

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické technologie



DEGRADACE POLYESTERAMIDŮ IN VITRO

Diplomová práce

2009

Autor: Martina Zounarová

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

Prohlášení:

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

V Hradci Králové, 16. března 2009

Martina Zounarová

Poděkování:

Ráda bych poděkovala Doc. RNDr. Milanovi Dittrichovi, CSc. za odborné vedení a poskytnuté praktické rady při vypracování této diplomové práce.

Abstrakt:

Byly studovány bobtnání a eroze jako dva projevy degradace nově syntetizovaných polyesteramidů s lineární konstitucí řetězce. V teoretické části práce je prezentován přehled o relevantních aspektech biodegradace, biodegradabilních systémech, mechanismech uvolňování léčiv, biodegradabilních polyesterech a polyesteramidech využitelných při formulaci léků. Experiment je zaměřen na sledování změn objemu a hmotnosti tělísek z polyesteramidů, jejich směsí a směsí polyesteramidů s větvenými polyesterami alifatických hydroxykyselin v roztocích pufrů pH 6,0 a 7,0. Bylo prokázáno, že polyesteramidy se vyznačují nízkým stupněm bobtnání a velmi pomalou erozí. Uvedené vlastnosti je možno modifikovat změnou konstituce vedoucí ke snížení krystalinity a mísením polyesteramidů s větvenými polyesterami alifatických hydroxykyselin. Polyesteramidy jsou perspektivní materiály, které mohou být využity jako nosiče ve tkáňovém inženýrství.

Abstract:

Swelling and erosion of polyesteramides with linear constitution of chains as their two important features of degradation were studied. In theoretical part of the thesis is presented review of relevant aspects of biodegradation, biodegradable systems, mechanisms of drug release, biodegradable polyesters and polyesteramides usable in dosage forms formulation procedures. Experimental part of the thesis is directed on the monitoring of the volume and mass changes of pieces made from polyesteramides, their blends and blends of polyesteramides with typical branched polyesters of aliphatic hydroxyacids in buffer solutions of pH 6,0 and pH 7,0. It was concluded, that polyesteramides possessed low degree of swelling and very low rate of matrices erosion. These properties is possible to modify by the changes of molecule constitution leading to crystallinity lowering and also by the blending of polyesteramides with branched polyesters of aliphatic hydroxyacids. Polyesteramides of the original structures are very prospective materials potentially exploitable as carriers in the tissue engineering.

OBSAH

1	ÚVOD	1
2	CÍL PRÁCE	2
3	TEORETICKÁ ČÁST	3
3.1	BIODEGRADACE	3
3.1.1	<i>Definice biodegradace</i>	3
3.1.2	<i>Mechanismy biodegradace</i>	4
3.2	BIODEGRADABILNÍ SYSTÉMY UVOLŇUJÍCÍ LÉČIVA	9
3.2.1	<i>Mechanismy uvolňování léčiva</i>	10
3.3	BIODEGRADABILNÍ POLYESTERY	12
3.4	BIODEGRADABILNÍ POLYESTERAMIDY	14
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	18
4.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE	18
4.1.1	<i>Chemikálie</i>	18
4.1.2	<i>Přístroje</i>	18
4.2	STANOVENÍ STUPNĚ BOBTNÁNÍ A EROZE TESTOVANÝCH NOSIČŮ	20
4.2.1	<i>Příprava vzorků testovaných nosičů</i>	20
4.2.2	<i>Příprava testovacích médií</i>	20
4.2.3	<i>Postup při stanovení stupně bobtnání a eroze</i>	20
4.3	VÝSLEDNÁ DATA A GRAFY	22
5	DISKUSE	40
5.1	K TÉMATU PRÁCE	40
5.2	K METODICE PRÁCE	42
5.3	BOBTNÁNÍ A EROZE JEDNOTLIVÝCH POLYESTERAMIDŮ.....	42
5.4	BOBTNÁNÍ A EROZE SMĚSÍ POLYESTERAMIDŮ.....	43
5.5	BOBTNÁNÍ A EROZE SMĚSÍ POLYESTERAMIDŮ S VĚTVENÝMI POLYESTERY	44
5.6	BOBTNÁNÍ A EROZE POLYESTERŮ VĚTVENÝCH KYSELINOU POLYAKRYLOVOU A JEJICH SMĚSÍ S POLYESTERAMIDY A POLYESTERY	45
6	ZÁVĚR	46
7	POUŽITÁ LITERATURA	47

1 ÚVOD

Věda a technika během posledního století udělala ohromné pokroky, zejména po druhé světové válce a dělá naše každodenní životy stále pohodlnější. Co se týče polymerních materiálů, byly vyvinuty různé polymery, které jsou využívány jako syntetická vlákna, plasty a syntetické kaučuky, vedle tradičních přírodních materiálů. Výrazným rozvojem prošla i technologie lékových forem, vzniklo mnoho nových typů lékových forem a je zvyšována kvalita, bezpečnost a účinnost léčivých přípravků. V šedesátých a sedmdesátých letech se začala vyvíjet nová technologie nazvaná systémy uvolňující léčivo, jejichž cílem je řízené uvolňování optimální dávky po žádoucí dobu, uvolňování léčiva v místě působení bez vlivu na zdravou tkáň, řízené uvolňování pomocí vnějších podnětů a snadný transport léčiva přes kůži a membrány. Zde jsou široce využívány biodegradabilní polymery jakožto nosiče léčiv podávaných především injekčně anebo jsou implantovány do těla. Je tak umožněna dlouhodobá liberace léčivé látky, lze upravovat kinetiku liberace látky a optimalizovat její rychlost.

