické tkáni.[3] Je-li biologickou vrstvou mukózní membrána, probíhá bioadheze primárně mezi hlenovou vrstvou membrány a adhezivem a tento jev označujeme jako mukoadheze. [4–6] Pokud bude bioadheze probíhat specificky na buněčné struktury, hovoříme o cytoadhezi.

5.1.1 Mechanismus bioadheze

Podstatou adheze je, že se adhezivum musí rozprostřít po substrátu, aby se inicioval úzký kontakt, a tím se zvýšilo spojení se substrátem, při němž difundují řetězce adhezivní látky do struktur membrány. Mezi vrstvami se utváří přitažlivé a odpudivé síly, avšak aby byla adheze úspěšná, musí převládnout síly přitažlivé.[7] Mechanismus bioadheze nebo mukoadheze probíhá zpravidla ve dvou dílčích krocích. V první fázi nazývané kontaktní, dochází k těsnému kontaktu (smáčení) substrátu s adhezivem. Pokud je v místě adheze přítomna voda, tak adhezivní látka, je-li toho schopna, může nabobtnat a rozprostřít se po povrchu.[8] V druhé fázi, označované jako konsolidační, dochází k průniku adheziva do substrátu, tzv. interdifúze a dále k vzájemnému proplétání řetězců obou vrstev, tzv. interpenetrace. Vytváří se vazebné síly mezi substrátem a adhezivem, nejčastěji se jedná o van der Waalsovy interakce a vodíkové vazby.[9]

Obr. 1: Kontaktní a konsolidační fáze mechanismu adheze [10]



5.1.2 Teorie adheze

Adheze je komplexní proces, který lze popsat pomocí několika teorií, protože se zatím nepodařilo nalézt jednu univerzální teorii, která by adhezi dokonale popsala. Tyto teorie zahrnují smáčení, tvorbu elektrické dvojvrstvy, difuzi, adsorpci nebo porušování adhezivních sil. [11,12]

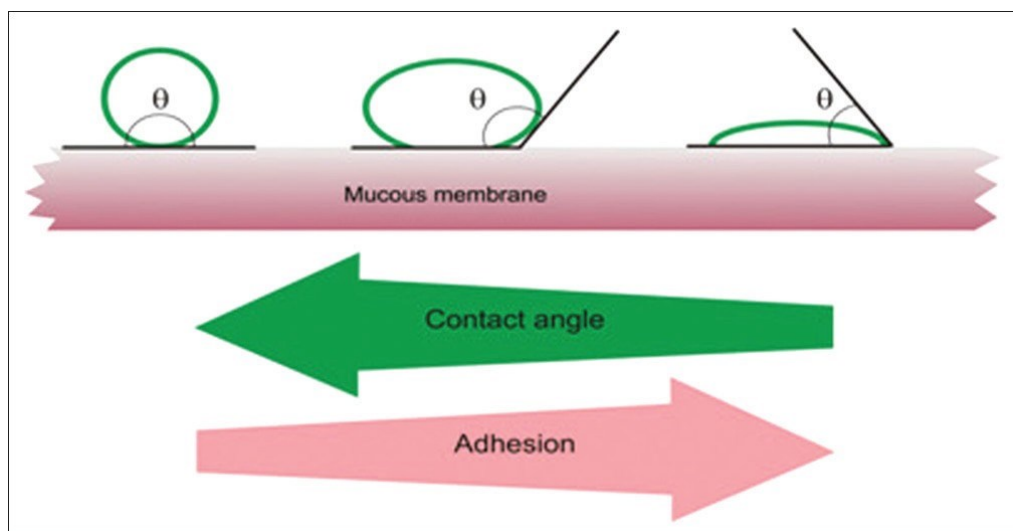
Teorie smáčení

Teorie smáčení je pravděpodobně první publikovanou teorií adheze. Vztahuje se hlavně na bioadheziva o nízké viskozitě. Podstatou teorie je samovolné rozprostření materiálu na biologickou tkáň překonáním mezipovrchového napětí.[6] Míra rozprostření kapaliny je definována rozprostíracím koeficientem S , jenž lze vypočítat jako rozdíl povrchového napětí adheziva γ_A a podkladu γ_B a jejich mezipovrchového napětí γ_{AB} . [13]

$$S = \gamma_A - \gamma_B - \gamma_{AB} \quad (1)$$

Přilnavost k povrchu může být hodnocena pomocí kontaktního (smáčecího) úhlu (Obr. 2). Obecně platí, že čím je kontaktní úhel nižší, tím větší je afinita. [9] Pokud je kontaktní úhel velký, má adhezivum tendenci minimalizovat kontakt s podkladem, na který má adherovat. Kohezivní síly uvnitř adheziva převažují nad silami adhezivními. [14]

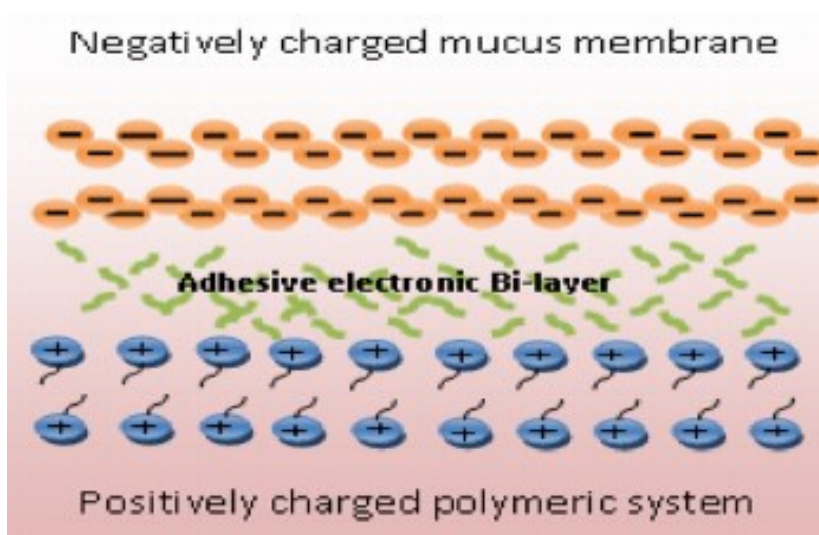
Obr. 2: Vliv velikosti kontaktního úhlu na bioadhezi [15]



Elektronová teorie

Dle elektronové teorie je bioadheze založena na přenosu elektronů při kontaktu adhezivního materiálu s biologickou membránou. Výsledkem je vytvoření elektrické dvojvrstvy, ve které působí elektrostatické přitažlivé síly zodpovědné za udržování kontaktu mezi adhezivem a substrátem.[6,16]

Obr. 3: Podstata elektronové teorie bioadheze [10]

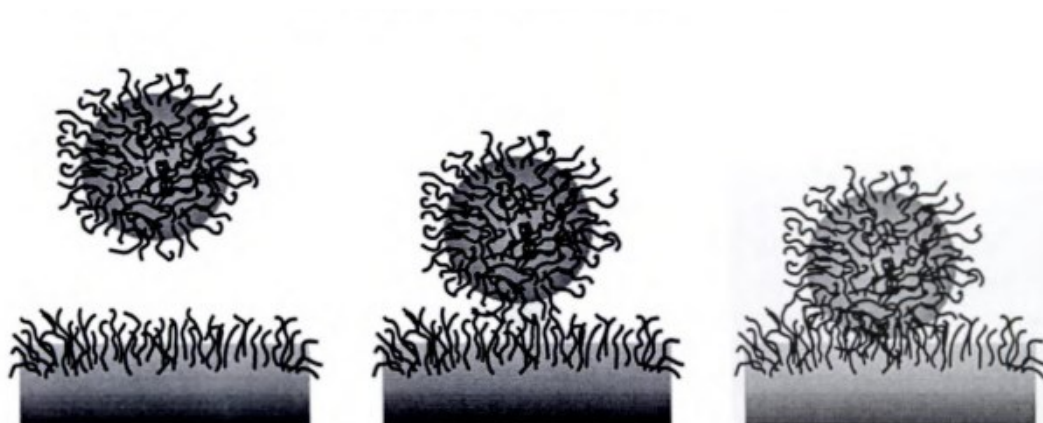


Difúzní teorie

Difúzní teorie popisuje bioadhezi jako pronikání řetězců bioadheziva do glykoproteinové vrstvy substrátu a následné propletení řetězců obou vrstev v dostatečné hloubce, které

vede ke vzniku semipermanentní adhezivní vazby (Obr. 4). Předpokládá se, že se síla adheze bude zvyšovat s rostoucím stupněm penetrace, který závisí na difúzním koeficientu, pružnosti a povaze řetězců, mobilitě a kontaktním čase.[11,12] K dosažení difúze a maximální bioadhezivní síly je potřeba, aby byly parametry rozpustnosti adheziva a substrátu podobné a zároveň také platí, že čím více jsou si obě složky strukturně podobné, tím pevnější vazba vznikne. [17,18]

Obr. 4: Interdifúze řetězců adheziva do substrátu a jejich následné propletení [11]



Teorie lomu

Tato teorie dává do souvislosti adhezivní sílu se silou potřebnou k odtržení dvou povrchů, které k sobě přilnuly.[19] Předpokládá se, že k lomu dochází na mezifázi, přestože k porušení adhezivních sil dochází obvykle v nejslabším místě adheze, což může být ve vrstvě substrátu nebo adheziva.[9]

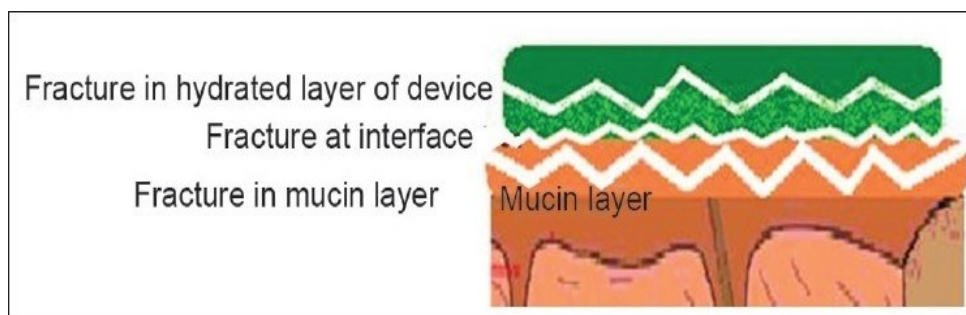
Sílu lomu S_f , která je ekvivalentní maximální tažné síle S_m , lze vypočítat dle rovnice:

$$S_f = (g_c E / c)^{1/2} \quad (2)$$

kde g_c je energie lomu, E je Youngův modul pružnosti, c je kritická délka lomu v okamžiku oddělení dvou povrchů

Limitujícím faktorem této teorie je, že může být aplikována pouze na jednosložkové, jednoduché materiály. Pro vícesložkové systémy by musela být rovnice rozšířena o elastickou složku a moduly každé složky adhezivního systému. [11]

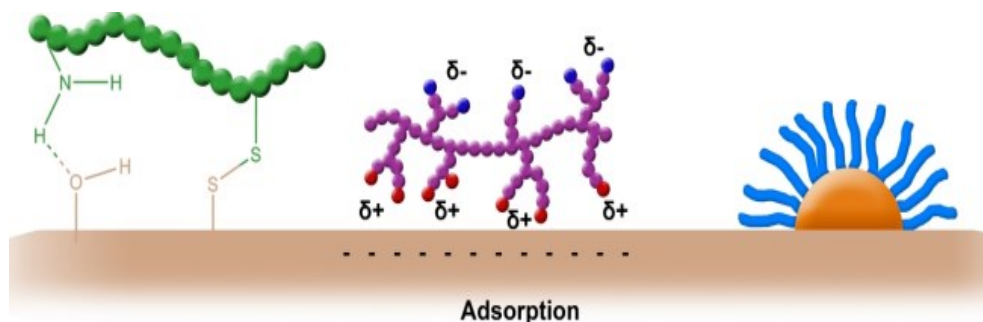
Obr. 5: Teorie lomu [12]



Adsorpční teorie

Jedná se o jednu z nejrozšířenějších teorií adheze.[18] Popisuje adhezi jako výsledek působení primárních a sekundárních povrchových vazeb mezi adhezivem a substrátem. Primární vazby tvořené iontovými, kovalentními a kovovými silami jsou obecně pro adhezi nevhodné kvůli jejich pevnosti. Sekundární síly vznikají hlavně působením van der Waalsových sil, vodíkových můstků a hydrofobních interakcí.[7,9] Přestože jsou tyto síly samostatně slabé, působí-li společně, zajistí intenzivní adhezi vytvořením semipermanentní vazby.[11,16]

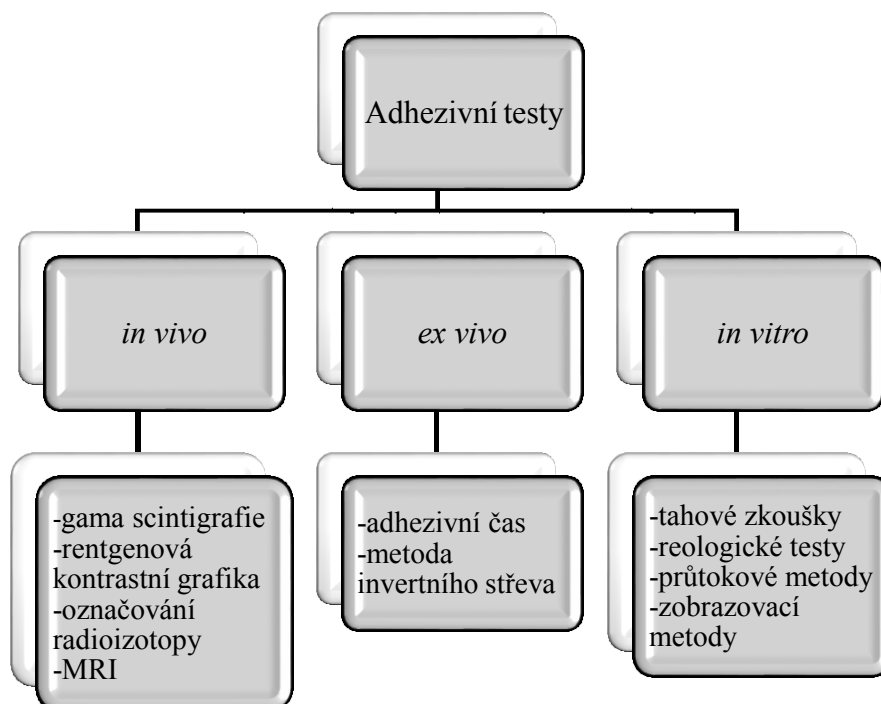
Obr. 6: Adsorpční teorie adheze [20]



5.2 Adhezivní testy

Testování adhezivních vlastností je zásadní při formulaci bioadhezivních léčivých přípravků a také pro screening adhezivních materiálů. Doposud nebyla zavedena žádná standardní testovací metoda nebo přístroj.[16,21] V závislosti na lokalizaci testování rozlišujeme metody *in vivo*, *in vitro* a *ex vivo*. Většina dostupných informací o bioadhezivech pochází z *in vitro* testování. [7]

Obr. 7: Schématický přehled adhezivních testů



In vivo testování není časté pro svou finanční i časovou nákladnost a etické aspekty. Přes tyto limitující faktory je toto testování nezbytné v závěrečných fázích formulace přípravků.[16] Ramesha Chary a kolektiv [22] testovali bioadhezi v gastrointestinálním traktu králíků po podání bioadhezivních tablet s rentgen-kontrastní látkou síranem barnatým. Osud tablet v zažívacím ústrojí byl sledován pomocí rentgenového snímkování. Tato metoda je zcela neinvazivní.

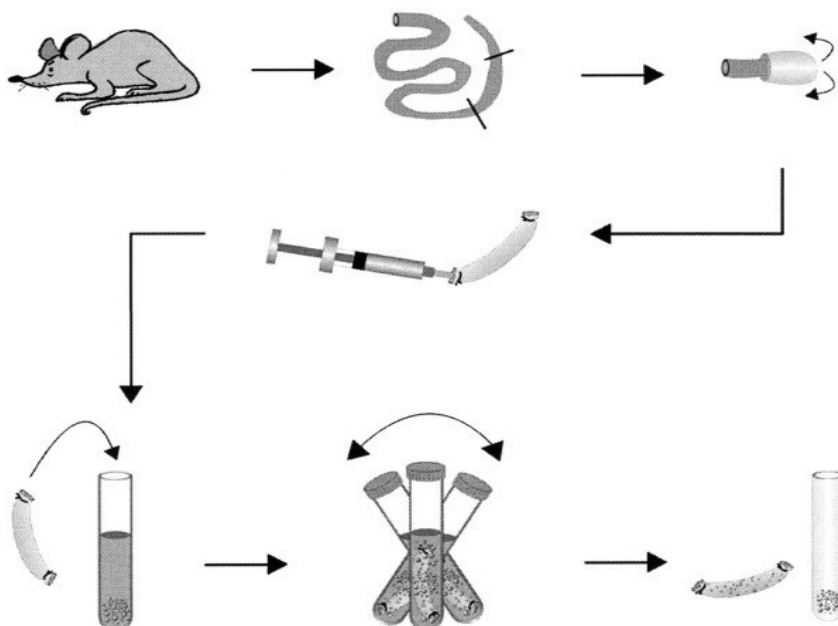
Další neinvazivní technikou je magnetická resonance MRI, která umožní sledování průchodu mukoadhezivních systémů trávicím traktem a vizualizaci uvolnění účinné látky z lékové formy.[23] Podstatou další metody pro zjištění doby setrvání mukoadheziva v místě aplikace je využití radioizotopů [24–26] nebo fluorescenčních barviv [27]. Nejčastěji využívanou metodou *in vivo* je gama scintigrafie. Je založena na přidání radioaktivních markerů (^{99m}Tc , ^{111}In) do léčiva a měření gama záření.[28,29] Volbou vhodného markeru lze tuto metodu využít i u jiných než gastrointestinálních aplikačních forem, např.: nasální, oční, parenterální, rektální, plicní nebo bukální.[30]

Testování *ex vivo* probíhá na izolovaných zvířecích orgánech či tkáních nebo se využívají difúzní komory simulující transport léčiva. Jednou z testovacích metod je sledování doby

adheze s využitím prasečí sliznice. Metoda byla použita při testování bukálních mukoadhezivních náplastí. Náplast se nechala na povrchu hydratovat fosfátovým pufrům a poté byla uvedena do kontaktu s prasečí mukózou, která byla přilepená ke skleněné destičce připevněné k přístroji. Přístroj pak svisle pohyboval destičkou do dezintegračního média tvořeného fosfátovým pufrům o teplotě 37 °C, aby byla náplast zcela ponořená. Byl zaznamenán čas, kdy dojde k úplnému oddělení náplasti od sliznice.[31]

Dalším testem je metoda invertního střeva. Z potkana se odebere segment střeva, obrátí se naruby, na koncích se zašije, naplní fyziologickým roztokem a vloží se do zkumavky s testovaným adhezivem o známé koncentraci. Po inkubaci se segment ze zkumavky vyndá a vypočítá se množství navázaného adheziva na segment tak, že se od výchozí hmotnosti adheziva ve zkumavce odečte hmotnost adheziva, které se nenavázalo na střevo.[32]

Obr. 8: *Ex vivo* metoda invertního střeva [32]



In vitro testy adheze se původně využívaly jen pro vyhledávání adhezivních materiálů. Dnes patří k nejvyužívanějším metodám pro stanovení adhezivních vlastností nových bioadhezivních systémů. Nejčastěji jsou *in vitro* metody založené na stanovení adhezivní síly s využitím reologických, tahových a „smývacích“ zkoušek.