Kriteria pro kvalitu nosičů léčivých látek jsou velice náročná, jelikož se jedná o přípravky určené k dlouhodobému kontaktu s tkání. Tato práce je zaměřena především na polyesteramidy, jejichž biodegradace je kombinací hydrolytických a enzymově katalyzovaných procesů, kterými je nakonec tvořen CO_2 . První krok (hydrolýza) probíhá na esterových vazbách a vznikají při ní nejdříve polyesteramidy o kratším řetězci, a nakonec oligomery a monomery. Další degradace monomerů probíhá dle známých degradačních cest. Je prozkoumáno množství mikroorganismů, které jsou schopny degradovat polyesteramidy. Průzkumy ukázaly, že bakterie degradující polyesteramidy vyskytující se v mnohých ekosystémech, degradují polyesteramidy kompletně na CO_2 , biomasu a vodu, z čehož vyplývá, že výrazně nepoškozují životní prostředí. V práci je studována degradace nově syntetizovaných polyesteramidů z hlediska časového průběhu bobtnání a eroze polymerů v různých médiích.

2 CÍL PRÁCE

Hlavním úkolem bylo získat první informace o interakcích nově syntetizovaných polyesteramidů s hydrofilním prostředím v podmínkách in vitro. Bylo zadáno prostudovat časový průběh bobtnání a eroze čtyř polyesteramidů, z nichž tři nebyly dosud popsány. Kromě samotných nosičů tohoto typu bylo úkolem připravit jejich směsi v různých poměrech složek a směsi polyesteramidů s větvenými polyestery. Experimentální podmínky bylo zadáno modifikovat různými hodnotami aktuální acidity vodného média při dodržení stejné iontové síly a teploty prostředí.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 BIODEGRADACE

Biodegradabilní materiály jsou široce studovány pro jejich biomedicínké využití jako dočasné nosiče (nosné struktury – lešení) [1], dočasné bariery proti chirurgickým srůstům [2], a matrice pro systémy uvolňující léčivo [3,4]. Nedávno se stal termín degradace nebo biodegradace klíčovým slovem v odvětví nových technologií, nejen ve farmacii a medicíně, ale i v zemědělství a odvětvích týkajících se životního prostředí. Degradace polymerů je poměrně nová a neexistuje adekvátní definice nebo dokumentace o zkoušení. Ve skutečnosti všechno degraduje, je jen otázkou, jak rychle (u polymerů jde o hodiny až stovky let) [5]. Významná je degradace v lidském časovém měřítku. Aplikace biodegradabilních polymerů je závislá na vlastnostech polymerů. Pro uvolňování léčiva musí mít polymery vhodnou permeabilitu pro vodu, biokompatibilitu a pevnost v tahu. U biodegradabilních systémů je hlavně požadováno, aby během uvolňování a biodegradace nezanechávaly rezidua polymerů. Což není vždy jednoduché, nicméně se už objevily kompletně biodegradabilní systémy, které splňují kritéria pro řízené uvolňování širokého spektra bioaktivních látek.

3.1.1 Definice biodegradace

Biodegradace polymerů může být rozdělena na fotooxidativní, tepelnou a tepelněoxidativní, mechanochemickou, ozon-indukující, radiolytickou, ionickou a biodegradaci. Biodegradace polymerů je vysoce důležitá pro biomedicínské, farmaceutické a přírodní (životní prostředí) vědy. Biodegradace byla definována rozdílně různými vědci. Byla popsána jako změny povrchových vlastností nebo ztráta mechanické pevnosti [6], asimilace mikroorganismy [7], biodegradace enzymy [8, 9], rozpad hlavního řetězce a další redukce průměrné molekulové hmotnosti polymeru [10, 11], nebo extrakce nízkomolekulárního materiálu vedoucích k povrchovým defektům [10]. Biodegradace může být chápána jako každý jednotlivý mechanismus nebo jako kombinace těchto mechanismů.

Fenomén *in vivo* degradace polymerních materiálů byl popsán jako bioabsorpce, bioresorpce, bioeroze, nebo biodeteriorace. Ačkoliv nebyly stanoveny přímé rozdíly mezi

těmito termíny, je snaha je rozlišovat [12, 13]. Následující je souhrn definicí nalezených v literatuře.

Biodegradace je definována jako konverze materiálu do menších komplexů meziproduktů a konečných produktů solubilizace, prosté hydrolyzy nebo aktivity biologicky tvořených jednotek, kterými mohou být enzymy a další produkty metabolismu organismu. Molekuly polymeru mohou, ale nemusí, porušit produkci fragmentů v tomto procesu, integrita materiálu je snížena jako důsledek tohoto procesu [14]. Tvořené fragmenty mohou být odplavovány z místa děje, ovšem ne bezpodmínečně z těla [11].

Bioresorpce je popsána jako degradace materiálu na nízkomolekulární částice, které mohou být eliminovány z těla přirozenými cestami.

Bioabsorpce znamená vymizení materiálu z počátečního místa aplikace s nebo bez degradace rozptýlených molekul polymeru [15]. Clearance dispergovaných polymerních molekul může vyžadovat speciální transportní mechanismus, jelikož molekuly polymerů jsou příliš velké pro clearance prostou difúzí [16]. Jestliže jsou dispergované polymerní molekuly metabolizovány nebo exkretovány z těla, proces se stává bioresorpcí.

Bioeroze značí konverzi ve vodě nerozpustných polymerů na ve vodě rozpustné polymery nebo menší molekuly [17]. Eroze týkající se pouze povrchu materiálu se nazývá povrchová (nebo heterogenní) eroze, zatímco eroze zahrnující celý objem se nazývá objemová (nebo homogenní) eroze [4].

Biodeteriorace je termín užívaný pro veškeré nežádoucí změny, ať už mechanické, fyzikální, chemické, nebo estetické, ve vlastnostech materiálů [18]. Především biodeteriorace je považována za nevíтанý a destruktivní proces, zatímco na biodegradaci je nahlíženo jako na žádoucí.

Tyto definice ukazují, že biodegradace má rozsáhlejší význam než bioresorbce, bioabsorpce nebo bioeroze. Jelikož je často obtížné rozlišit různé mechanismy degradace in vivo, termín biodegradace zde bude používán k popisu biodegradace, bioresorbce, bioabsorbce a bioeroze, jestliže odlišení není naprosto nezbytné.

3.1.2 Mechanismy biodegradace

Jak je definováno výše, materiály se mění na menší komplexy produktů během biodegradace a to čtyřmi rozdílnými mechanismy: rozpouštěním, formací náboje následovanou rozpouštěním, hydrolyzou a enzymově katalyzovanou degradací. Biodegradace polymerů předpokládá podstoupení čtyř stavů: hydratace, ztráta pevnosti, ztráta integrity hmoty a ztráta hmoty [19]. Hydratace polymerů je závislá na hydrofilitě

polymeru. Hydratace vyplývá z rozkladu sekundární a terciární struktury stabilizované van der Waalsovými silami a vodíkovými můstky. Jestliže je interakce mezi řetězci polymerů vysoká, nemohou se rozpouštět ve vodě. Např. mezimolekulární vodíkové můstky mezi hydroxylovými skupinami ve zbytcích glukózy v celulóze jsou tak silné, že je celulóza nerozpustná ve vodě [20]. Během hydratace a po ní se řetězce polymerů mohou přeměnit na ve vodě rozpustné a/nebo může být základní řetězec rozštěpen chemickými nebo enzymatickými katalyzátory hydrolýzy, což vede ke ztrátě pevnosti polymeru. U zesíťovaných polymerů může být snížena pevnost rozštěpením základního řetězce, příčné vazby, nebo bočních řetězců. Další štěpení řetězce polymeru vede ke ztrátě hmoty. V systémech polymerů neschopných bobtnat může redukce molekulové hmotnosti vést ke ztrátě soudržnosti mezi řetězci polymerů. Následně jsou nízkomolekulární produkty degradace rozpuštěny v tělní tekutině a vyloučeny z těla [19].

Rozpouštění

Většina přirozených polymerů a spousta syntetických polymerů se rozpouští ve vodě. Syntetické polyelektrolyty, jako třeba polyakrylová kyselina, polystyren sulfonát, a karboxymethylcelulóza (CMC), se ochotně rozpouští ve vodě za interakce části náboje s molekulami vody. Další polární polymery, jako polyvinyl alkohol, polyethylen oxid (PEO), polyvinylpyrolidon (PVP), a dextran, se rovněž ochotně rozpouští ve vodě za tvorby vodíkových můstků s molekulami vody.

Ve vodném prostředí hydrofilní polymery nasávají vodu a zvyšuje se tvorba hydrogelu. Tyto hydrogely se správně nazývají mucilaginózní kompozice [21]. Jakmile se vytvoří gel, molekuly vody snadno pronikají skrz porušenou síť tvořenou nabobtnalým polymerem. Po dalším přidavku vody jsou kontakty polymer-polymer porušeny a individuální molekuly polymeru jsou rozpustěny ve vodě. Tento proces je označován hlavně jako eroze nebo oděr. Voda kontinuálně penetruje směrem ke středu a v konečné fázi je gel přeměněn na viskózní roztok [20]. Rychlost rozpouštění ve vodě rozpustných polymerů závisí na molekulové hmotnosti a stereochemii.