5.2.1 Reologické metody testování adhezivivity

Reologické metody testování bioadhezivivity jsou široce využívány zejména z důvodu jejich jednoduchosti. Sledují tok a deformaci materiálů a jsou výhodné při stanovení adhezivních vlastností polymerních materiálů. Jsou založeny na myšlence reologického synergismu, podle kterého je reologická charakteristika soustavy substrát-adhezivum dána reologickými charakteristikami jednotlivých komponent. Jak už z významu slova synergismus vyplývá, výsledný účinek současně působících složek by měl být větší než souhrn účinků jednotlivých složek. [33]

Reologický synergismus stanovený rotačními testy

Jako vhodná reologická charakteristika se používá hodnota viskozity, což je možné jen za předpokladu, že se jedná o newtonské systémy. Adhezivní materiály či modelové substráty používané pro testování adheze jsou však viskoelastické systémy, které nelze charakterizovat jednou hodnotou viskozity. U neneutonských materiálů je nutné zvolit reprezentativní hodnotu viskozity, např. koeficient konzistence K z mocninného vztahu pro pseudoplastický tok nebo viskozitu při konkrétní hodnotě rychlostního spádu (např. η_{10}). Vhodnější pro výpočet parametru reologického synergismu je ovšem charakteristika získaná oscilačními testy, např. elastický modul G' .

Průkopníky využití reologických testů pro stanovení adheze se stali v roce 1990 Hassan a Gallo [34], kteří navrhli jednoduché viskozimetrické měření pro určení síly bioadhezivní vazby systému mucin-polymer. Při testování byly roztoky neutrálních, anionických a kationických polymerů smíchány s hydratovaným mucinem z prasečích žaludků a tato směs sloužila jako simulace interpenetrační vrstvy. Předpokládalo se, že viskozita silně adhezivních polymerů bude ve směsi s mucinem větší než součet viskozit jednotlivých složek. Takový jev je založen na principu interakce mezi mucinem a polymerem zprostředkovaným fyzikálními a chemickými vazbami, jejichž energie může být přeměněna na energii mechanickou, která způsobí změnu viskozity. [35] Měření viskozity jednotlivých komponent i směsi bylo provedeno při 25 °C, rychlostním spádu 93 s⁻¹ po dobu 3 minut. Z interakce mezi mucinem a polymerem autoři experimentálně stanovili parametr η_b . Pomocí tohoto parametru mohli následně na základě rovnice (3) vypočítat sílu adheze.

$$F = \eta_b * \sigma \quad (3)$$

F je síla adheze, η_b viskozitní parametr, σ rychlostní spád

U neutrálních polymerů (polyethylenglykol, bovinní sérový albumin a dextran) se síla bioadheze při pH 1 úměrně zvyšovala koncentraci polymeru, avšak při pH 5,5 nebyly pozorovány žádné viskozitní změny. Největší adhezivní sílu vykazovaly polykationický chitosan a polyanionická kyselina polyakrylová. Chitosan je bohatý na hydroxy a amino skupiny, takže snadno tvoří vodíkové můstky. Také díky lineární struktuře snáze interpenetruje do mucinu a vzhledem k vysoké molekulové hmotnosti má větší pravděpodobnost vniku interfaciálních interakcí. Kyselina polyakrylová ve své neionizované formě buduje vodíkové můstky, ale pokud je ionizovaná, tak počet můstků sníží, změní svůj tvar a může lépe pronikat do mucinu. Nejslabší bioadhezivní vlastnosti byly zjištěny u komerčně dostupného Polybrenu, polyethylenglykolu, kyseliny polyaspartové a heparinu vzhledem k jejich malé molekulové hmotnosti. Polybren je navíc kvarterní amoniovou sloučeninou, takže se vytváří minimum elektrostatických interakcí mezi karboxylovými skupinami mucinu a permanentně kladným nábojem Polybrenu. Obecně lze říci, že bioadheze mezi polymerem a mucinem závisí na molekulové hmotnosti, tvorbě vodíkových vazeb a rozměru molekuly. [34] Nevýhodou této metody je rozpad polymerní a mucinové sítě vlivem značného namáhání při rotačních testech. Řešením je modifikace metody pro oscilační testy. [10]

Reologický synergismus stanovený oscilačními testy

Oscilační reologie je nedestruktivní technika pro charakterizaci viskoelastických soustav a může poskytnout data k určení adheze mezi polymerem a mucinem. [36] Pro výpočet reologického synergismu se využívá modul pružnosti G' , který je mírou energie uložené a odráží chování pevné složky viskoelastického materiálu. Dále pomocí ztrátového (viskozitního) modulu G'' , jenž vyjadřuje energii ztracenou při toku a odráží vlastnosti kapalně složky formulace. [37] Parametr reologického synergismu může být stanoven dle následujících rovnic: [4]

$$\Delta G' = G'_{mix} - (G'_{polymer} + G'_{mucin}) \quad (4)$$

$$\Delta G'' = G''_{mix} - (G''_{polymer} + G''_{mucin}) \quad (5)$$

Riley a kol. ve svém experimentu stanovili reologický synergismus směsi mucinu a kyseliny polyakrylové o různé molární hmotnosti a hustotě zesílení. Z hodnot elastického modulu G' byl vypočítán synergismus a studován vliv koncentrace polymeru

a hodnoty pH. Autoři předpokládali, že při nižším pH se budou vytvářet vodíkové vazby a modul elasticity a viskozity se zvýší. S nárůstem pH bude ubývat vodíkových vazeb, které budou nahrazovány iontovými vazbami. Dojde k poklesu G' a G'' , čímž se také sníží hodnota reologického synergismu. Obecně platí, že čím větší molární hmotnost a stupeň větvení polymeru, tím více vodíkových vazeb a vyšší hodnota synergismu. [38] Reologická metoda byla také použita pro práškové formulace a jejich interakce s mucinem. Byly studovány mukoadhezivní vlastnosti práškových směsí složených ze škrobu a karbomeru. Nebyl však pozorován žádný synergismus. Vysvětlením by mohlo být například tzv. přehydratování prášku, kdy při nadměrné hydrataci může mukoadheze spontánně vymizet. Dalším důvodem může být, že karbomer je schopný ve vyšší koncentraci inhibovat proteázu, snižovat pružnost řetězců a jejich mobilitu potřebnou pro penetraci do mukózy. [36]

Hägerström a Edsman [39] hodnotili vliv koncentrace na synergismus a zjistili, že lineární polymery vykazují při zvyšující se koncentraci i zvýšený synergismus. Větvené polymery však mají kladné hodnoty synergismu pouze při nízké koncentraci. Jakmile se koncentrace zvyšuje, není hodnota synergismu významně odlišná od 0 nebo je signifikantně negativní. Pokud parametr reologického synergismu nabývá záporných hodnot, interakce uvnitř adheziva a/nebo interakce uvnitř mucinu jsou silnější než interakce ve směsi mucin-adhezivum a testovaný materiál nevykazuje adhezivní vlastnosti.

Dalším faktorem, který může ovlivňovat výsledky reologického synergismu je frekvence oscilačního namáhání. U lineárního polymeru bylo prokázáno, že jeho hodnoty G' a G'' jsou přímo úměrné frekvenci, zatímco větvené polymery vykazují velmi malou či spíše žádnou závislost. Byl stanoven nový parametr synergismu, tzv. „log G' ratio“, na základě kterého lze vzájemně porovnat kladné a záporné hodnoty synergismu:

$$\log G'ratio = \log\left(\frac{G'_{mix}}{G'_P}\right) \quad (6)$$

Pokud dosahuje hodnoty 1, znamená to, že přidání mucinu k polymeru zvýší G' směsi desetkrát. Je-li roven 0, tak přidání mucinu nezpůsobí žádnou změnu v modulu pružnosti a hodnota -1 znamená snížení G' .

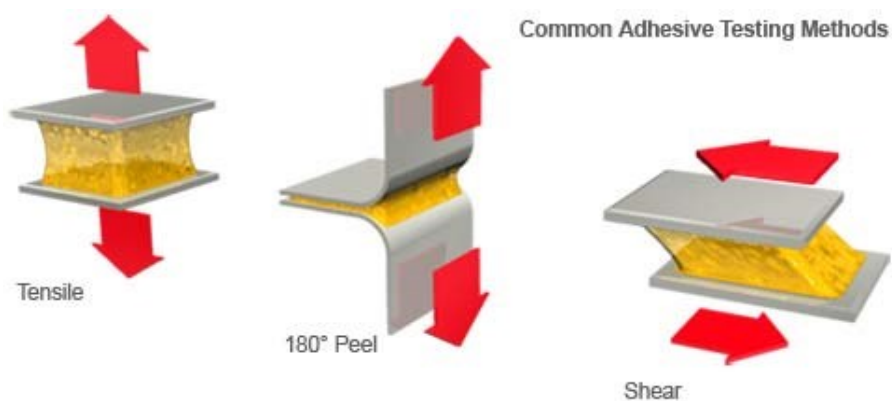
Limitací reologické metody je, že výsledky testů lze občas těžko interpretovat, protože ve výsledcích existuje velká odchylka přisuzovaná různé koncentraci a typu mucinu,

jakožto i koncentraci polymeru. [40] Metoda by tedy kvůli svým limitům neměla být pro hodnocení adhezivních vlastností využívána samostatně a měla by se doplnit například tahovými zkouškami.

5.3 Tahové testy

Tahové zkoušky jsou založené na měření síly potřebné k odtržení adheziva od substrátu. Podle směru působení síly rozlišujeme testy tahové, odtrhávací a smykové (Obr. 9).

Obr. 9: Síly dle přerušení vazby mezi adhezivem a substrátem [41]



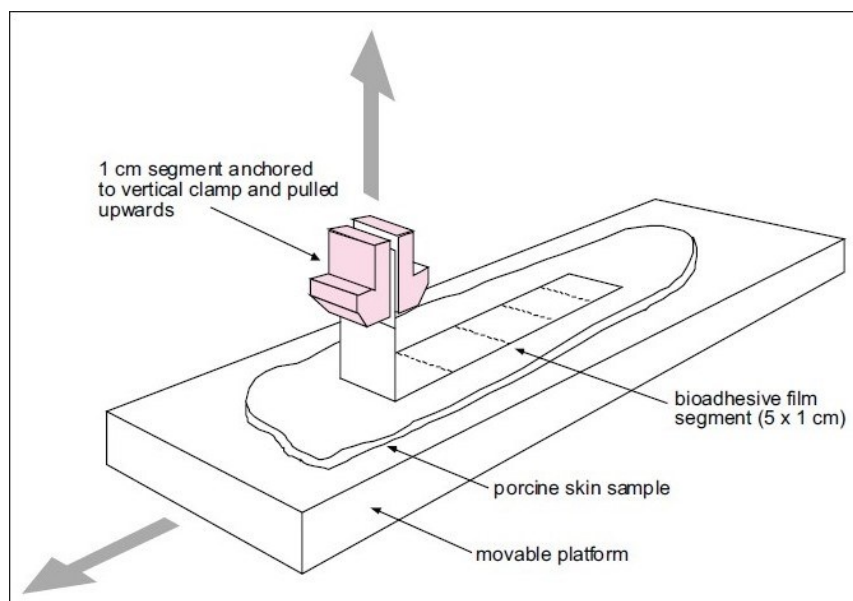
5.3.1 Měření smykové síly

Autoři *Metia a Bandyopadhyay* [42] popisují měření smykové síly u adhezivních kalíšků obsahující bukální tablety s oxytocinem. Zadní strana mukoadhezivního kalíšku byla připevněna k pohyblivému pásku syntetickým lepidlem a druhá strana kalíšku byla přitlačena k hovězí bukální sliznici po dobu 30 sekund za použití konstantního tlaku. Po 5 minutách byla zaznamenána hmotnost potřebná k oddělení kalíšku od sliznice a přepočítána na smykovou sílu.

5.3.2 Měření odtrhávací síly

Testy odtrhávací (*peel testy*) se používají hlavně u bukálních léčivých přípravků a transdermálních náplastí. Měří se síla, která je potřebná k odtržení adheziva v okamžiku, kdy je přilepeno k substrátu. [43] *McCarron a kol.* [44] použili jako substrát prasečí kůži, kterou přilepili k pohyblivé ocelové ploše a nechali ji hydratovat vodou. Svisle nad kůží připevnili do svorek náplast, kterou pak k substrátu přitlačili po dobu 30 s. Následně se svorky pohybovaly nahoru rychlostí 6 mm/s a plošina se posouvala horizontálně tak, aby mezi filmem a kůží byl držen úhel přibližně 90°.

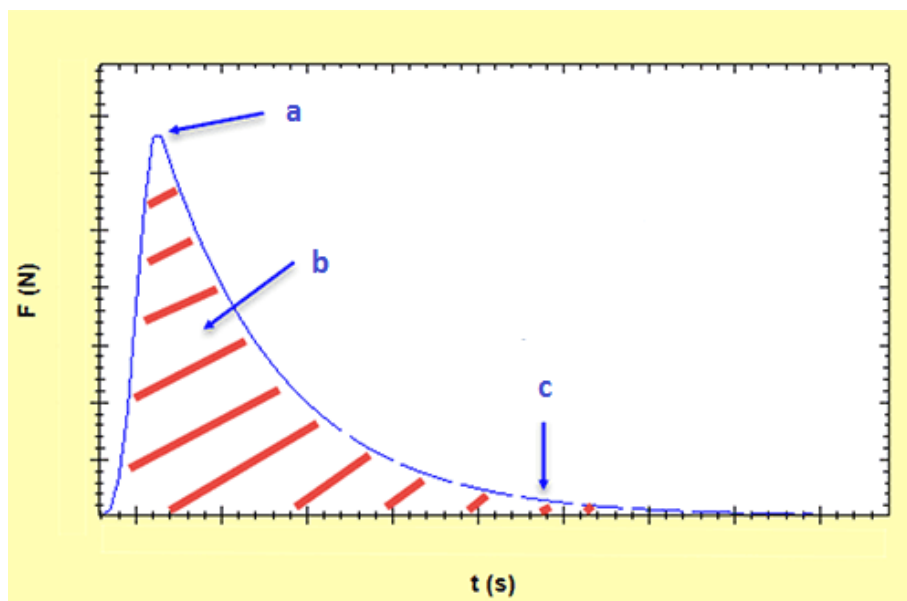
Obr. 10: Průběh peel testu [44]



5.3.3 Měření tahové síly

Tahové zkoušky se řadí mezi nejčastěji využívané *in vitro* testy k zjištění síly bioadheze. K měření se používají různé přístroje, které jsou však založené na podobných mechanismech. Vzorek je umístěn mezi dvě kontaktní plochy, jedna je fixní a druhá se v průběhu testu nejprve dostává do kontaktu s fixní plochou a následně se oddálí. Tento typ testů lze realizovat na materiálových zkušebních strojích (např. firmy Zwick/Roell), ale rovněž i na absolutních reometrech. Ve firemních materiálech výrobců reometrů jsou doporučeny vhodné testy, podmínky měření a způsoby vyhodnocení [45]. Způsob měření adhezivních vlastností je přirovnán k testům invertní sondy, při kterých se sonda uvede do kontaktu s adhezivem při předepsané rychlosti, kontaktním tlaku a po určený čas. Výsledek je zaznamenán jako maximální síla potřebná k přerušení vzniklé vazby. Při testu adheze na absolutním reometru je na dolní geometrii z nerezové oceli nanesen testovaný adhezivní materiál. Horní geometrie typu deska o vhodném průměru je uvedena do kontaktu se vzorkem danou rychlostí, dokud není dosažena požadovaná kontaktní síla. Za danou dobu se horní geometrie oddálí od vzorku a je zaznamenán časový průběh síly (Obr. 11).

Obr. 11: Časový průběh normálové síly v průběhu adhezivního testu [45]



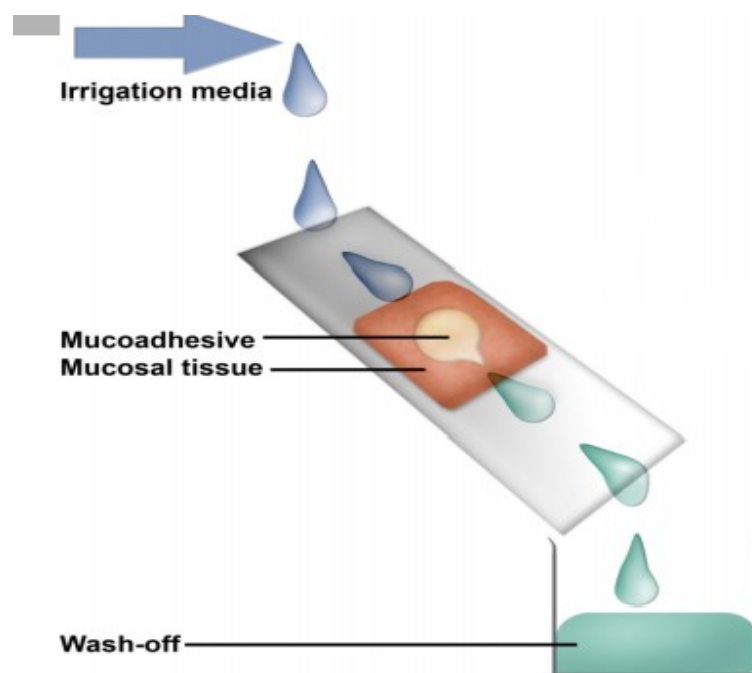
(a) pík normálové síly vyjadřující adhezi materiálu, (b) plocha pod křivkou je mírou adhezivní/kohezivní síly, (c) čas potřebný ke snížení normálové síly o 90 %, resp. odlehčení

5.4 „Smývací“ testy

„Smývací“ testy (*wash off, wash out*) jsou často využívány pro odhad adhezivních vlastností lékových forem, které jsou podávány do té části lidského těla, kde je sliznice vysoce ovlivněna průtokem biologických tekutin. Jedná se o aplikační formy nosní, oční, gastrointestinální a vaginální. Pro testování je důležité napodobit prostředí lidského těla v místě podání léčiva, jako je teplota a vlhkost na povrchu sliznice, složení biologické tekutiny a rychlost jejího průtoku.

Při experimentu se mukózní tkáň připevní na skleněný kanálek a nanese se na ni testovaná adhezivní formulace. Pro simulaci toku biologické tekutiny se využívá perfúzní pumpa, která čerpá roztok pufru přes mukózu, ten z ní vymývá adhezivum a tekutina pak stéká do sběrné kádinky (Obr. 12). Pomocí spektrofotometrické metody, vysokoúčinné kapalinové nebo gelové permeační chromatografie se stanoví množství vymytého léčiva či adhezivního polymeru. Kromě analýzy sebrané tekutiny by se mohlo provést i monitorování množství lékové formy, která zůstala adherovaná na membráně. [46]

Obr. 12: Schéma průběhu vymývacího testu [20]



5.5 Modelové substráty pro testování mukoadheze *in vitro*

Mukózní membrána pokrývá mimo jiných částí těla i nasální, bukální, oční, rektální, vaginální a gastrointestinální oblasti. Mukus, nejsvrchnější vrstva membrány, která se podílí na vzniku vazeb s adhezivem, je tvořen glykoproteiny (0,5-5 %), lipidy, anorganickými solemi, nukleovými kyselinami, enzymy a vodou (95 %). Glykoproteiny jsou nejdůležitější složkou tvořící strukturu mukusu a jsou zodpovědné za jeho adhezivní, kohezivní a gelu podobné vlastnosti. [47] Substráty pro testování adheze přípravků aplikovaných těmito cestami lze získat z prasečích, psích a opičích zvířecích modelů, které jsou nejvhodnější pro napodobení lidské sliznice, potkani a králíci kvůli keratinizaci epitelové vrstvy příliš vhodní nejsou. Vývoj syntetických materiálů napodobujících lidskou mukózu by byl významným pokrokem při testování mukoadheze. [19]

Nejjednodušší metodou pro přípravu substrátu pro testování mukoadheze je homogenizace sušeného mucinu z prasečích žaludků společně s destilovanou/deionizovanou vodou nebo puřem. *Hassan a Gallo* [34] hydratovali jemným mícháním mucin 0,1 M HCl nebo 0,1 M acetátovým puřem po dobu 3 hodin při 25 °C.