Jestli vznikne gel, nebo viskózní roztok, závisí na množství vody, nebo na koncentraci polymeru ve vodě. Jestliže roste koncentrace polymeru, tvoří se spíše gel. Na koncentraci, při které se tvoří gel, má vliv také druh polymeru. Za dané koncentrace může dojít ke změně na sol, nebo naopak, a to změnou podmínek prostředí, jako teploty, pH, nebo typu soli.

Tvorba náboje následovaná rozpouštěním

Ionizace nebo protonizace

Některé polymery jsou z počátku ve vodě nerozpustné, ale stávají se rozpustnými po ionizaci nebo protonizaci vedlejší skupiny. Rozpustnost polykyselin silně závisí na pH. V roztoku o nízkém pH nejsou polykyseliny ve vodě rozpustné, protože karboxylové skupiny polykyselin jsou protonizovány, tedy ne ionizovány. Po vzrůstu pH roztoku karboxylové skupiny uvolňují vodíkový atom a jsou ionizovány. Jak roste objem ionizovaných skupin, polymer je hydrofilnější, absorbuje vodu, bobtná, a nakonec se ve vodě rozpouští. Rozpustnost polyzásad rovněž významně závisí na pH, ale trend je opačný než u polykyselin. Polyzásady jsou ve vodě rozpustné při nízkých hodnotách pH.

Polykyseliny jsou využívány v širší míře jako materiály vytvářející povrch střeva (enteric coating) pro farmaceutika. Jsou ve vodě špatně rozpustné v prostředí o nízkém pH, jako v žaludku a rozpustné v alkalickém prostředí, jaké můžeme najít ve střevech. Polymery citlivé na pH, které mohou být využity jako materiály tvořící povrch střeva (enteric coating), jsou pryskyřice, acetátftalát celulosy, acetátsukcinát celulosy, polyvinyl acetátftalát a další [22].

Hydrolyza následovaná ionizací

Ve vodě nerozpustné polymery obsahující postranní anhydridové nebo esterové skupiny mohou být rozpuštěny, jestliže anhydridy nebo estery hydrolyzují na formu ionizované kyseliny na řetězci polymeru. Například polymethylakrylát a polymethylmetakrylát, jenž jsou estery odvozené od polyakrylové kyseliny a polymetakrylové kyseliny, které samostatně nejsou ve vodě rozpustné, ale stávají se rozpustnými po hydrolyze postranních esterů a následnou ionizací karboxylových skupin.

Heller vyvinul chemické samoregulační systémy metodou využívající pH senzitivní bioerodující polymery. PH senzitivní bioerodující polymery byly obklopeny albuminovým hydrogelem obsahujícím imobilizovaný enzym [17].

Chemická hydrolyza polymerů

Hydrolyza základního řetězce polymerů je nejvíce žádoucí, pokud vznikají nízkomolekulární produkty. Je to nejznámější způsob, jak přírodní polymery, jako proteiny a polysacharidy, prodělávají biodegradaci hydrolyzou. Ze syntetických polymerů je pouze malý počet polymerů ve vodě rozpustných. Ve vodě nerozpustné

polymery nejsou příliš hydrofilní, ale obsahují funkční skupiny umožňující tvorbu vodíkových můstků. Mají tendenci být více krystalické a tato vlastnost je příčinou jejich nerozpustnosti ve vodě [5]. K hydrolyze dochází, pokud polymer obsahuje hydrolyticky nestabilní můstky, které mohou být přiměřeně hydrofilní pro přístup vody. Ve vývoji nových biodegradabilních polymerů jsou polymery esterů a esterových derivátů [23]. Polyestery zahrnují polyglykolovou kyselinu, polymléčnou kyselinu, poly ϵ -kaprolakton, poly β -hydroxymáselnou kyselinu, poly β -hydroxyvalerovou kyselinu, polydioxanon, polyethyltereftalát, polyjablečnou kyselinu [13], polyvinnou kyselinu [23], a poly-ortho-estery [3, 17]. Polyestery jsou degradovány hlavně prostou hydrolyzou, ačkoliv další mechanismy, jako třeba intracelulární rozpad malých zbytků, nemůžeme vyloučit [24].

Polyglykolová kyselina byla prvním syntetickým polymerem využívaným k přípravě bioabsorbovatelných stehů (chirurgického šicího materiálu). Penetrace vody do polymerové matrix a degradace postihuje celou matrix. Pro semi-krystalické polymery jako PGA, PLA a poly ϵ -kaprolakton začíná biodegradace v amorfní oblasti a ta je následována krystalickou doménou. První fáze biodegradčního procesu zahrnuje neenzymatickou, nahodilou hydrolyzu esteru, a její trvání je určeno počáteční molekulovou hmotností polymeru, stejně jako jeho chemickou strukturou [25]. Objevila se myšlenka zahrnout enzymy do degradace produktů hydrolyzy tvořených během počáteční fáze degradace. Protože difuze vysokomolekulárních enzymů do objemu polymeru je kineticky nemožná, účast enzymů na první fázi degradace polymeru je vyloučena. Nedávno byly aminokyseliny použity k přípravě kopolymerů s kyselinou mléčnou, jako třeba kopolymeru kyseliny glycine/DL-mléčné [26].