Callens s kolegy [36] připravili substrát pro zkoušení prášku pro nasální podání disperzí 8 % surového mucinu z prasečích žaludků (Sigma Aldrich Chemie, Německo) v simulované nosní tekutině skládající se ze 7,45 mg/ml NaCl, 1,29 mg/ml KCl a 0,32 mg/ml CaCl₂ 2H₂O. Na podobném principu vytvořili *Ceulemans a kol.* [48] mucinový substrát pro testování očních tablet. V simulované slzné tekutině obsahující 1,7893 g/l KCl, 6,3118 g/l NaCl, 2,1842 g/l NaHCO₃, 44,4 mg/l CaCl₂ a 47,6 mg/l MgCl₂ bylo dispergováno 8 % sušeného mucinu a přidáno odpovídající množství 0,1 M HCl pro dosažení pH 7,4±0,1. Roztok byl poté míchán magnetickým míchadlem po dobu 24 hodin při pokojové teplotě, aby se umožnila kompletní hydratace mucinu.

Riley a kol. [38] vytvořili homogenizovaný mukózní gel tím, že opatrně seškrábali mukus z prasečích žaludků a ten pak rovným dílem míchali po dobu 4 minut s izotonickým roztokem (0,9 % NaCl, 0,02 % NaN₃, 0,186 % EDTA a 0,0175 % fenylmethylsulfonyl fluorid rozpuštěný v 1 ml alkoholu). Směs nechali centrifugovat při 4 °C 1 hodinu. Poté odstranili supernatant a odebrali vrstvy gelu, které spojili a dali dialyzovat proti destilované vodě při 4 °C po dobu 24 hodin. Dialyzovaný gel poté opět centrifugovali, vrstvy gelu odebrali, spojili a nechali 5 minut míchat. Gel pak skladovali při -20 °C.

In vitro testování mukoadhezivních forem lze provádět i na čerstvě vyříznuté, při -20 °C skladované intestinální [49], bukální [50] a vaginální mukóze [51] zvířete (nejčastěji prasete), která se před experimentem nechá rozmraznout a připraví se z ní substráty o požadované velikosti. Je také možné vytvářet tzv. mucinové disky, kdy se známé množství surového mucinu za pomoci tabletovacího stroje stlačuje velkou silou a vzniklé disky se použijí pro testování adhezivní síly. [52]

5.6 Liberace léčiv z tuhých disperzí

Liberaci léčiv z tuhých disperzí, lze popsat jako řízené uvolňování účinné látky z lékové formulace. Řízené uvolňování nastává, když je přírodní nebo syntetický polymer kombinován s léčivem či přímo účinnou látkou tak, aby se aktivní látka uvolnila požadovaným způsobem. Tyto lékové formy jsou navrhovány především k zajištění relativně stálých koncentrací látky v krvi, tkáních a orgánech. Jejich nespornou výhodou je i snížení frekvence podávání, omezení nežádoucích účinků a tím zvýšení compliance pacienta k léčbě. [53] Je však potřeba brát v úvahu i potenciaálně negativních vlastností těchto formulací jako je toxicita použitého materiálu nebo vedlejších produktů degradace a vyšší náklady oproti tradičním farmaceutickým přípravkům.

Uvolňování léčiva je zásadním krokem pro biologickou dostupnost, obzvláště u léčivých látek zařazených do II. třídy biofarmaceutického klasifikačního systému. Jedná se o hydrofobní léčiva s nízkou rozpustností ve vodě a vysokou membránovou permeabilitou. Právě velké množství nových chemických látek je špatně rozpustných, a to je častým důvodem zanechání vývoje léčivého přípravku. Proto je důležité překonat toto omezení, aby bylo možné využít terapeutické přínosy těchto látek. Zlepšení rozpustnosti lze dosáhnout chemickou modifikací (tvorba proléčiv, solí), mikronizací, tvorbou nanosystémů, přidáním surfaktantů a kosolventů nebo tvorbou tuhých disperzí. [54] Právě tuhé disperze jsou jedním z nejlepších postupů pro zvýšení rozpustnosti. Lze je definovat jako směs alespoň dvou složek - hydrofobního léčiva a inertního polymerního nosiče. Tuhé disperze jsou rozděleny do čtyř generací podle vlastností polymerního nosiče. Pro systémy s řízeným uvolňováním se využívá 4. generace obsahující polymerní nosiče ve vodě nerozpustné nebo bobtnající, které zpomalují liberaci léčiva. [55]

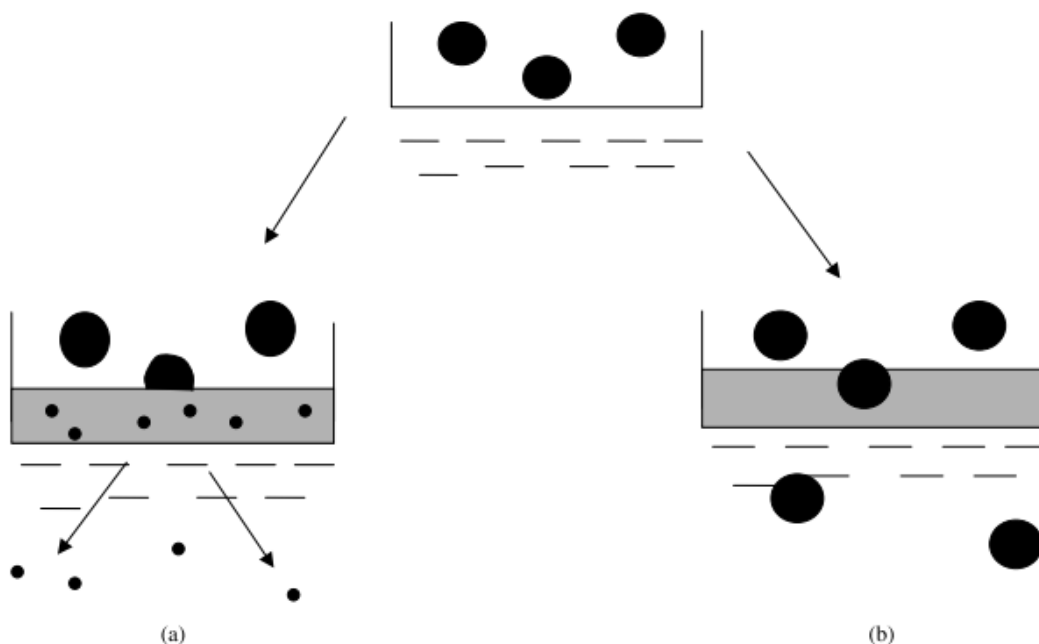
Obr. 13: Přehled generací tuhých disperzí



Léčivo se z pevné disperze může uvolňovat dvěma způsoby, tzn. že liberace může být řízená buďto polymerním nosičem nebo léčivem. Tyto mechanismy jsou založeny na tom, že když je tuhá disperze dispergovaná v tekutině, polymerní nosič rychle absorbuje tekutinu a vytváří koncentrovanou polymerní vrstvu nebo gelovou vrstvu. V případě, že je léčivo v takovémto nosiči rozpustné, ale viskozita vrstvy je natolik vysoká, že rozpuštěné léčivo nepropustí skrz do objemové fáze, bude rychlost uvolňování léčiva

závislá na difuzi polymeru, takže hovoříme o liberaci řízené nosičem (Obr. 14 a). Pokud je léčivo v koncentrované vrstvě nerozpustné nebo jen omezeně rozpustné, prochází nedotčené skrz nosič do disolučního média (Obr. 14 b) a profil liberace bude záviset na vlastnostech léčiva (např. rozpustnost léčiva, polymorfie nebo velikost částic). [56]

Obr. 14: (a) liberace řízená polymerním nosičem, (b) liberace řízená léčivem [56]



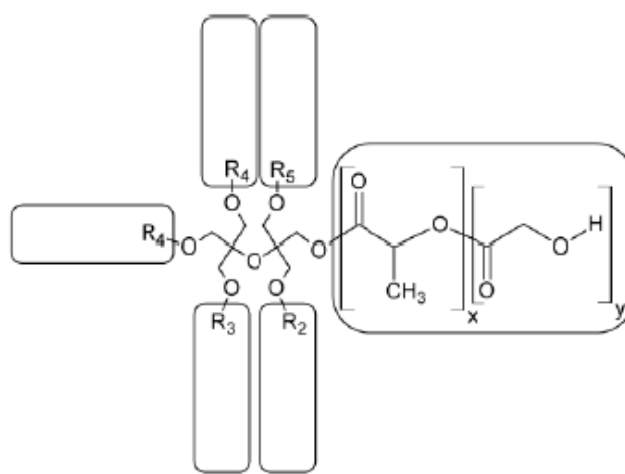
5.7 Složení tenkých filmů v této diplomové práci

5.7.1 Větvený kopolymer kyseliny D,L- mléčné a glykolové PLGA

PLGA je jedním z nejoblíbenějších biologicky odbouratelných polymerů. Díky své dlouhodobé klinické zkušenosti, vysoké biokompatibilitě a příznivým degradačním vlastnostem má významné místo ve farmakoterapii jako nosič léčiv, proteinů a dalších makromolekul. [57] PLGA je lineární polyester s vysokou molekulovou hmotností, který vzniká polymerací za otevření kruhů monomerů kyseliny mléčné a glykolové. Pro zajištění kontinuální degradace polymerního nosiče a tím zajištění výhodnější liberace léčiva se PLGA doplňuje větvicím monomerem různého typu a koncentrace. Větvené polymery mají nižší molární hmotnost a větší povrch než ty lineární, což vede k vyšší a rychlejší degradaci nosiče (řádově hodiny až několik dní). Větvicí složkou nejčastěji bývají cukry či vícesytné alkoholy (mannitol, pentaerythritol, polyvinylalkohol, glukóza a další). Dobu degradace kromě molární hmotnosti a tvaru/velikosti tělesa ovlivňuje i

stupeň krystalinity a fyzikálně chemické vlastnosti prostředí. Degradace probíhá hydrolýzou nestabilních esterových vazeb polymerního řetězce za vzniku kyseliny L-mléčné, která se z těla eliminuje jako CO₂ a voda (produkty metabolizace kyseliny v citrátovém cyklu) a kyseliny glykolové, která se z těla ve velké míře exkretuje (jen malá část vstupuje do citrátového cyklu). [58]

Obr. 15: Větvený kopolymer kyseliny mléčné a glykolové [59]

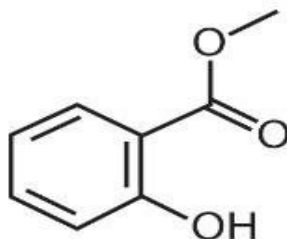


5.7.2 Methyl-salicylát

Methyl-salicylát je bezbarvá nebo jemně nažloutlá olejovitá kapalina vonící a chutnající po libavce polehlé (*Gaultheria procumbens*). Je dobře rozpustný v chloroformu, etheru či alkoholu. Pro přípravu tenkých filmů v této práci byl využit jako plastifikátor polymerního nosiče. Plastifikátor je nízkoviskozitní kapalina o nízké molární hmotnosti, která vytváří s polymerem sekundární vazby. Důsledkem toho je zlepšení vlastností pro formulaci tenkých filmů snížením viskozity, snížení teploty skelného přechodu polymeru, zabránění praskání filmu, zvýšení jeho pružnosti a jednou z mnoha výhod plastifikátoru je také kontrola rychlosti uvolňování léčiva z polymerní matrice.[60]

Kromě plastifikace lze methyl-salicylát využít při výrobě parfémů, mastí, jako antiseptikum v ústních vodách či k ochucování jídel a nápojů. Masti a linimenta s methyl-salicylátem se používají pro zmírnění muskuloskeletární bolesti kloubů, svalů a šlach, protože podráždí pokožku (dráždění způsobí uklidňující pocit tepla) a díky své farmakologické podobnosti s Aspirinem a dalšími NSAID působí analgeticky.

Obr. 16: vzorec methyl-salicylátu [61]



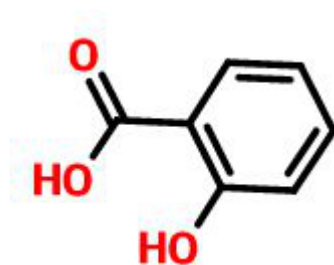
5.7.3 Kyselina salicylová

Kyselina salicylová je ve formě bílého krystalického prášku nebo bílých, bezbarvých, jehlicovitých krystalů. Je bez zápachu a má mírně nasládlou chuť. Rozpustnost vykazuje v etheru, 96 % lihu, mírně rozpustná je v dichlormetanu a těžce rozpustná ve vodě. Užíje-li se perorálně, má silně dráždivý účinek na gastrointestinální trakt, proto se v současnosti užívá zevně jako dermatologikum. Pokud je kyselina salicylová v topických přípravcích obsažena v koncentraci nižší (<10 %), má keratoplastický efekt, tzn. že povzbuzuje epitel kůže k růstu. Když je v koncentraci vyšší, má keratolytický účinek, tj. způsobí změkčení keratinu a pomáhá odstranit suchou, šupinatou pokožku. Tento efekt je žádoucí hlavně při kombinaci kyseliny s jinými účinnými látkami, protože odstraněním svrchní vrstvy kůže se podpoří účinnější průnik látek do pokožky.

Kožní přípravky obsahující ať už samotnou kyselinu salicylovou nebo kombinovanou s jinými léčivými látkami nalézají uplatnění nejvíce při léčbě akné, dále při odstraňování bradavic, psoriáze, seboroické či chronické atopické dermatitidě, ichthyóze.[62]

Kyselina salicylová je také důležitá pro přípravu kyseliny acetylsalicylové, která má analgetické, antipyretické, protizánětlivé a také antikoagulační účinky.

Obr. 17: vzorec kyseliny salicylové [62]



Tab. 1: Přehled hromadně vyráběných léčivých přípravků s obsahem kyseliny salicylové dostupných v ČR [63]

název	léková forma	složení	indikace
Alpicort	kožní roztok	kyselina salicylová prednisolon	psoriáza ve kštici seboroická dermatitida alopecie
Alpicort F	kožní roztok	kyselina salicylová prednisolon estradiol benzoát	zmírnění vypadávání vlasů
Actikerall	kožní roztok	kyselina salicylová fluorouracil	hyperkeratotická iradiační keratóza u imunokompetentních pacientů
Belosalic	kožní roztok kožní sprej mast	kyselina salicylová betamethason - dipropionát	psoriáza neurodermitida ekzém (atopický, alergický,...) seboroická dermatitida ichtyóza
Diprosalic	kožní roztok mast	kyselina salicylová betamethason - dipropionát	psoriáza chronická atopická dermatitida lichen simplex/planus dishydóza seboroická dermatitida ichtyóza
Duofilm	kožní roztok	kyselina salicylová kyselina mléčná kolodium 4%	bradavice
Herbadent	roztok na dásně	kyselina salicylová benzokain bylinný extrakt	ulcerózní gingivitidy herpetické gingivostomatitidy parodontitidy lokální terapie sliznice úst urychluje hojení ran po zubařském zákroku
Kerasal	mast	kyselina salicylová urea	ichtyóza palmoplantární keratóza lichen pilaris ekzém rukou psoriáza
Mobilat Gel	gel	kyselina salicylová extrakt z kůry nadledvinek glykosaminoglykan – polysulfát	pomocná léčba po podvrtnutí, zhmoždění či distorze bolesti při pohybu výpotky otoky ze zánětu kloubu mimokloubní revmatismus
Momesalic	mast	kyselina salicylová mometason - furoát	závažné až těžké psoriázy s plaky
Triamcinolon S	mast	kyselina salicylová triamcinolon – acetamid	neinfekční dermoepidermitida subakutní/chronický ekzém psoriáza neurodermitida
Sophtal-POS N	oční kapky	kyselina salicylová	blefaritida nespecifická konjunktivitida podrážděná spojivka
Verrumal	kožní roztok	kyselina salicylová fluorouracil	bradavice

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Použité suroviny

3T PLGA větvený 3 % tripentaerythritolu (FaF UK HK)

8D PLGA větvený 8 % dipentaerythritolu (FaF UK HK)

Aceton (PENTA, ČR)

Čištěná voda (FaF UK HK)

Fosfátový pufr (Sigma – Aldrich, USA)

Kyselina salicylová (Dr. Kulich Pharma, s. r. o.)

Methyl-salicylát (Sigma – Aldrich, USA)

Mucin z prasečích žaludků (Sigma – Aldrich, USA)

6.2 Přístroje

Analytické digitální váhy (Fisher Scientific s.r.o.)

Digitální váhy KERN 440-35 N, max. 400g, d=0,01g (Fisher Scientific s.r.o.)

Horkovzdušná sušárna (Mettler GmbH)

Rotační reometr Kinexus pro+ (Malvern Instruments)

Spektrofotometr SPECORD 250 (Analytik Jena, SRN)

Třepačka s vodní lázní, GFL 1083 (Analytik Jena, SRN)

6.3 Příprava vzorků pro měření na rotačním reometru

6.3.1 Plastifikace polyesterů

Číselné a hmotnostní průměry molární hmotnosti (M_n , M_w), hmotnostní průměr vnitřní viskozity $[\eta]_w$, větvící poměr g' a teplotu skelného přechodu (T_g) polyesteru 8D a 3T, použitých v diplomové práci, uvádí Tabulka 2. Pro plastifikaci polymeru 8D byl použit methyl-salicylát (MS) v koncentracích 10 %, 20 % a 30 %. Do vytárované kádinky byl na analytických vahách navážen polymer, následně byl vložen do horkovzdušné sušárny předehřáté na 90 °C. Do sušárny byla také vložena kádinka s MS zakrytá alobalem, aby plastifikátor netěkal. Po zahřátí byly 8D a plastifikátor smíseny a důkladně zhomogenizovány. Bylo připraveno vždy 5,0 g polyesteru plastifikovaného MS.

Tab. 2: Charakteristiky testovaných polyesterů

Vzorek	M_n (g/mol)	M_w (g/mol)	$[\eta]_w$ (mL/g)	g'	T_g (°C)
8D	1600	2500	2,9	0,45	14,8
3T	5300	17 400	7,7	0,43	26.6

6.3.2 Příprava mucinu hydratovaného fosfátovým pufrům

Mucin z prasečích žaludků ve formě voluminózního prášku byl navážen do plastové kádinky a přesypán do melaminové třenky. Byl hydratován fosfátovým pufrům pH 7,4 v poměru 1:1, 1:2 a 1:5 a míchán do vzniku homogenní směsi. Byl získán modelový substrát různé viskozity pro měření tokových i adhezivních vlastností polyesteru 8D.