Poly β -hydroxymáselná kyselina (PHB) je známá svou biokompatibilitou s lidskou tkání, je resorbována tělem a degradovatelná na vodu a CO_2 . Takže je vhodná pro použití na chirurgické šicí materiály, náhrady za cévy, implantáty se systémy pro řízené uvolňování léčiva. PHB a poly β -hydroxyvalerová kyselina jsou syntetizovány různými kmeny bakterií s výživou bohatou na karbohydráty a chudou na dusík. Nedávno byla PHB vyprodukována v rostlinách díky genetickému inženýrství. Kopolymeru β -hydroxymáselné kyseliny a β -hydroxyvalerové kyseliny jsou také široce využívány. Zvýšení objemu β -hydroxyvalerátu vedl ke snížení bodu tání a zmírnění podmínek použitého procesu. Podmínky procesu mění krystalinitu, která obráceně mění rychlost hydrolytické degradace [27].

Jiné než většina polyesterů, které jsou degradovány hydrolyzou celé matrix, jsou polyorthoestery a polyanhydridy prodávající povrchovou degradaci, tj. degradace je limitována vnější rovinou polymeru. Tato vlastnost je ideální pro přípravu systémů uvolňujících léčiva podle kinetiky nultého řádu. Stupeň hydrolyzy druhého jmenovaného polymeru je vyšší, než u ostatních polyesterů [23]. Degradace polyorthoesterů je citlivá na pH a zajišťuje flexibilitu v kontrole rychlosti uvolňování léčiva. Polyorthoestery a polyanhydridy byly vyvinuty Jorgem Langerem [4], v tomto pořadí, specificky pro biodegradabilní systémy s řízeným uvolňováním léčiva.

Polyalkyl-2-kyanoakryláty jsou také biodegradabilní. Nicméně jsou jedinečné tím, že mají hydrolyzovatelný celý základní uhlíkový řetězec. Základní řetězec C-C v polybutyl-2-kyanoakrylátu je relativně snadno hydrolyzován [28]. Polymery degradují na alkyl kyanoacetát a formaldehyd, které mohou být toxické. Stupeň degradace klesá s prodlužujícím se esterovým řetězcem [29]. Butyl-2-kyanoakrylát je používám ve větším rozsahu, protože proniká přes biologické membrány a polymeruje po kontaktu s vodou.

Fosfazený jsou novou generací biodegradabilních polymerů ve kterých je hydrolytická stabilita určena změnami na straně skupin, které jsou navázány na neobvyklý základní řetězec polymeru [30]. Spousta fosfazenů již byla použita pro podávání léčiv a buněčnou enkapsulaci. Polyfosfoestery jsou jiná třída nových biodegradabilních polymerů charakterizovaných P(O)-O-C vazbami v základním řetězci polymeru. Pětivazný atom fosforu umožňuje navázání postranních komponentů. Štípání fosfoesterových vazeb je důsledkem zvětšování polymeru. Např. polybisfenol A-fenylfosfát absorbuje víc než 60% vody během 10 dnů při 37°C [31].

Polyesteruretany jsou také známé biodegradací. Jejich hydrolytická labilita vzrůstá s rostoucím objemem esteru. Polyetheruretany jsou méně hydrolyzovatelné než polyesteruretany. Celulóza oxidovaná jodistanem může být také hydrolyzována na malé molekuly jako glykol a 2,4-dihydromáslennou kyselinu za fyziologického pH. Oxidovaná celulóza degraduje pomalu a téměř zmizí z místa implantace během několika měsíců [32].

Enzymově katalyzovaná hydrolyza

Enzymy v těle hrají významnou roli v různých reakcích podstatných pro každodenní aktivity. Enzymy jsou proteiny, jejichž funkcí je katalyzovat specifické reakce nebo serie reakcí, jako oxidace, redukce, hydrolyza, esterifikace, syntéza, nebo

vnitromolekulární přeměna [33]. Každý enzym je odlišný ve specifitě, lokalizaci a koncentraci v těle. Jsou důležité pro metabolismus proteinů a sacharidů. Na enzymu je aktivní místo, které váže substrát nebo částečně rozštěpí vazby v substrátu. Vazba mezi enzymem a substrátem je závislá na terciární struktuře aktivního místa enzymu a segmentu substrátu. Takže enzymová degradace substrátu je substrátově specifická a v těle existuje specifický enzym pro degradaci jednotlivých proteinů a polysacharidů.

Protože degradabilita přírodních polymerů, jako proteinů a polysacharidů, je dobře známa, byly jako první využívány k přípravě biodegradabilních biomateriálů. Využití catgutů jako vstřebatelných stehů vedlo k vývoji syntetických biodegradabilních stehů [23]. Rekonstituovaný collagen byl využíván více jako bioabsorbovatelné stehy, k hojení ran, a jako systém uvolňující léčivo. Z enzymatické degradace proteinů lze očekávat, že enzymy budou hrát podstatnou roli v degradaci syntetických poly α -amino kyselinách [34].

Nebiodegradabilní polymery mohou být smíchány s enzymově-degradabilními polymery. Například směs polyethylen-škrob byla připravena smícháním taveniny a potom použita jako biodegradabilní polymerní film [35]. Zdá se, že pouze část obsazená škrobem je degradována, zatímco zbytek materiálu zůstává intaktní. Enzymy nebo mikroorganismy musí difundovat do směsi polymeru k trávení škrobu, protože škrob vyplňující póry musí být exponován na povrchu.

3.2 BIODEGRADABILNÍ SYSTÉMY UVOLŇUJÍCÍ LÉČIVA

Uvolňování léčiv může být ovlivněno různými prostředky, jako difúzí přes membránu nebo prostředí, osmózou, iontovou výměnou, nebo degradací prostředí, nebo části prostředí. Největší výhodou využívání biodegradace pro řízené uvolňování léčiva je to, že po uvolnění veškerého léčiva nemusí být nosič odstraněn z místa působení. Pro systémové aplikace jsou preferovány polymery schopné bioabsorpce, které jsou degradovány na nízkomolekulární fragmenty a eliminovány z těla. U topické aplikace může být naopak žádoucí, když má polymer produkty biodegradace o vyšší molekulové hmotnost, protože se tím snižuje systémová absorpce [36].

Způsob degradace nosičů je jeden z faktorů řízení uvolňování léčiva. Jsou dva rozdílné způsoby biodegradace: povrchová a objemová degradace. Povrchová a objemová degradace jsou také označovány jako heterogenní a homogenní degradace. Tyto dva typy

degradace jsou založeny na lokalizaci rozpadu polymeru. Polymer degradovaný objemovou degradací je odbouráván homogenně v celém objemu. Při povrchové degradaci je odbourávání soustředěno na vnější stranu nosiče [36]. Převládajícím mechanismem uvolňování léčiva z objemově degradovaného polymeru je prostá difúze, během které začne probíhat degradace matrix polymeru [37]. Na druhé straně k povrchové degradaci dochází za současné difúze léčiva a degradace matrix. V případech, kdy je molekula léčiva kovalentně vázána na řetězec polymeru, je uvolňování léčiva řízeno degradací labilních vazeb mezi léčivem a řetězcem polymeru bez ohledu na typ degradace matrix polymeru.

V biodegradabilních hydrogelech jsou léčiva obvykle v kontaktu s vodou a tak je rozpustnost léčiva důležitým faktorem pro uvolňování. Uvolňování léčiva se zjevnou rozpustností ve vodě bude rychlé a nezávislé na rychlosti degradace matrix polymeru. Z toho důvodu nejsou hydrogely vhodné nosiče pro řízené uvolňování většiny nízkomolekulárních ve vodě rozpustných léčiv. Jsou však využitelné pro dodávání makromolekulárních léčiv, jako peptidů a proteinů, které jsou zachyceny v síti gelu až po jeho degradaci.

3.2.1 Mechanismy uvolňování léčiva

Systémy řízené difúzí

Tyto systémy mohou být děleny na rezervoárové a monolitické [38]. Jde o systémy, které nemění rozměry, nebo fyzikálně-chemické vlastnosti během uvolňování léčiva. V rezervoárovém systému je hlavní část léčiva enkapsulována v inertní membráně. Rezervoárové systémy poskytují po většinu své životnosti výhodu konstantní rychlosti uvolňování. Rychlost uvolňování je konstantní tak dlouho, dokud je rozpustnost léčiva udržena v nasyceném stavu přítomností nadbytku léčiva [39]. V monolitickém systému je léčivo dispergováno nebo rozpuštěno v inertním polymeru. Rovinné, válcové a sférické uspořádání je často využíváno pro systémy s řízeným uvolňováním a kinetika difúze uvolňování těchto systémů může mít vztah k teoretickým modelům [40]. Rychlost uvolňování v rezervoárových systémech je určována difúzí léčiva přes matrix polymeru. Je tedy ovlivněna výběrem polymeru, difúzí a rozdělovacím koeficientem léčiva v polymeru. V monolitickém roztoku, kde je léčivo rozpuštěno v polymeru, je uvolňování řízeno Fickovým zákonem [38].