6.3.3 Příprava směsi hydratovaného mucinu a plastifikovaného polyesteru

Pro přípravu těchto směsí byl použit mucin hydratovaný fosfátovým pufrům pH 7,4 v poměru 1:5 a polyester 8D plastifikovaný 20 % a 30 % MS. Plastifikovaný polyester byl v zakryté kádince zahřát na 40 °C v horkovzdušné sušárně, byl přidán hydratovaný mucin a směs byla důkladně zhomogenizována. Poměr hydratovaného mucinu a plastifikovaného polyesteru byl 1:1, 2:1 a 1:2.

6.4 Příprava tenkých filmů pro disoluční testy

Metodou tavení byly připraveny tenké filmy tvořené polyesterem 8D, MS a kyselinou salicylovou (SA). Polyester 8D byl plastifikován 10 %, 20 % a 30 % MS postupem popsaným v kapitole 6.3.1. Do plastifikovaného polyesteru bylo inkorporováno 10 % SA a provedena důkladná homogenizace. Bylo připraveno vždy 5,0 g vzorků daného složení. Na dno skleněných vialek bylo na analytických vahách naváženo 250,0 mg disperze. Dna vialek byla poté zahřáta tak, aby byl vzorek rovnoměrně rozprostřen po dně vialky a tím zajištěna standartní plocha pro liberaci salicylátu. Tloušťka filmu byla 400 μm . K takto připraveným tenkým vrstvám bylo přidáno 15,0 ml fosfátového pufru pH 7,4. Pufr byl připraven rozpuštěním jedné tablety ve 200,0 ml čišťené vody. Vzorky pro disoluční testy byly připraveny triplicitně.

6.5 Měření na rotačním reometru

6.5.1 Příprava reometru

Reologické vlastnosti neplastifikovaných polyesterů 3T a 8D, polyesteru 8D plastifikovaného 10 %, 20 % a 30 % MS, hydratovaného mucinu a mucinu ve směsi s plastifikovaným polyesterem byly měřeny na rotačním reometru Kinexus Pro⁺ za využití softwaru rSpace for Kinexus verze 1.75. Před zapnutím přístroje byla vždy provedena kontrola přívodu stlačeného vzduchu, až poté mohl být přístroj spuštěn. Byly odstraněny kryty horní a dolní geometrie a přístroj se nechal 5 minut stabilizovat. Byl zapnut počítač, spuštěn program rSpace a provedena inicializace zařízení. Pro rotační testy byla zvolena horní geometrie CP 2/20 (kužel s úhlem 2° a průměrem 20 mm), pro měření adhezivních vlastností geometrie PU 20 (horní deska o průměru 20 mm). Dle pokynů softwaru byla nastavena nulová štěrbina (zero gap). Reometr byl připraven k měření.

Obr. 18: Rotační reometr Kinexus Pro+ [64]



6.5.2 Měření tokového chování

Byla měřena viskozita polyesterů 3T, 8D, polyesteru 8D plastifikovaného 10 %, 20 % nebo 30 % MS při 80 °C (tzv. *melt viscosity*), viskozita hydratovaného mucinu z prasečích žaludků a směsi plastifikovaného polyesteru s mucinem při 25 °C. Při měření viskozity tavenin polymeru byly vzorky nanесeny na dolní geometrii při teplotě o 10 °C vyšší, než byla teplota při měření viskozity. V sekvenci *Set temperature* byla zadána teplota 90 °C a vyčkalo se na vytemperování dolní geometrie. Standardním způsobem

byl nanesen vzorek, zakryt a po dobu 5 minut se nechal temperovat. Následně byla teplota snížena na 80 °C a opět se vyčkalo 5 minut. Byl odstraněn kryt dolní geometrie a nanesení vzorku bylo dokončeno dle pokynů softwaru v sekvenci *Load sample*: horní geometrie sjela na předdefinovanou vzdálenost, kopistkou byl odstraněn případně vytlačený přebytek vzorku, dolní geometrie byla zakryta plastovým krytem. Byl spuštěn test *Viscometry_0010 Table of shear rates with Power law model fit* a nastaveny parametry testu (Obr. 19). Po dokončení měření byl vzorek odstraněn dle pokynů v sekvenci *Unload sample* a výsledky měření uloženy.

Obr. 19: Parametry testu *Table of shear rates with Power law model fit*

Start shear rate	<input type="text" value="0.1000"/>	s ⁻¹
End shear rate	<input type="text" value="100.0"/>	s ⁻¹
Samples per decade	<input type="text" value="10"/>	

6.5.3 Vyhodnocení viskozitních křivek

Pro vyhodnocení tokových a viskozitních křivek byla použita rovnice Ostwald-de Wael (mocninná, power law):

$$\tau = K \cdot D^n \quad (7)$$

τ posuvné napětí [Pa]

D rychlostní spád [s⁻¹]

K koeficient konzistence [Pa·s]

n index tokového chování; $n < 1$ pro pseudoplastický a plastický tok, $n > 1$ pro dilatantní tok

6.5.4 Výpočet adhezivity z hodnot viskozity jednotlivých složek

Hodnoty viskozity mucinu, plastifikovaného polyesteru a jejich směsí naměřené při rychlostním spádu 10 s⁻¹ byly použity pro výpočet adhezivních vlastností plastifikovaných polyesterů na základě empirického vztahu (8) dle Hassana a Gallo [34] založeného na reologickém synergismu:

$$\eta_b = \eta_{m-p} - (\eta_m + \eta_p) \quad (8)$$

η_{m-p}	viskozita směsi mucinu a polymeru
η_m	viskozita mucinu
η_p	viskozita polymeru
η_b	viskozita ovlivněná adhezivitou

6.5.5 Test adhezivity neplastifikovaných polyesterů a mucinu

Na rotačním reometru byl proveden test adheze *Squeeze and pull off test with analysis*. Nejprve byla dolní geometrie temperována na 32 °C po dobu 5 minut. Po spuštění testu se horní geometrie přiblížila k dolní na vzdálenost 70 mm a dle pokynů softwaru byly nastaveny parametry testu (Tab. 3). Vzorek o hmotnosti 0,50 g byl nanesen na střed dolní geometrie. V první fázi testování (*squeeze*) byl vzorek stlačen horní geometrií na danou tloušťku vrstvy, v druhé fázi (*pull off*) se horní geometrie oddálila od dolní. Toto bylo opakováno pětkrát. Byly zaznamenány hodnoty maximální síly pro fázi stlačení a pro fázi oddálení, plocha pod křivkou a čas potřebný k odlehčení (poklesu odtrhvací síly o 90 %). Dle pokynů sekvence *Unload sample* byl vzorek z reometru odstraněn a naměřené hodnoty byly uloženy do počítače

Tab. 3: Parametry testu *Squeeze and pull of test with analysis*

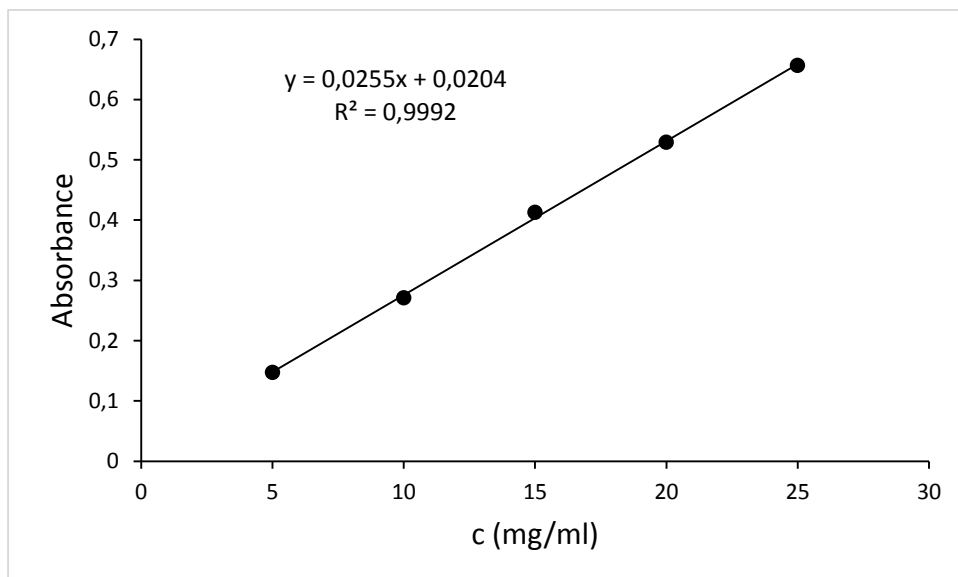
Rychlost posunu horní geometrie	5 mm/s
Cílová vzdálenost geometrií	0,5 mm
Počet opakování	5
Pracovní vzdálenost geometrií	10 mm

6.6 Test disoluce salicylátu z tenkých filmů

Vzorky připravené pro disoluční testy byly zality 15,0 ml fosfátového pufru pH 7,4 a byly vloženy do vodní třepací lázně vytemperované na 37 °C. Frekvence třepání byla 50 min⁻¹ a amplituda 22 mm. V předem stanovených časových intervalech (1, 4, 24, 48, 72 a 144 hodin) byly vialky z lázně vyjmuty, odebráno disoluční médium a vzorky znovu přelity 15,0 ml pufru. Množství uvolněného salicylátu bylo stanoveno spektrofotometricky měřením absorbance při vlnové délce 298 nm proti fosfátovému pufru pH 7,4. Ze získaných hodnot absorbance bylo na základě rovnice kalibrační přímky

($y = 0,0255x + 0,0204$; $R^2 = 0,9992$) vypočteno množství uvolněného salicylátu v daných časových intervalech. [65]

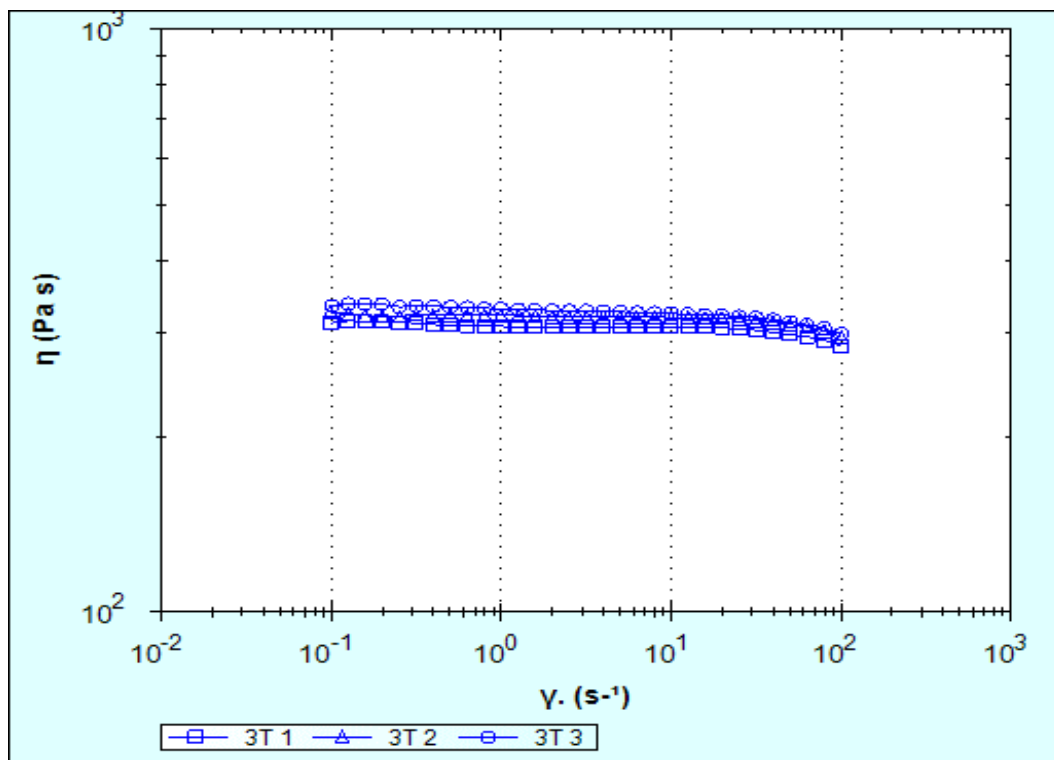
Obr. 20: Kalibrační přímka kyseliny salicylové při vlnové délce 298 nm [65]



7 VÝSLEDKY

7.1 Viskozita tavenin polyesterů

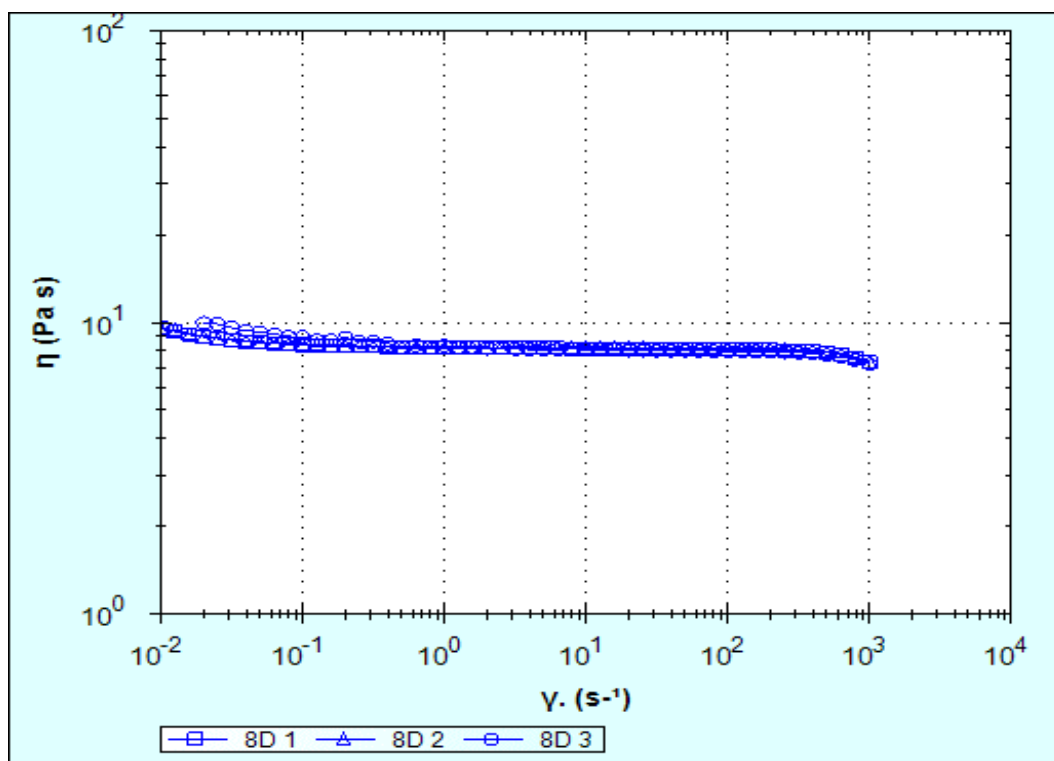
Obr. 21: Viskozitní křivka polyesteru 3T při 80 °C



Tab. 4: Viskozita polymeru 3T při 80 °C dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	307,700	310,000	0,9914	1,0000
2	319,700	321,600	0,9924	1,0000
3	324,800	330,700	0,9876	1,0000
Průměr	317,400	320,767	0,9905	
SD	8,779	10,375	0,0025	

Obr. 22: Viskozitní křivka polyesteru 8D při 80 °C

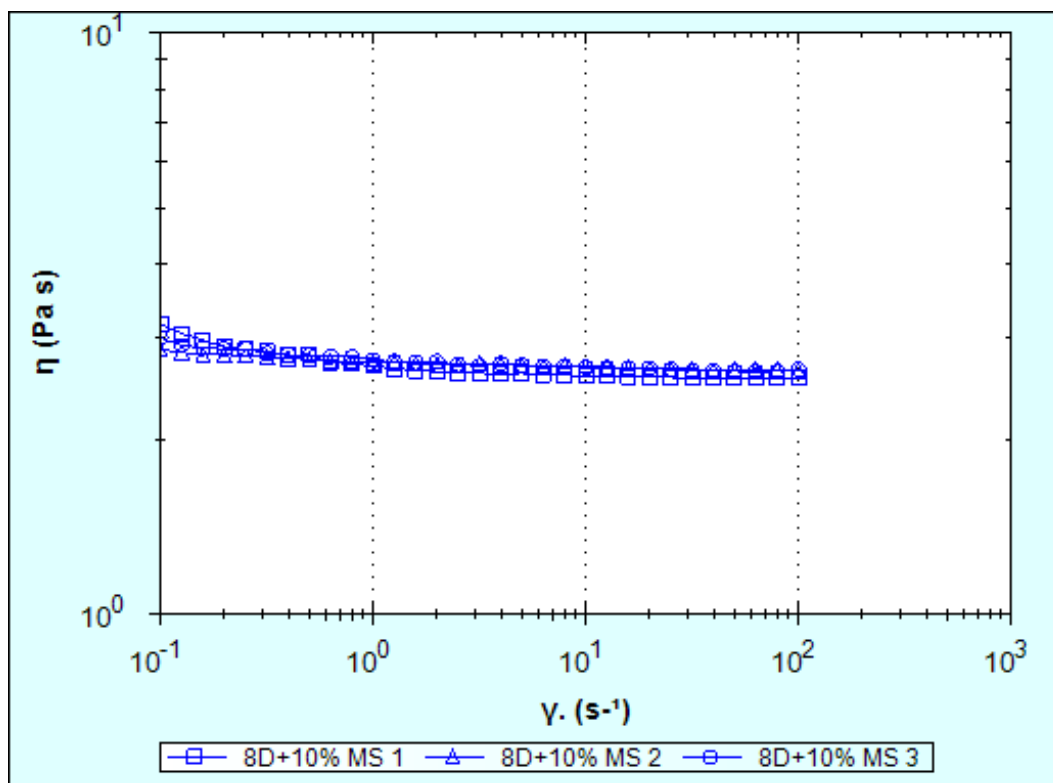


Tab. 5: Viskozita polymeru 8D při 80 °C dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	7,976	8,297	0,9855	1,0000
2	8,406	8,519	0,9940	1,0000
3	8,376	8,467	0,9947	1,0000
Průměr	8,253	8,428	0,9914	
SD	0,240	0,116	0,0051	