Systémy řízené bobtnáním

U rezervoárových a monolitických systémů, popsaných výše, bylo uvedeno, že se jejich rozměry a fyzikální vlastnosti během uvolňování léčiva nemění. Hydrogelové

systemy mění své rozměry a fyzikální vlastnosti absorpcí vody z okolního prostředí, čímž se mění kinetika uvolňování léčiva. Model založený na práci Alfreyho a kol. popisuje bobtnání membrány skládající se ze třech zón. Vrstva sousedící s vodou je kompletně přeměněna v gel. Potom následuje tenká vrstva, ve které jsou řetězce polymeru pomalu hydratovány a rozvolňovány. Třetí zónu tvoří matrix nenabobtnalého, suchého, rigidního polymeru. Difúze permeátu (tj. vody do hydrogelu) je klasifikována do tří rozdílných typů, založených na relativní rychlosti difúze a rozvolnění polymeru [41]. Jsou to:

1. Příklad I (CASE I) neboli Fickova difúze, kdy je rychlost difúze pomalejší, než rozvolňování polymeru.
2. Příklad II (CASE II) difúze (transport řízený rozvolňováním), kdy je difúze velice rychlá ve srovnání s procesem rozvolňování.
3. Ne – Fickova neboli anomální difúze, kdy je rychlost difúze a rozvolňování srovnatelná.

Význam této klasifikace spočívá v tom, že případ I i II, mohou být popsány jednoduchým parametrem. Difúze u systémů případu I jsou definovány difúzním koeficientem. U případu II je difúze popsána konstantní rychlostí průniku vody čelem, které značí přechod mezi zbobtnalým hydrogelem a skelným jádrem. Anomální systémy potřebují k popsání dva a více parametrů, které mají vztah k difúzi a rozvolňování polymeru.

Klasifikace difúze permeátu může být využita ke klasifikaci profilů uvolňování léčiva z bobtnajícího polymeru [42]. Na počátku je difúzní koeficient v suchém polymeru velice nízký, ale narůstá přiměřeně s množstvím gelem absorbované vody. Takže uvolňování léčiva ze systému je funkcí rychlosti vychytávání vody z prostředí, stejně jako funkcí difúze léčiva. Pro některé systémy může být složité předpovědět vliv rychlosti vychytávání vody na rychlost uvolňování léčiva. Rychlost uvolňování je určena difúzním koeficientem pro vodu jednotlivých léčiv obsažených v polymeru.

Biodegradabilní systémy

Během posledních pár let bylo objeveno mnoho biodegradabilních systémů uvolňujících léčiva. Biodegradabilní systémy se dělí na povrchově a objemově degradované systémy. Kromě několika povrchově degradovaných systémů jako polyorthoestery a polyanhydridy [43], je většina systémů odbourávána kombinací obou mechanismů.

3.3 BIODEGRADABILNÍ POLYESTERY

Biodegradabilní polymery jsou definovány jako polymery v životním prostředí degradované za katalýzy mikroorganismy (bakterie, houby, atd.) až na oxid uhličitý a vodu. Při degradaci těchto polymerů nesmí vznikat produkty škodlivé pro životní prostředí. Biopolymery dělíme do tří hlavních skupin:

- polyestery produkované mikroorganismy
- přírodní polysacharidy a další biopolymery
- syntetické polymery, zejména alifatické polyestery

Ve stručnosti se zmiňme o výhodách a nevýhodách polymerů těchto tří skupin. Polyestery mikrobiálního původu jsou odvozeny od obnovitelných bioorganických zdrojů, jako jsou škroby a tuky, které můžeme nalézt v půdě, řekách a moři. Produkce v průmyslovém měřítku není účinná, cena je redukována a z toho důvodu používání polymerů tohoto typu roste.

Biodegradabilní polymery založené na přírodních polysacharidech, zejména škrobech, mohou být produkovány za nízkou cenu a v širokém měřítku. Vlastní polysacharidy nejsou plastické, jsou často používány po chemické modifikaci a/nebo jako směs s biodegradabilními syntetickými polymery. Nicméně efektivní kombinace těchto přírodních a syntetických polymerů jsou dosti omezené. Z širokého pohledu různých, dnes používaných plastů, je potřebné vyvinout druhy biodegradabilních polymerů, které mají vlastnosti a funkce vhodnější pro konkrétní cíle. V tomto pojetí mají biodegradabilní syntetické polymery výhodu, protože postup vědy a technologie související s polymery dává možnost tvorby a syntézy příhodných typů polymerů s příhodnými vlastnostmi. Mimoto jsou vhodné pro masovou produkci.

Co se týká syntetických biodegradabilních polymerů, reprezentativní jsou alifatické polyestery. V poslední době jsou alifatické polyestery jako poly ϵ -kaprolakton, poly L-laktid, polybutylensukcinát, komerčně produkovány a jejich produkce dále vzrůstá. Navíc jsou tyto alifatické polyestery uzpůsobovány a testovány na praktických aplikacích. Jsou to například polyestery obsahující aromatické kruhy nebo cyklické etherové části, polyesteramidy, polyesterkarbonáty, polyesteruretany, atd. Mnohé z nich jsou dosud neprobádané, kromě polyesterů obsahujících tereftalenový podíl. Vysokomolekulární vinylové polymery jsou obvykle rezistentní k biodegradaci, nicméně jsou známy polymery, jako polyvinylalkohol, které jsou biodegradovány. Některé pokusy, jako zavedení esterové vazby do vinylpolymerového řetězce, nabízejí přípravu biodegradabilních vinylpolymerů.