7.2 Reologické chování plastifikovaného polyesteru

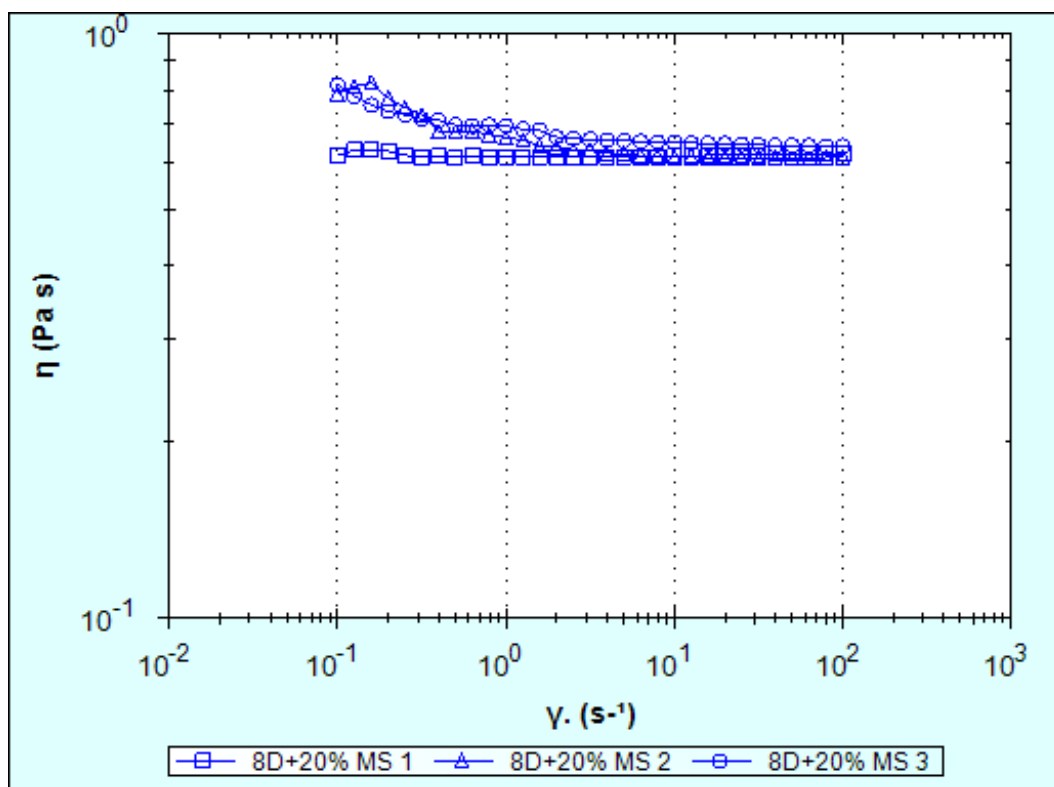
Obr. 23: Viskozitní křivka polyesteru 8D plastifikovaného 10 % MS při 80 °C



Tab. 6 : Viskozita polymeru 8D plastifikovaného 10 % MS při 80 °C dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	2,571	2,745	0,9758	0,9999
2	2,674	2,732	0,9897	1,0000
3	2,567	2,767	0,9843	1,0000
Průměr	2,604	2,748	0,9833	
SD	0,061	0,018	0,0070	

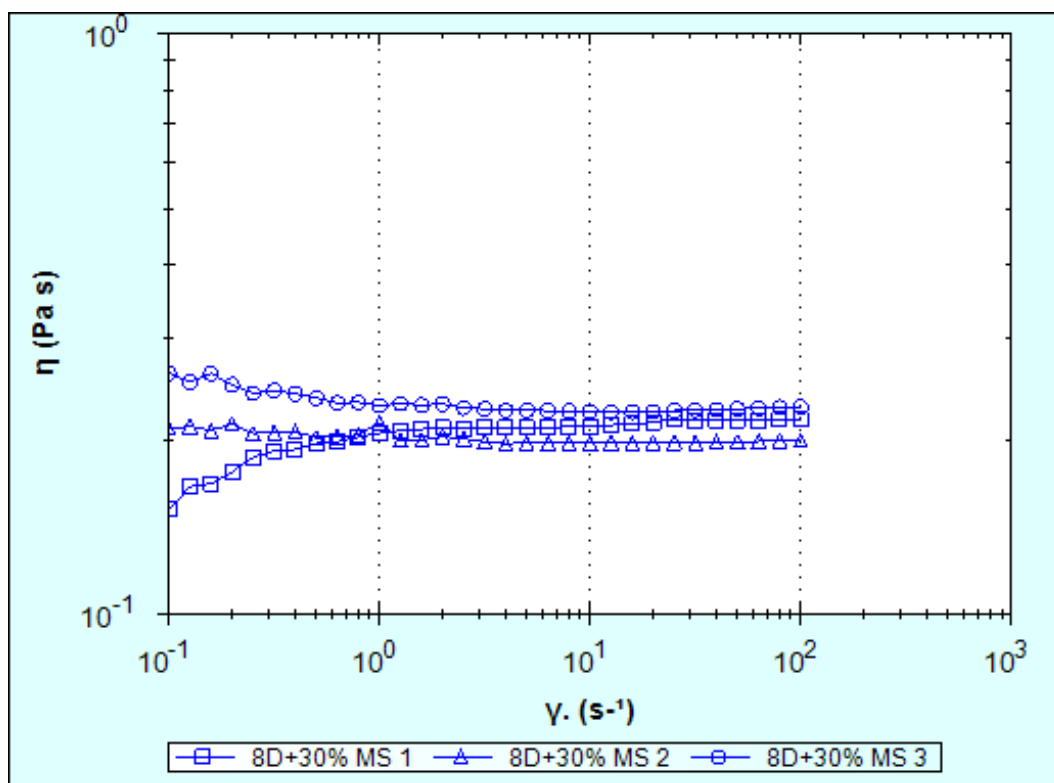
Obr. 24: Viskozitní křivka polyesteru 8D plastifikovaného 20 % MS při 80 °C



Tab. 7: Viskozita polymeru 8D plastifikovaného 20 % MS při 80 °C dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	0,616	0,619	0,9998	1,0000
2	0,615	0,688	0,9613	0,9997
3	0,655	0,701	0,9729	0,9999
Průměr	0,629	0,669	0,9780	
SD	0,023	0,044	0,0198	

Obr. 25: Viskozitní křivka polyesteru 8D plastifikovaného 30 % MS při 80 °C

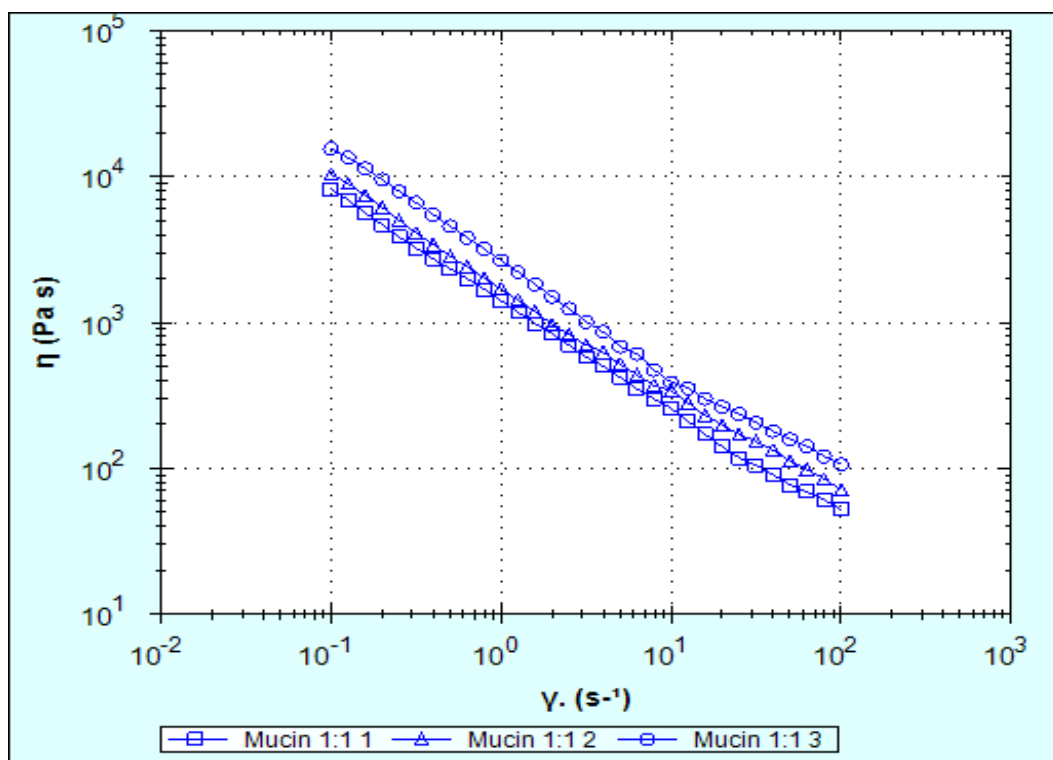


Tab. 8: Viskozita polymeru 8D plastifikovaného 30 % MS při 80 °C dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	0,210	0,194	1,0360	0,9997
2	0,197	0,204	0,9909	1,0000
3	0,223	0,236	0,9830	0,9999
Průměr	0,210	0,211	1,0033	
SD	0,013	0,022	0,0286	

7.3 Reologické chování mucinu

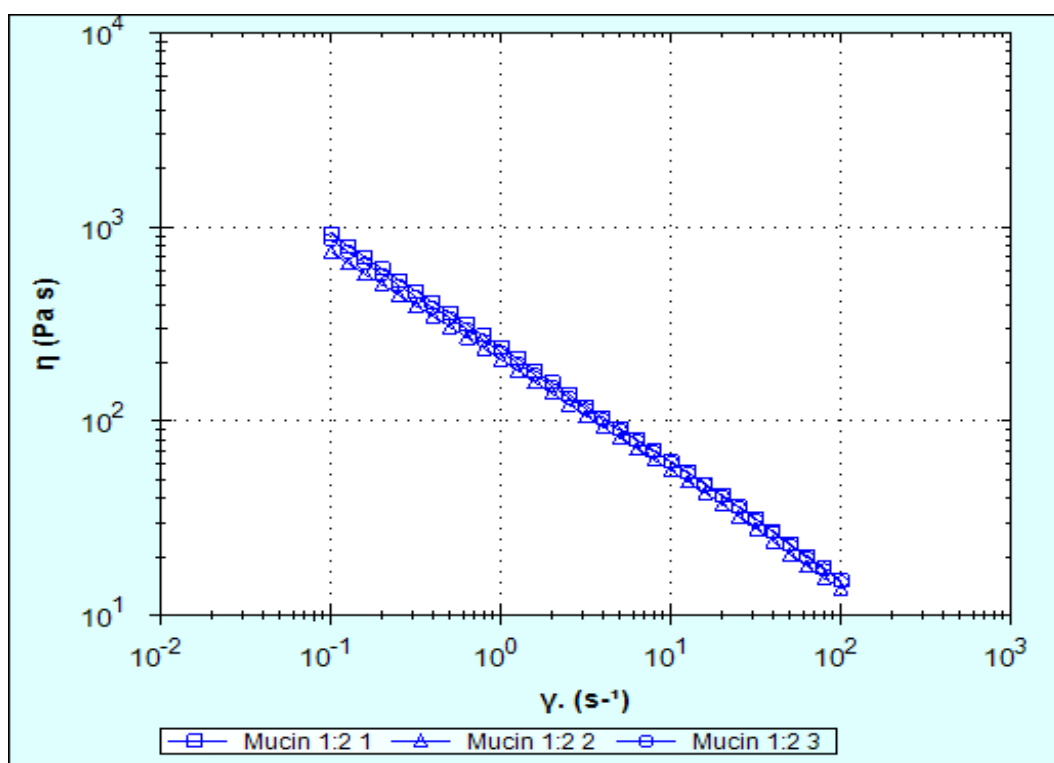
Obr. 26: Viskozitní křivka mucinu hydratovaného v poměru 1:1



Tab. 9: Viskozita hydratovaného mucinu (1:1) a korelace dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	258,100	1,405E+003	0,2585	0,9967
2	343,100	1,774E+003	0,2790	0,9923
3	389,000	2,650E+003	0,2525	0,9815
Průměr	330,070	1,943E+003	0,2633	
SD	66,420	639,474	0,0139	

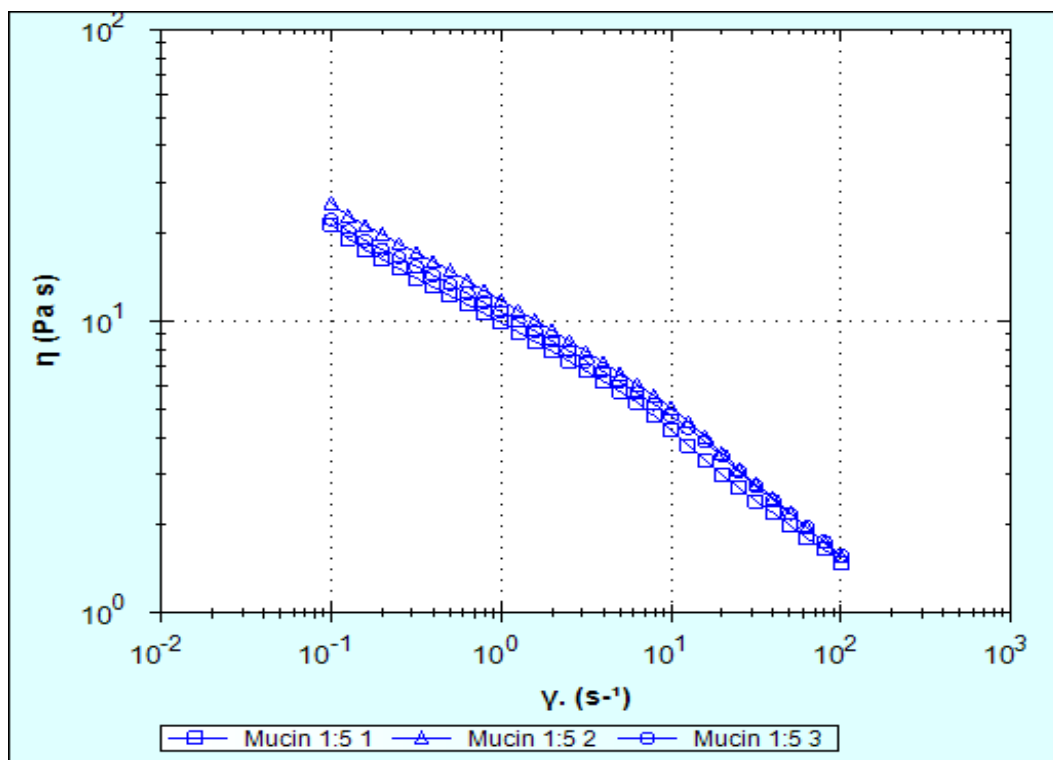
Obr. 27: Viskozitní křivka mucinu hydratovaného v poměru 1:2



Tab. 10: Viskozita hydratovaného mucinu (1:2) a korelace dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	62,120	204,200	0,4231	0,9996
2	55,590	226,500	0,4197	0,9997
3	61,230	238,200	0,4097	0,9999
Průměr	59,680	222,967	0,4175	
SD	3,560	17,273	0,0070	

Obr. 28: Viskozitní křivka mucinu hydratovaného v poměru 1:5

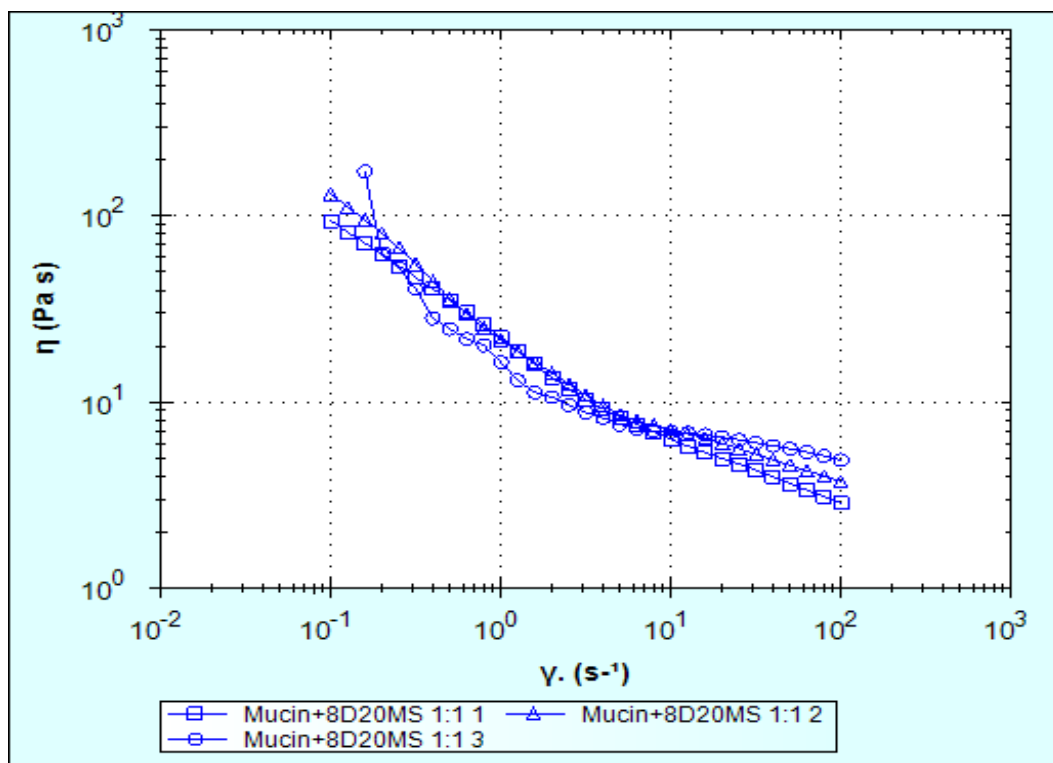


Tab. 11: Viskozita hydratovaného mucinu (1:5) a korelace dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	4,221	9,513	0,6186	0,9985
2	5,044	10,360	0,6233	0,9983
3	4,744	11,340	0,6038	0,9978
Průměr	4,660	10,404	0,6152	
SD	0,420	0,914	0,0102	

7.4 Reologické chování směsí polyesteru s mucinem

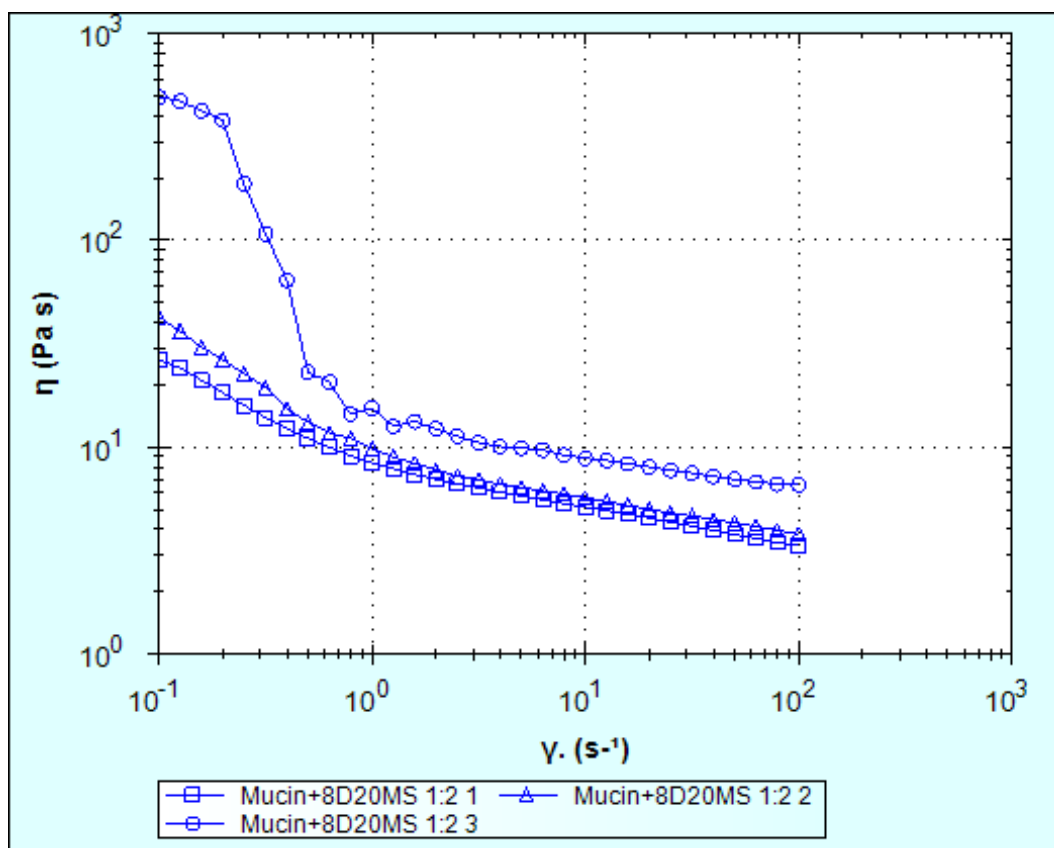
Obr. 29: Viskozitní křivka směsi mucin/polyester plastifikovaný 20 % MS v poměru 1:1



Tab. 12: Viskozita směsi mucin/polyester plastifikovaný 20 % MS v poměru 1:1 a korelace dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	6,318	23,570	0,4841	0,9886
2	7,118	26,850	0,4897	0,9717
3	6,907	26,620	0,4934	0,9726
Průměr	6,780	25,680	0,4891	
SD	0,410	1,831	0,0047	

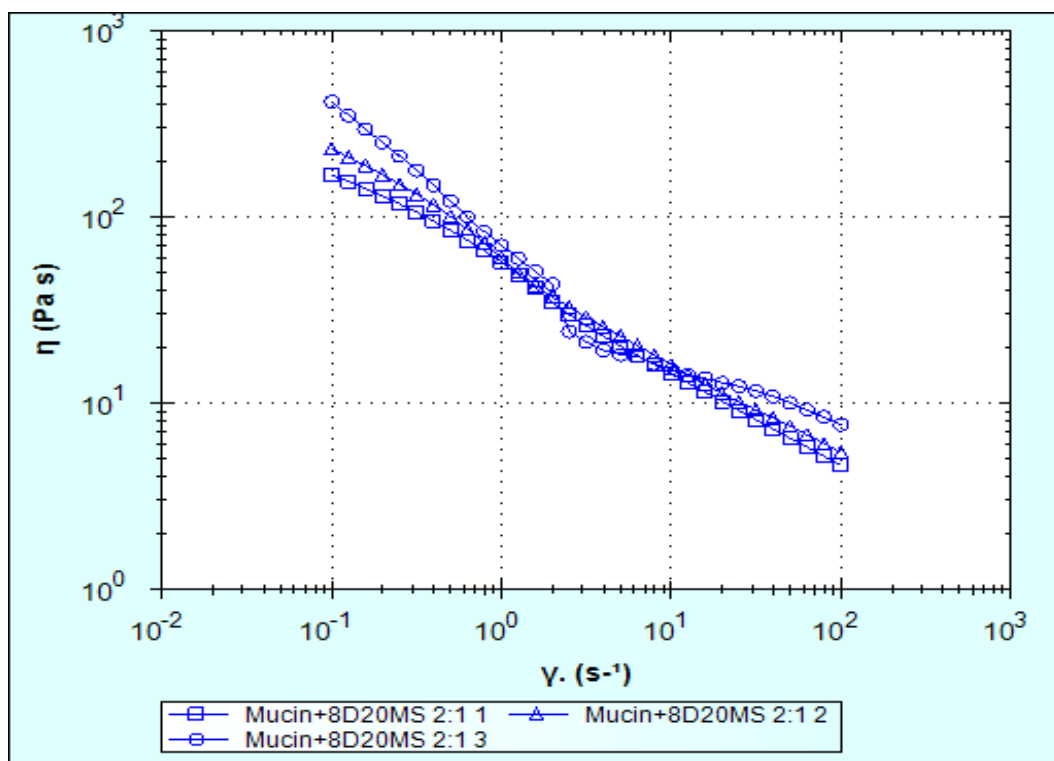
Obr. 30: Viskozitní křivka směsi mucin/polyester plastifikovaný 20 % MS v poměru 1:2



Tab. 13: Viskozita směsi mucin/polyester plastifikovaný 20 % MS v poměru 1:2 a korelace dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	5,131	10,060	0,7233	0,9953
2	5,684	12,550	0,6830	0,9886
3	8,844	40,000	0,4204	0,7556
Průměr	6,550	20,870	0,6089	
SD	2,000	16,614	0,1645	

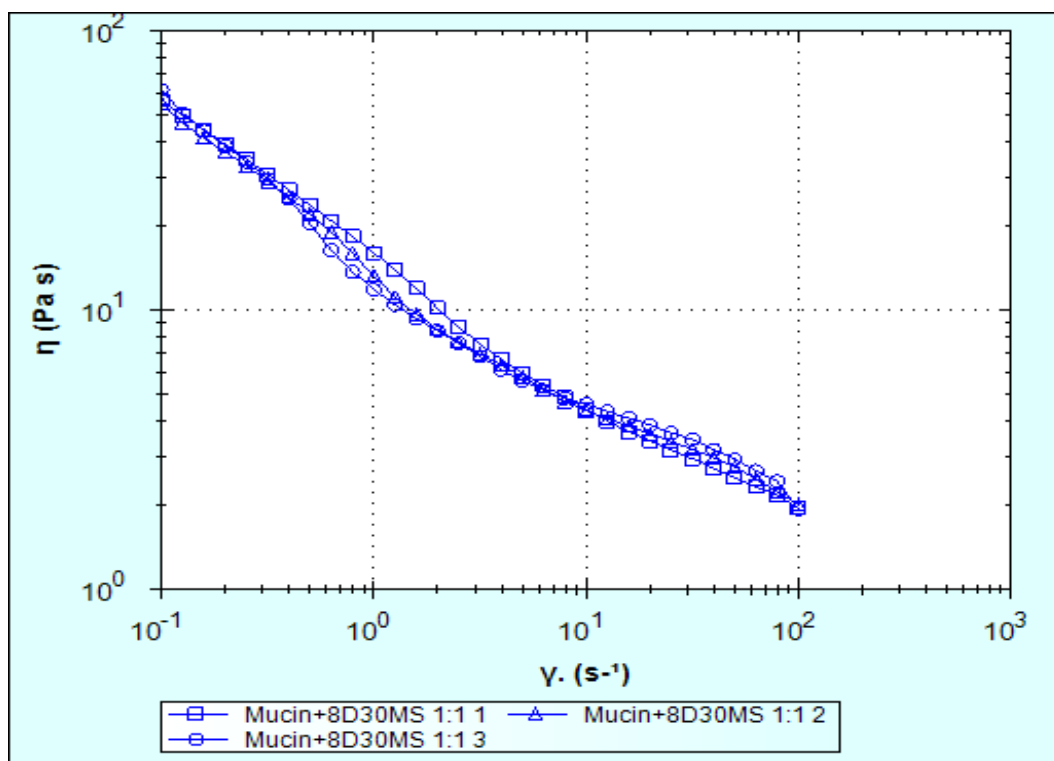
Obr. 31: Viskozitní křivka směsi mucin/polyester plastifikovaný 20 % MS v poměru 2:1



Tab. 14: Viskozita směsi mucin/polyester plastifikovaný 20 % MS v poměru 2:1 a korelace dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	14,380	53,140	0,4547	0,9979
2	16,070	62,730	0,4364	0,9954
3	15,230	75,610	0,4062	0,9433
Průměr	15,230	63,827	0,4324	
SD	0,850	11,275	0,0245	

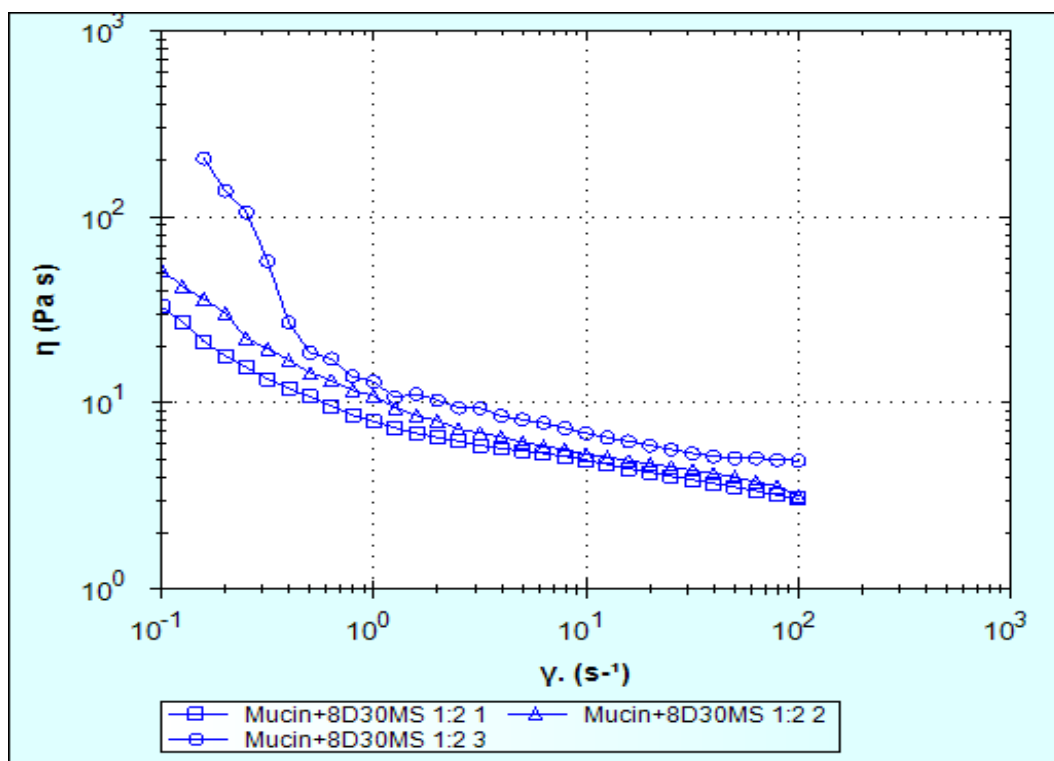
Obr. 32: Viskozitní křivka směsi mucin/polyester plastifikovaný 30 % MS v poměru 1:1



Tab. 15: Viskozita směsi mucin/polyester plastifikovaný 30 % MS v poměru 1:1 a korelace dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	4,413	14,860	0,5318	0,9849
2	4,365	14,870	0,5230	0,9902
3	4,599	15,990	0,4963	0,9938
Průměr	4,460	15,240	0,5170	
SD	0,120	0,650	0,0185	

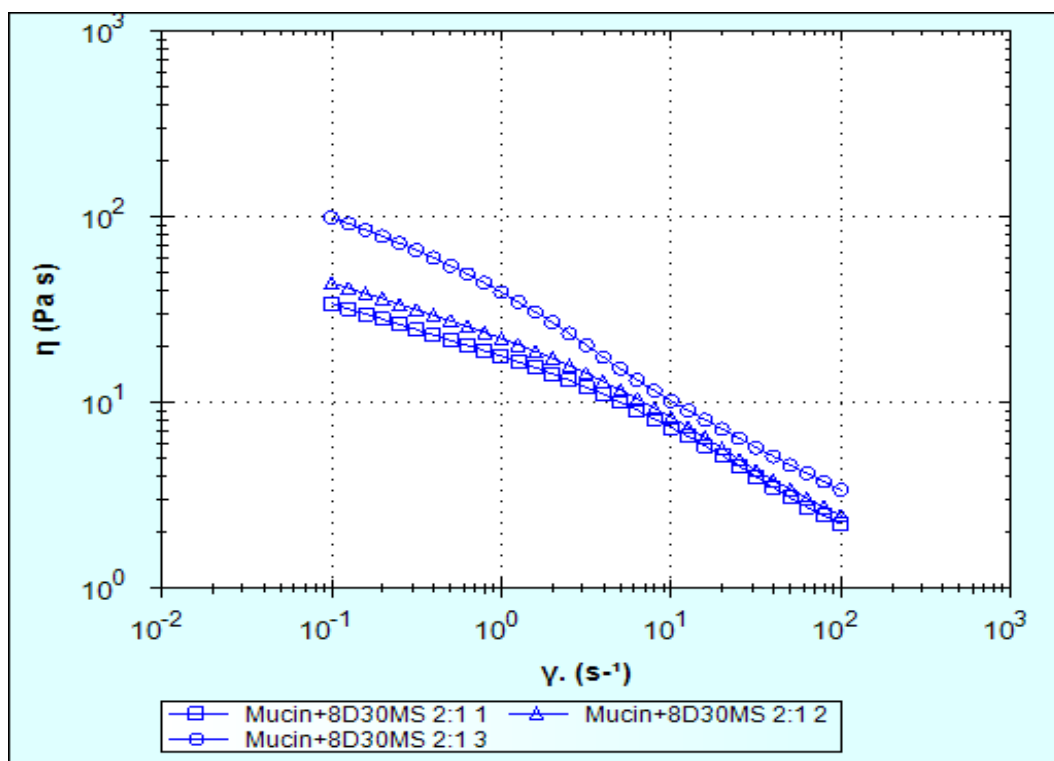
Obr. 33: Viskozitní křivka směsi mucin/polyester plastifikovaný 30 % MS v poměru 1:2



Tab. 16: Viskozita směsi mucin/polyester plastifikovaný 30 % MS v poměru 1:2 a korelace dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	4,926	9,874	0,7047	0,9923
2	5,292	13,210	0,6424	0,9864
3	6,887	26,840	0,4716	0,8531
Průměr	5,700	16,641	0,6062	
SD	1,040	8,988	0,1207	

Obr. 34: Viskozitní křivka směsi mucin/polyester plastifikovaný 30 % MS v poměru 2:1



Tab. 17: Viskozita směsi mucin/polyester plastifikovaný 30 % MS v poměru 2:1 a korelace dle mocninného modelu

	η_{10} (Pa.s)	K (Pa.s)	n	Corr.
1	7,318	16,470	0,6046	0,9959
2	8,297	20,250	0,5747	0,9957
3	10,190	35,470	0,4821	0,9977
Průměr	8,600	24,063	0,5538	
SD	1,460	10,058	0,0639	

7.6 Reologický synergismus

Tab. 18: Reologický synergismus polymeru 8D plastifikovaného 20 % MS a mucinu

Poměr M:PP	η_{10} PP	η_{10} M	η_{10} směs	η_b
1:1			6,780	1,491
1:2	0,629	4,660	6,550	1,261
2:1			15,230	9,941

Tab. 19: Reologický synergismus polymeru 8D plastifikovaného 30 % MS a mucinu

Poměr M:PP	η_{10} PP	η_{10} M	η_{10} směs	η_b
1:1			4,460	-0,410
1:2	0,210	4,660	5,700	0,830
2:1			8,600	3,730

M mucin hydratovaný fosfátovým pufrem pH 7,4 v poměru 1:5

PP polyester 8D plastifikovaný 20 % nebo 30 % methyl-salicylátu

směs PP a M v udaném poměru

η_{10} viskozita při rychlostním spádu 10 s^{-1} (Pa.s)

η_b hodnota reologického synergismu

7.7 Adhezivní test na reometru

Tab. 20: Adhezivní vlastnosti polymeru 3T

	Squeeze analysis		Pull off analysis		
	F (N)	Čas (s)	F (N)	Čas (s)	Plocha
1	18,63	2,06	0,82	0,22	973,00
2	18,24	2,10	0,0011*	1,23	970,80
3	18,20	2,11	0,0053*	1,07	975,40
Průměr	18,36	2,09	-	0,84	973,07
SD	0,24	0,03	-	0,54	2,30

* hodnoty nebyly měřitelné

Tab. 21: Adhezivní vlastnosti polymeru 8D

	Squeeze analysis		Pull off analysis		
	F (N)	Čas (s)	F (N)	Čas (s)	Plocha
1	9,69	2,46	6,68	0,41	600,40
2	9,32	2,42	6,37	0,39	640,80
3	2,82	2,35	5,07	0,30	701,20
Průměr	7,28	2,41	6,04	0,37	647,47
SD	3,86	0,06	0,85	0,06	50,73

Tab. 22: Adhezivní vlastnosti mucinu hydratovaného puřem pH 7,4 v poměru 1:2

	Squeeze analysis		Pull off analysis		
	F (N)	Čas (s)	F (N)	Čas (s)	Plocha
1	10,82	4,58	7,57	0,38	4,32
2	10,56	4,57	6,34	0,32	3,73
3	11,19	4,58	6,71	0,36	3,97
Průměr	10,86	4,58	6,87	0,35	4,01
SD	0,32	0,01	0,63	0,03	0,30

Tab. 23: Adhezivní vlastnosti mucinu hydratovaného puřem pH 7,4 v poměru 1:5

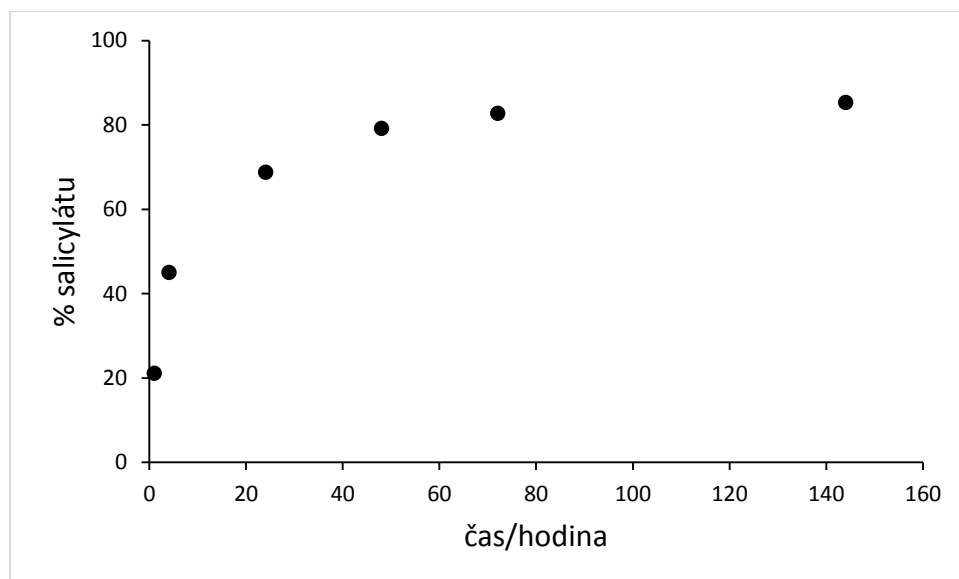
	Squeeze analysis		Pull off analysis		
	F (N)	Čas (s)	F (N)	Čas (s)	Plocha
1	1,18	3,04	1,28	0,99	0,19
2	1,10	3,12	1,28	0,88	0,19
3	1,09	3,21	1,30	0,89	0,20
Průměr	1,12	3,12	1,29	0,92	0,19
SD	0,05	0,09	0,01	0,06	0,01

7.8 Disoluce salicylátů

Tab. 24: Množství uvolněného salicylátu z plastifikovaného 8D s 10 % MS a 10 % SA

čas (h)	A	ředění	SA [mg]	SA [%]	průměr	kumulativní [%]
1	0,6471	20	7,3729	14,81	21,12	21,12
	0,6706	30	11,4741	22,77		
	0,7392	30	12,6847	25,78		
4	0,6945	30	11,8959	23,89	23,89	45,01
	0,6349	30	10,8441	21,52		
	0,7531	30	12,9300	26,28		
24	0,8652	25	12,4235	24,95	23,73	68,74
	0,9645	20	11,1071	22,04		
	1,033	20	11,9129	24,21		
48	0,4371	25	6,1279	12,31	10,44	79,19
	0,3688	25	5,1235	10,17		
	0,3169	25	4,3603	8,86		
72	0,418	10	2,3388	4,70	3,56	82,75
	0,285	10	1,5565	3,09		
	0,2636	10	1,4306	2,91		
144	0,5624	5	1,5941	3,20	2,57	85,32
	0,6508	5	1,8541	3,68		
	0,7119	1	0,4068	0,83		

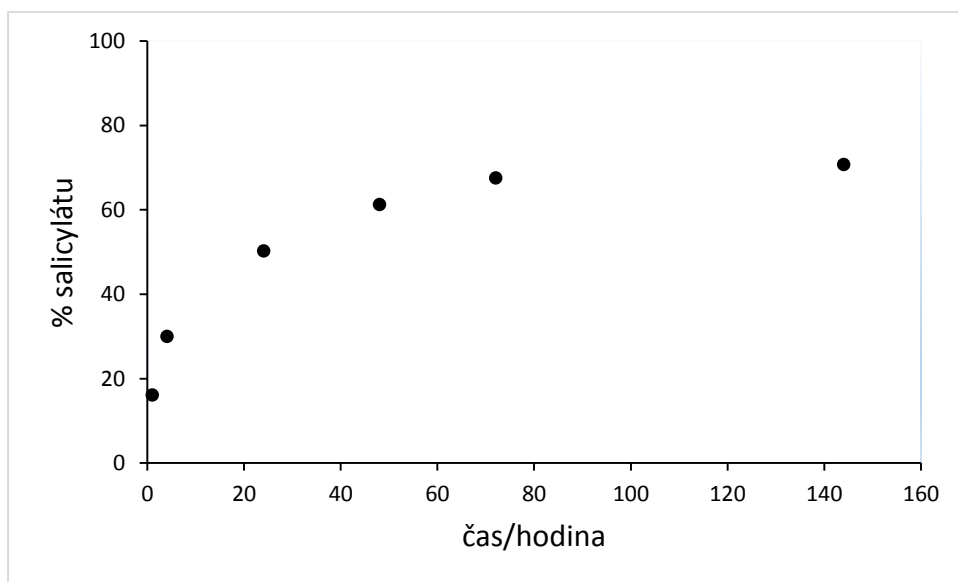
Obr. 35: Průběh liberace salicylátu z plastifikovaného 8D s 10 % MS a 10 % SA



Tab. 25: Množství uvolněného salicylátu z plastifikovaného 8D s 20 % MS a 10 % SA

čas (h)	A	ředění	SA [mg]	SA [%]	průměr	kumulativní [%]
1	0,8543	25	12,2632	16,03	16,12	16,12
	0,8204	30	14,1176	18,67		
	0,7089	25	10,1250	13,66		
4	0,9947	20	11,4624	14,98	13,89	30,01
	0,7843	20	8,9871	11,89		
	0,9517	20	10,9565	14,79		
24	1,0037	25	14,4603	18,90	20,23	50,24
	0,9292	25	13,3647	17,68		
	1,033	30	17,8694	24,12		
48	0,5109	30	8,6559	11,31	11,00	61,24
	0,463	30	7,8106	10,33		
	0,4972	30	8,4141	11,36		
72	0,7353	10	4,2053	5,50	6,28	67,52
	0,856	10	4,9153	6,50		
	0,8821	10	5,0688	6,84		
144	0,886	5	2,5459	3,33	3,20	70,72
	0,9186	6	3,1701	4,19		
	0,5408	5	1,5306	2,07		

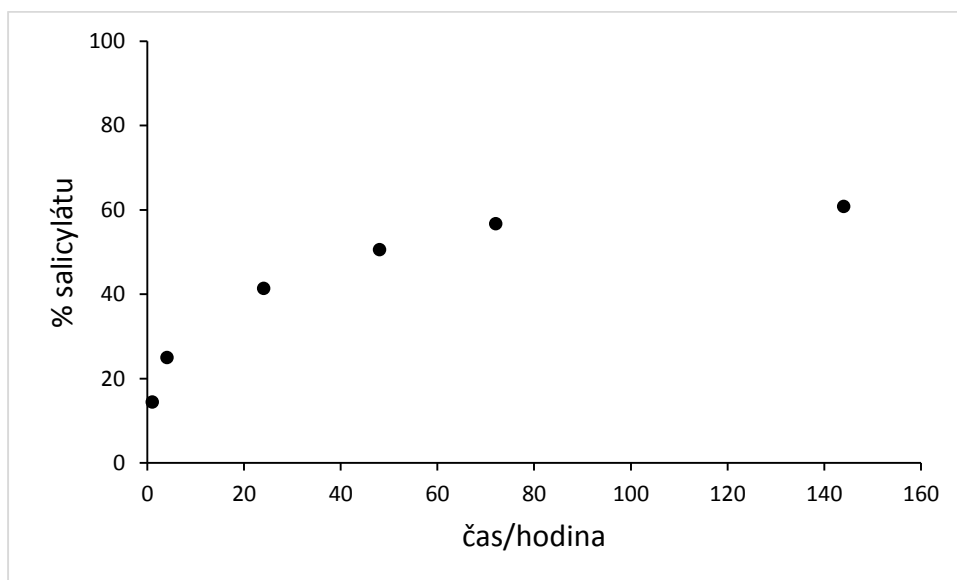
Obr. 36: Průběh liberace salicylátu z plastifikovaného 8D s 20 % MS a 10 % SA



Tab. 26: Množství uvolněného salicylátu z plastifikovaného 8D s 30 % MS a 10 % SA

čas (h)	A	ředění	SA [mg]	SA [%]	průměr	kumulativní [%]
1	0,7179	30	12,3088	12,31		14,49
	1,0393	30	17,9806	18,27	14,49	
	0,7531	30	12,9300	12,88		
4	0,9113	20	10,4812	10,48		25,01
	0,8127	20	9,3212	9,47	10,52	
	1,0109	20	11,6529	11,61		
24	1,0932	30	18,9318	18,93		41,35
	0,8348	30	14,3718	14,61	16,35	
	0,9026	30	15,5682	15,51		
48	0,7704	25	11,0294	11,03		50,60
	0,5943	25	8,4397	8,58	9,25	
	0,5761	25	8,1721	8,14		
72	0,5428	20	6,1459	6,15		56,69
	0,4714	20	5,3059	5,39	6,09	
	0,5942	20	6,7506	6,72		
144	0,9657	10	5,5606	5,56		60,83
	1,0098	5	2,9100	2,96	4,14	
	0,6885	10	3,9300	3,91		

Obr. 37: Průběh liberace salicylátu z plastifikovaného 8D s 30 % MS a 10 % SA



8 DISKUZE

V rámci experimentální části této diplomové práce byly formulovány tenké filmy na bázi polyesterů kyseliny D,L – mléčné a glykolové, větvené dipentaerythritolem (8D) nebo tripentaerythritolem (3T), plastifikované methyl-salicylátem, s inkorporovanou kyselinou salicylovou. Polyestery byly syntetizovány metodou stupňové kopolymerace ekvimolárního množství kyselin D, L mléčné a glykolové za přidání větvicích monomerů o různé koncentraci. Výsledkem syntézy byly větvené kopolymery hvězdicové struktury (star-like), které se díky různému typu větvicí složky a koncentraci v reakční směsi liší molární hmotností a stupněm větvení.[66] Byly studovány adhezivní vlastnosti tenkých filmů na mucin z prasečích žaludků a sledován průběh liberace kyseliny salicylové.

8.1 Viskozita polyesterů

Byla měřena dynamická viskozita pomocí absolutního rotačního viskozimetru Kinexus Pro⁺ v rozsahu rychlostního spádu 0,1 až 100,0 s⁻¹. Polyestery 3T a 8D jsou amorfní materiály, za běžných podmínek velmi tvrdé a křehké. I přes relativně nízkou hodnotu teploty skelného přechodu (Tab. 2) jsou obtížně zpracovatelné. Jejich viskozita byla měřena při teplotě 80 °C. Nanesení vzorku na dolní geometrii bylo usnadněno předeřtáním geometrie na 90 °C. Pro hodnocení tokových vlastností polyesterů byl v softwaru přístroje zvolen test *Viscometry_0010 Table of shear rates with Power law model fit*. Byly získány rovnovážné tokové a viskozitní křivky (Obr. 21 a 22) a vyhodnoceny podle mocninné rovnice (Tab. 4-5). Dle hodnot indexu tokového chování $n \sim 1$ lze taveniny polyesterů hodnotit jako newtonské soustavy s konstantní viskozitou nezávislou na rychlostním spádu. Newtonský typ toku potvrzují i přibližně stejné hodnoty K a η_{10} , tedy viskozity při rychlostním spádu 1 s⁻¹ resp. 10 s⁻¹. Polyester 8D má přibližně 40 krát nižší viskozitu v porovnání s polymerem 3T, což je důsledek nižší molární hmotnosti (Tab. 2).

Častým a efektivním způsobem, jak snížit viskozitu polymerního systému je použití plastifikátorů. Na základě výsledků předešlých prací byl pro plastifikaci použit methyl-salicylát v koncentracích 10 %, 20 % a 30 %. [67]. Viskozita plastifikovaných polyesterů byla hodnocena stejně jako viskozita tavenin polyesterů. Z grafů (Obr. 23-25) vytvořených na základě hodnot dynamické viskozity plastifikovaného polyesteru 8D lze vyčíst, že se polymerní soustava jeví při všech třech koncentracích methyl-salicylátu jako newtonská, to znamená, že viskozita zůstává vlivem rychlostního spádu neměnná. Přídavkem plastifikátoru dochází ke snížení odporu k tečení. Snížení odporu k tečení je

dáno tím, že plastifikátor obalí celé molekuly polymeru, čímž dojde ke zvětšení vzdálenosti mezi molekulami a oslabení intermolekulárních sil. S rostoucí koncentrací methyl-salicylátu se viskozita plastifikované soustavy snižuje (Tab. 6-8). Pro testování adhezivních vlastností plastifikovaných polyesterů byly zvoleny koncentrace methyl-salicylátu 20 % a 30 %.

8.2 Viskozita mucinu a jeho směsí s plastifikovaným 8D

Mucin z prasečích žaludků byl pro experiment zvolen jako modelový substrát pro testování mukoadhezivních vlastností z důvodu fyziologických podobností s lidským mucinem. Gen MUC5A4 exprimovaný v lidské žaludeční mukóze a homologní s genem v prasečí mukóze, se u člověka vyskytuje i ve sliznici dýchacích cest. Tento podklad lze tedy použít i při testování adheze léčivých přípravků pro léčbu cystické fibrózy a CHOPN. [68] Mucin je glykoprotein o vysoké molární hmotnosti, jehož viskoelastické vlastnosti jsou ovlivněny hodnotou pH.

Mucin z prasečích žaludků, komerčně dostupný ve formě dehydratovaného prášku, byl nejprve hydratován fosfátovým pufrům pH 7,4 ve třech různých poměrech (mucinu : pufr) 1:1, 1:2 a 1:5. Viskozita hydratovaného mucinu byla měřena opět testem *Viscometry_0010 Table of shear rates with Power law model fit* za stejných podmínek, s výjimkou teploty, která byla nastavena na 25 °C. Z průběhu viskozitních křivek (Obr. 26-28) všech tří vzorků je patrné, že disperze mucinu jsou newtonské soustavy. V závislosti na měnícím se rychlostním spádu se mění i viskozita systému. Z hodnot indexu tokového chování n vyplývá (Tab. 9-11), že se jedná o pseudoplastické soustavy. Významný pokles viskozity s rostoucím rychlostním spádem demonstrují hodnoty n výrazně nižší než jedna a rozdíl ve viskozitě vzorků při rychlostním spádu 1 s^{-1} a rychlostním spádu 10 s^{-1} . Viskozita disperzí mucinu klesá se zvyšující se hydratací mucinu. Viskozita disperze mucinu je výsledkem odolnosti tečení jednotlivých segmentů řetězce, jejich zapletení a také nekovalentních intermolekulárních interakcí jako jsou elektrostatické, vodíkové a hydrofobní vazby.

Na základě hodnot viskozity mucinu hydratovaného různým množstvím pufru, byla jako podklad pro testování adhezivních vlastností plastifikovaných polyesterů vybrána směs mucinu a pufru pH 7,4 v poměru 1:5 s nejnižší hodnotou viskozity. Vzorky polymeru 8D plastifikované 20 % a 30 % MS byly zahřáty na teplotu 40 °C a poté byly smíchány s mucinem v poměru 1:1, 1:2 a 2:1. Bylo hodnoceno reologické chování těchto směsí testem *Viscometry_0010 Table of shear rates with Power law model fit*.

Při smísení stejného množství hydratovaného mucinu a plastifikovaného polyesteru a v případě nadbytku mucinu byly vzorky homogenní a variabilita opakovaných testů byla nízká (Obr. 29, 31, 32, 34). Problém nastal při reologickém hodnocení směsi mucinu a polymeru v poměru 1:2. Tyto vzorky byly pro reologické testy nehomogenní a opakovaná měření vykazovala vysokou variabilitu (Obr. 30 a 33), zejména při koncentraci plastifikátoru 20 % (Tab. 13). Podle předpokladu měly nižší viskozitu směsi obsahující vyšší koncentraci plastifikátoru. Co se týká poměru mucinu a polymeru, vyšší viskozita byla zjištěna při nadbytku mucinu. Nadbytkem mucinu dochází ke změně tvaru nebo uspořádání makromolekul, například makromolekulární komplexací, prodloužením trojrozměrné konfigurace mucinu nebo zesíťováním mucinu.

8.3 Reologický synergismus

Hodnoty reologického synergismu η_b byly vypočítány dle rovnice (8) z hodnot viskozit η_{10} polymeru plastifikovaného 20 % a 30 % methyl-salicylátu (PP), mucinu hydratovaného puřrem 1:5 (M) a směsi těchto složek v poměru 1:1, 1:2 a 2:1.

Všechny směsi kromě 8D+30 % MS/mucin 1:1 vykazovaly kladné hodnoty synergismu, a tedy adhezivní vlastnosti. Vyšší adhezivitu prokázala série vzorků obsahující polymerní systém s nižší koncentrací methyl-salicylátu (20 % MS), tedy vyšší dynamickou viskozitou. Nejvyšší hodnoty synergismu byly zjištěny u vzorků obsahujících v nadbytku mucin. Převažovala-li ve směsi polymerní složka nad mucinem, docházelo k oslabení adhezivní síly. To mohlo být způsobeno zhoršením interpenetrace polymeru do mucinové vrstvy z důvodu snížení pružnosti a mobility polymerních řetězců. Záporná synergistická hodnota 8D+30 % MS/mucin 1:1 je způsobena tím, že mezi molekulami polymeru a/nebo molekulami mucinu existují silnější interakce než v jejich směsi, vzorek vykazuje vyšší kohezivní síly než adhezivní.

8.4 Adhezní test polyesterů a hydratovaného mucinu

Na testování bioadheze a mukoadheze farmaceutických pomocných látek a léčivých přípravků neexistuje standardní test. Nejčastěji se při *in vitro* testování adhezivních vlastností využívají metody založené na tahové zkoušce, u kterých lze exaktně specifikovat podmínky měření, zejména kontaktní dobu, kontaktní sílu, rychlost posunu kontaktní plochy, popř. i teplotu. Obvykle se k vyjádření adhezivních vlastností používají dva parametry: adhezní práce a maximální síla. [69]

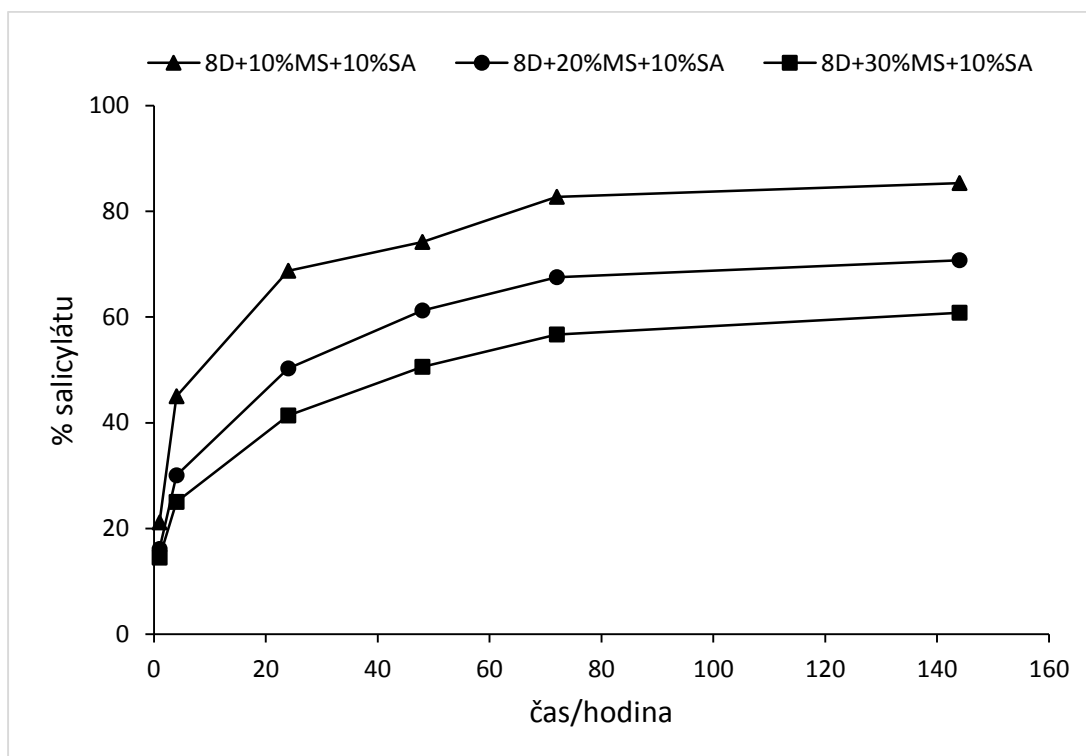
V předložené práci byly adhezivní vlastnosti testovány na absolutním reometru testem *Squeeze and pull off test with analysis*, který byl použit již v předešlých pracích [70]. Ve fázi stlačení (*squeeze phase*) byly zaznamenány síla a čas, potřebné k rozprostření materiálu na danou tloušťku vrstvy. Ve fázi odlehčení (*pull off*) byla zaznamenána maximální síla potřebná k odtržení testovaného materiálu od substrátu, plocha pod křivkou normálová síla-čas charakterizující adhezivní síly a kohezivní síly v materiálu, a čas potřebný k tomu, aby se adhezivní síla snížila o 90 % (čas k odlehčení). Výsledky adhezivního testu polyesteru 8D a 3T jsou uvedeny v Tabulce 20 a 21. Na základě hodnot maximální síly potřebné k odtržení lze konstatovat, že vyšší adhezivitu má polyester 8D, a to díky nižší viskozitě a tím lepšímu rozprostření na spodní kontaktní ploše. Tyto výsledky potvrzují dříve realizované testy adheze jiných typů větvených polyesterů [71]. Na absolutním reometru byla testována rovněž adhezivita mucinu hydratovaného různým množstvím fosfátového pufu pH 7,4. Byla zjištěna přímá úměra mezi adhezivní silou a dynamickou viskozitou. Mucin hydratovaný v poměru 1:2 má vyšší hodnotu viskozity, a tím i větší adhezivní sílu než disperze 1:5 o nižší hodnotě viskozity (Tab. 22 a 23).

8.5 Liberace salicylátu z tenkého filmu

Byl zjišťován průběh liberace salicylátu z tenkého filmu definované plochy a tloušťky. Polymerní film byl tvořen polyesterem 8D plastifikovaným methyl-salicylátem v koncentraci 10 %, 20 % nebo 30 %, do kterého bylo inkorporováno 10 % kyseliny salicylové. Výhodou využití methyl-salicylátu jako plastifikující složky je kromě snížení viskozity polymerního systému, zlepšení zpracovatelnosti a aplikace a zvýšení adhezivity i to, že v těle působí jako prekurzor účinné kyseliny salicylové. Liberace léčiva z větveného polyesteru kyseliny mléčné a glykolové je založena na kontinuální degradaci hydrolýzou esterových vazeb. Polyester 8D díky své nižší molární hmotnosti a větvené struktuře degraduje v porovnání s komerčně dostupnými lineárními Resomery rychleji, a tím je i kratší doba liberace inkorporovaných léčiv. Množství uvolněného salicylátu uvádí Tab. 24-26 a průběhy liberace Obr. 35 – 37. Na disolučních křivkách nebylo pozorováno počáteční zpoždění disoluce, tzv. *lag-time*. Pro polymerní nosiče o nízké molární hmotnosti je naopak typický *burst efekt*, kdy se na počátku liberace uvolňuje léčivo rychleji. Z tenkého filmu s obsahem 10 % MS se během 24 hodin uvolnilo přibližně 70 % kyseliny salicylové, při obsahu 20 % MS přibližně 50 % salicylátu, zatímco z tenkého filmu plastifikovaného 30 % MS se uvolnilo přibližně 40 %

kyseliny salicylové. Rovněž celkové množství uvolněného léčiva klesalo s rostoucí koncentrací MS (Obr. 38). Toto zjištění je překvapivé, neboť se předpokládalo, že s rostoucí koncentrací plastifikátoru, a tím klesající viskozitou systému, bude liberace salicylátu rychlejší. Důvodem může být skutečnost, že při vyšším obsahu salicylátů v polymerní soustavě nemusí už být kyselina salicylová molekulárně dispergovaná, ale suspendovaná v amorfní formě, nebo může docházet vlivem přesycení k její krystalizaci, a tím zpomalení disoluce.

Obr. 38: Liberace salicylátu z plastifikovaného polymerního nosiče 8D



9 ZÁVĚR

Větvené PLGA polyestery jsou newtonské soustavy s vysokou viskozitou. Jejich tokové a adhezivní vlastnosti jsou dány molární hmotností a stupněm větvení. Obecně lze říci, že čím vyšší je molární hmotnost polymeru a nižší stupeň větvení, tím je viskozita vyšší. Vysoké hodnoty viskozity mohou být limitující pro adhezivitu, protože polymer nepřilne k substrátu. Methyl-salicylát je vhodným plastifikátorem pro větvené polyestery. Je dobře mísitelný s taveninou polyesteru za vzniku homogenní směsi. S rostoucí koncentrací plastifikátoru se snižuje dynamická viskozita polyesteru. Pro úpravu tokových vlastností je dostatečná koncentrace methyl-salicylátu 10 %. Mucin z prasečích žaludků hydratovaný fosfátovým pufrům pH 7,4 vykazuje pseudoplastický tok a pokles viskozity při zvyšující se hydrataci. Síla adheze léčivého přípravku na sliznici závisí na viskozitě mucinu v místě aplikace. Jako modelový substrát pro testování mukoadheze lze doporučit směs mucinu a pufru v poměru 1:5. Mukoadhezivní vlastnosti plastifikovaného polyesteru lze hodnotit metodou reologického synergismu testovaného adheziva a mucinu. Nejvyšší adheze byla zjištěna v případě nadbytku mucinu. Převažují-li polymerní soustava nad mucinem, dochází k oslabení adhezivní síly. Pro dosažení vyšší mukoadheze a delší doby liberace léčiva je tedy efektivnější aplikovat malé množství polymerní soustavy v tenké vrstvě. Rychlost liberace a celkové množství salicylátu uvolněného z polymerního filmu klesá s viskozitou a roste s adhezivitou soustavy k substrátu. Změnou viskozity mukoadhezivního přípravku s ohledem na viskozitu mucinu v místě aplikace lze modifikovat rychlost liberace léčiva.

10 SEZNAM LITERATURY

1. Vert, M.; Doi, Y.; Hellwich, K.-H.; Hess, M.; Hodge, P.; Kubisa, P.; Rinaudo, M.; Schué, F. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure Appl. Chem.* 2012, *84*, 377–410.
2. Ahuja, A.; Khar, R.K.; Ali, J. Mucoadhesive Drug Delivery Systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1997, *23*, 489–515.
3. Peppas, N.A.; Buri, P.A. Surface, interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues. *J. Control. Release* 1985, *2*, 257–275.
4. Madsen, F.; Eberth, K.; Smart, J.D. A rheological examination of the mucoadhesive/mucus interaction: The effect of mucoadhesive type and concentration. *J. Control. Release* 1998, *50*, 167–178.
5. Martins, A.L.L.; de Oliveira, A.C.; do Nascimento, C.M.O.L.; Silva, L.A.D.; Gaeti, M.P.N.; Lima, E.M.; Taveira, S.F.; Fernandes, K.F.; Marreto, R.N. Mucoadhesive Properties of Thiolated Pectin-Based Pellets Prepared by Extrusion-Spheronization Technique. *J. Pharm. Sci.* 2017, *106*, 1363–1370.
6. Donnelly, R.; Shaikh, R.; Raj Singh, T.; Garland, M.; Woolfson, Ad. Mucoadhesive drug delivery systems. *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2011, *3*, 89.
7. Lee, J.W.; Park, J.H.; Robinson, J.R. Bioadhesive-Based Dosage Forms: The Next Generation. *J. Pharm. Sci.* 2000, *89*, 850–866.
8. HäGerström, H.; Edsman, K.; Strømme, M. Low-Frequency Dielectric Spectroscopy as a Tool for Studying the Compatibility between Pharmaceutical Gels and Mucous Tissue. *J. Pharm. Sci.* 2003, *92*, 1869–1881.
9. Smart, J. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2005, *57*, 1556–1568.
10. Mansuri, S.; Kesharwani, P.; Jain, K.; Tekade, R.K.; Jain, N.K. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. *React. Funct. Polym.* 2016, *100*, 151–172.
11. Mathiowitz, E.; Chickering, D.E.; Lehr, C.-M. Bioadhesive drug delivery systems : fundamentals, novel approaches, and development; Informa healthcare, 1999; ISBN 1420001345.
12. Boddupalli, B.M.; Mohammed, Z.N.K.; Nath, R.A.; Banji, D. Mucoadhesive drug delivery system: An overview. *J. Adv. Pharm. Techn. Res.* 2010, *1*, 381–7.
13. Peppas, N.A.; Sahlin, J.J. Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials:

- a review. *Biomaterials* 1996, 17, 1553–1561.
14. Duchene, D.; Ponchel, G. Principle and investigation of the bioadhesion mechanism of solid dosage forms. *Biomaterials* 1992, 13, 709–714.
 15. Lohani, A.; Chaudhary, G. Mucoadhesive microspheres: A novel approach to increase gastroretention. *Chronicles Young Sci.* 2012, 3, 121.
 16. Andrews, G.P.; Laverty, T.P.; Jones, D.S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2009, 71, 505–518.
 17. Huang, Y.; Leobandung, W.; Foss, A.; Peppas, N.A. *Molecular aspects of muco- and bioadhesion: Tethered structures and site-specific surfaces.* *J. Control. Release.* 2000, 65, 63-71.
 18. Kinloch, A.J. The science of adhesion. *J. Mater. Sci.* 1980, 15, 2141–2166.
 19. Woertz, C.; Preis, M.; Breitreutz, J.; Kleinebudde, P. Assessment of test methods evaluating mucoadhesive polymers and dosage forms: An overview. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2013, 85, 843–853.
 20. Cook, S.L.; Bull, S.P.; Methven, L.; Parker, J.K.; Khutoryanskiy, V. V. Mucoadhesion: A food perspective. *Food Hydrocoll.* 2017, 72, 281–296.
 21. Mansuri, S.; Kesharwani, P.; Jain, K.; Tekade, R.K.; Jain, N.K. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. *React. Funct. Polym.* 2016, 100, 151–172.
 22. Ramesha Chary, R.B.; Vani, G.; Rao, Y.M. In Vitro and In Vivo Adhesion Testing of Mucoadhesive Drug Delivery Systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1999, 25, 685–690.
 23. Kremser, C.; Albrecht, K.; Greindl, M.; Wolf, C.; Debbage, P.; Bernkop-Schnürch, A. In vivo determination of the time and location of mucoadhesive drug delivery systems disintegration in the gastrointestinal tract. *Magn. Reson. Imaging* 2008, 26, 638–643.
 24. Riley, R.G.; Green, K.L.; Smart, J.D.; Tsibouklis, J.; Alf Davis, J.; Hampson, F.; Dettmar, P.W.; Wilber, W.R. The gastrointestinal transit profile of ¹⁴C-labelled poly(acrylic acids): *Biomaterials* 2001, 22, 1861–1867.
 25. Ch'Ng, H.S.; Park, H.; Kelly, P.; Robinson, J.R. Bioadhesive Polymers as Platforms for Oral Controlled Drug Delivery II: Synthesis and Evaluation of Some Swelling, Water-Insoluble Bioadhesive Polymers. *J. Pharm. Sci.* 1985, 74, 399–405.
 26. Peppas, N.A.; Sahlin, J.J. Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials:

- a review. *Biomaterials* 1996, 17, 1553–1561.
27. Nakamura, F. In vitro and in vivo nasal mucoadhesion of some water-soluble polymers. *Int. J. Pharm.* 1996, 134, 173–181.
 28. Harris, D.; Fell, J.T.; Sharma, H.L.; Taylor, D.C. GI transit of potential bioadhesive formulations in man: A scintigraphic study. *J. Control. Release* 1990, 12, 45–53.
 29. Davis, S.S.; Robertson, C.; Wilding, I.R. Gastrointestinal transit of a multiparticulate tablet formulation in patients with active ulcerative colitis. *Int. J. Pharm.* 1991, 68, 199–204.
 30. Meseguer, G.; Gurny, R.; Buri, P. In Vivo Evaluation of Dosage Forms: Application of Gamma Scintigraphy to Non-enteral Routes of Administration. *J. Drug Target.* 1994, 2, 269–288.
 31. Kaur, A.; Kaur, G. Mucoadhesive buccal patches based on interpolymer complexes of chitosan–pectin for delivery of carvedilol. *Saudi Pharm. J.* 2012, 20, 21–27.
 32. Santos, C.; Jacob, J.; Hertzog, B.; Freedman, B.; Press, D.; Harnpicharnchai, P.; Mathiowitz, E. Correlation of two bioadhesion assays: the everted sac technique and the CAHN microbalance. *J. Control. Release* 1999, 61, 113–122.
 33. Carvalho, F.C.; Barbi, M.S.; Sarmiento, V.H. V.; Chiavacci, L.A.; Netto, F.M.; Gremião, M.P.D. Surfactant systems for nasal zidovudine delivery: structural, rheological and mucoadhesive properties. *J. Pharm. Pharmacol.* 2010, 62, 430–439.
 34. Hassan, E.E.; Gallo, J.M. A Simple Rheological Method for the in Vitro Assessment of Mucin-Polymer Bioadhesive Bond Strength. *Pharm. Res. An Off. J. Am. Assoc. Pharm. Sci.* 1990, 7, 491–495.
 35. Carvalho, F.C.; Bruschi, M.L.; Evangelista, R.C.; Gremião, M.P.D. Mucoadhesive drug delivery systems. *Brazilian J. Pharm. Sci.* 2010, 46, 1–17.
 36. Callens, C.; Ceulemans, J.; Ludwig, A.; Foreman, P.; Remon, J.P. Rheological study on mucoadhesivity of some nasal powder formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2003, 55, 323–328.
 37. Madsen, F.; Eberth, K.; Smart, J.D. A rheological assessment of the nature of interactions between mucoadhesive polymers and a homogenised mucus gel. *Biomaterials* 1998, 19, 1083–1092.
 38. Riley, R.G.; Smart, J.D.; Tsibouklis, J.; Dettmar, P.W.; Hampson, F.; Davis,

- J.A.; Kelly, G.; Wilber, W.R. An investigation of mucus/polymer rheological synergism using synthesised and characterised poly(acrylic acid)s. *Int. J. Pharm.* 2001, *217*, 87–100.
39. Hägerström, H.; Edsman, K. Limitations of the rheological mucoadhesion method: The effect of the choice of conditions and the rheological synergism parameter. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2003, *18*, 349–357.
40. Hägerström, H.; Paulsson, M.; Edsman, K. Evaluation of mucoadhesion for two polyelectrolyte gels in simulated physiological conditions using a rheological method. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2000, *9*, 301–309.
41. Why Peel Strength Tester is Backbone of E-commerce Packaging? | Testing Equipments Available online: <https://www.prestogroup.com/blog/why-peel-strength-tester-is-backbone-of-e-commerce-packaging/> (accessed on Mar 14, 2019).
42. Metia, P.K.; Bandyopadhyay, A.K. In Vitro Evaluation of Novel Mucoadhesive Buccal Tablet of Oxytocin Prepared with Diospyros Peregrina Fruits Mucilages. *YAKUGAKU ZASSHI* 2008, *128*, 603–609.
43. Wokovich, A.; Prodduturi, S.; Doub, W.; Hussain, A.; Buhse, L. Transdermal drug delivery system (TDDS) adhesion as a critical safety, efficacy and quality attribute. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2006, *64*, 1–8.
44. McCarron, P.A.; Donnelly, R.F.; Zawislak, A.; Woolfson, A.D.; Price, J.H.; McClelland, R. Evaluation of a water-soluble bioadhesive patch for photodynamic therapy of vulval lesions. *Int. J. Pharm.* 2005, *293*, 11–23.
45. Malvern Instruments Application Note, A. *Determination of pressure sensitive tack and adhesion using axial measurements on a rotational rheometer*; 2015;
46. Khutoryanskiy, V. V. Advances in Mucoadhesion and Mucoadhesive Polymers. *Macromol. Biosci.* 2011, *11*, 748–764.
47. Landová, H.; Daněk, Z.; Gajdziok, J.; Vetchý, D.; Štembírek, J. Mucoadhesive films as perspective oral dosage form. *Ceska. Slov. Farm.* 2013, *62*, 4–11.
48. Ceulemans, J.; Vermeire, A.; Adriaens, E.; Remon, J.P.; Ludwig, A. Evaluation of a mucoadhesive tablet for ocular use. *J. Control. Release* 2001, *77*, 333–344.
49. Bigucci, F.; Luppi, B.; Cerchiara, T.; Sorrenti, M.; Bettinetti, G.; Rodriguez, L.; Zecchi, V. Chitosan/pectin polyelectrolyte complexes: Selection of suitable preparative conditions for colon-specific delivery of vancomycin. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2008, *35*, 435–441.

50. Abruzzo, A.; Cerchiara, T.; Bigucci, F.; Gallucci, M.C.; Luppi, B. Mucoadhesive Buccal Tablets Based on Chitosan/Gelatin Microparticles for Delivery of Propranolol Hydrochloride. *J. Pharm. Sci.* 2015, *104*, 4365–4372.
51. Aka-Any-Grah, A.; Bouchemal, K.; Koffi, A.; Agnely, F.; Zhang, M.; Djabourov, M.; Ponchel, G. Formulation of mucoadhesive vaginal hydrogels insensitive to dilution with vaginal fluids. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2010, *76*, 296–303.
52. Baloglu, E.; Ay Senyigit, Z.; Karavana, S.Y.; Vetter, A.; Metin, D.Y.; Hilmioglu Polat, S.; Guneri, T.; Bernkop-Schnurch, A. In Vitro Evaluation of Mucoadhesive Vaginal Tablets of Antifungal Drugs Prepared with Thiolated Polymer and Development of a New Dissolution Technique for Vaginal Formulations. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 2011, *59*, 952–958.
53. Patel, J.; Patel, A. Artificial Neural Networking in Controlled Drug Delivery. In *Artificial Neural Network for Drug Design, Delivery and Disposition*; Elsevier, 2016; pp. 195–218.
54. Iqbal, B.; Ali, A.; Ali, J.; Baboota, S.; Gupta, S.; Dang, S.; Muhammad, S.; K. Sahni, J. Recent Advances and Patents in Solid Dispersion Technology. *Recent Pat. Drug Deliv. Formul.* 2011, *5*, 244–264.
55. Vo, C.L.-N.; Park, C.; Lee, B.-J. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2013, *85*, 799–813.
56. Craig, D.Q.. The mechanisms of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers. *Int. J. Pharm.* 2002, *231*, 131–144.
57. Makadia, H.K.; Siegel, S.J. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers (Basel)*. 2011, *3*, 1377–1397.
58. Šnejdrová, E.; Dittrich, M. Poly(alfa-hydroxykyseliny) jako nosiče léčiv. *Chem. List.* 2011, *105*, 27–33.
59. Šnejdrová, E.; Dittrich, M.; Drastík, M. Plasticized branched aliphatic oligoesters as potential mucoadhesive drug carriers. *Int. J. Pharm.* 2013, *458*, 282–286.
60. Wypych, G. *Handbook of plasticizers*; 3rd ed.; ChemTec PUBLISHING: Toronto, 2017; ISBN 9781927885161.
61. Methylsalicylát | VWR Available online:

- <https://cz.vwr.com/store/product/2364695/methylsalicylat-98> (accessed on Mar 22, 2019).
62. Salicylic Acid CAS 69-72-7 Available online:
<https://www.fengchengroup.com/pharmaceutical-api/functional-api/salicylic-acid-cas-69-72-7-methyl-salicylate.html#> (accessed on Mar 22, 2019).
63. Státní ústav pro kontrolu léčiv Available online:
http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data%5Bsearch_for%5D=&data%5Bcode%5D=&data%5Batic_group%5D=&data%5Bmaterial%5D=kyselina+salicylová&data%5Bpath%5D=&data%5Breg%5D=&data%5Bradio%5D=none&data%5Bcheckbox%5D%5B%5D=marketability&data%5Brc%5D=&
(accessed on Mar 25, 2019).
64. Malvern Panalytical Kinexus pro+ rotational rheometer Available online:
<https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/kinexus-range/kinexus-pro-plus> (accessed on Mar 25, 2019).
65. Tomsová, M. Alifatický polyester větvený na tripentaerythritolu jako nosič v tuhých disperzích, Diplomová práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2016, 68s.
66. Šnejdrova, E.; Podzimek, S.; Martiška, J.; Holas, O.; Dittrich, M. Branched PLGA derivatives with tailored properties for drug delivery. *Acta Pharm.* 2019, *v tisku*.
67. Bílková, K. Vliv plastifikace na reologické vlastnosti oligoesteru kyseliny mléčné a glykolové větveného dipentaerythritolem, Diplomová práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2014, 47s.
68. Afdhal, N.H.; McKinley, G.H.; Ewoldt, R.H.; Celli, J.P.; Bansil, R.; Erramilli, S.; Turner, B.S. Rheology of Gastric Mucin Exhibits a pH-Dependent Sol–Gel Transition. *Biomacromolecules* 2007, *8*, 1580–1586.
69. Šnejdrová, E.; Dittrich, M. Měření adhezivních vlastností polymerů in vitro. *Čes. slov. Farm.* 2006, *55*, 262–266.
70. Chiazor, U.O. Testing of adhesive properties of plasticized polyesters using rotational rheometer, Diplomová práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2017, 79s.
71. Veselá, L. Měření adheze plastifikovaných oligoesterů in vitro, Diplomová práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2008, 61s.