Zatím však nebyl vypracován efektivní postup, který by zajistil dostatečnou biodegradabilitu vinylpolymerů bez obětování jejich vlastních mechanických a tepelných vlastností.

Polyestery jsou syntetizovány polykondenzací kombinací diolů a dikarboxylových kyselin, nebo vlastní polykondenzací hydroxykyselin, nebo polymerizací otevřením kruhu laktonů a laktidů. Komerčně dostupné biodegradabilní polyestery jsou připravovány právě těmito metodami. Polykondenzace může být aplikována na různé kombinace diolů a dikyselin, ale vyžaduje vyšší teplotu a delší reakční čas pro vznik polymerů o vyšší molekulové hmotnosti. Získané polymery nemají kontrolovanou délku řetězce. Naopak polymerizace otevřením kruhu je omezena na monomery, ale přenesením do mírnějších reakčních podmínek produkuje vysokomolekulární produkty v kratším čase. Pokrok v katalýze a iniciátorech živé polymerace nám umožňuje produkci polyesterů o kontrolované délce řetězce.

Využití enzymů jako katalyzátorů v organické syntéze je novým trendem. Enzymatické reakce se mohou uskutečnit za mírnějších podmínek. Pomocí enzymů se dají připravit produkty vysoce regiospecifické, stejně jako stereospecifické a to do té míry, jako to s konvenčními katalyzátory nikdy nebylo možné. Pro polymerovou syntézu in vitro enzymově katalyzovanou polymerizací byla vyvinuta efektivní metoda vedoucí k syntéze pro životní prostředí neškodných polymerů. Varianty polymerů byly připraveny polykondenzací různých kombinací diolů a dikarboxylových kyselin, stejně jako polymerizací otevřením kruhu laktonů různých velikostí za použití enzymů jako katalyzátorů.

Biodegradace alifatických polyesterů byla intenzivně studována a hlavní faktory ovlivňující biodegradabilitu byly nalezeny. Primární struktura, chemické vazby, hydrofilní/hydrofóbní rovnováha, objem substituentů, vzájemné spoje a délka řetězce jsou důležité faktory dominující biodegradabilitě. Výše uvedená pravidla a také konformace, krystalová struktura, krystalinita, morfologie, orientace, atd. dále ovlivňují biodegradabilitu polyesterů.

Z možností aplikace polyesterů je pro nás nejvýznamější využití ve farmacii. V šedesátých letech se začala vyvíjet nová technologie nazvaná Systémy uvolňující léčivo (angl. Drug delivery systems, odkud pochází zkratka DDS), jejichž cílem je řízené uvolňování optimální dávky po žádoucí dobu, uvolňování léčiva v místě působení bez vlivu na zdravou tkáň, řízení uvolňování pomocí vnějších podnětů a snadný transport léčiva přes kůži a mukózní membrány. Zde jsou biodegradabilní polymery široce

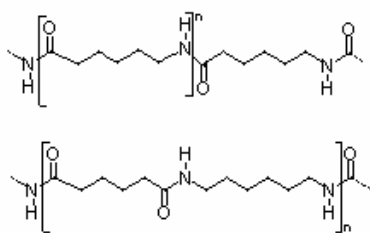
využívány jakožto nosiče léčiv podávaných především injekčně nebo jsou implantovány do těla. Přípravovány jsou různé tvary částic polymerů, nejčastěji mikrosféry vyrobené pomocí glykolid–laktid kopolymeru odpařováním rozpouštědla [44].

3.4 BIODEGRADABILNÍ POLYESTERAMIDY

Polymer tvořený kombinací esterových a amidových můstků, které jsou obsaženy v přírodních esterech mastných kyselin a v proteinech, mohou (teoreticky) být biodegradabilní a z tohoto důvodu je zároveň minimalizováno riziko pro prostředí. Naopak, polyestery a polyamidy používané v současné době jako termoplasty mají výborné mechanické vlastnosti a chování při zpracování, ale jsou rezistentní vůči biodegradaci.

Vysokomolekulární polyesteramidy jsou syntetizovány z komerčně dostupných surových materiálů jako kyselina adipová, kaprolaktam, AH-sůl (1:1 sůl kyseliny adipové a 1,6-hexamethyldiaminu), 1,4-butandiol a diethylenglykol [45].

Rozlišujeme dvě hlavní skupiny polyesteramidů [46]: 1/ polyesteramidy založené na polyamidu-6 s kaprolaktamem, jako amid tvořící komponenty 2/ polyesteramidy, které jsou tvořeny polyamidem-6.6 s AH-solí, jako amid tvořící komponenty. V každém případě ester tvořící komponenty jsou kyselina adipová a 1,4-butandiol – v některých případech v kombinaci s diethylenglykolem. Ethylenglykol může být také využíván jako alternativní zdroj diolů.



Obrázek 1 Polyamid-6 a polyamid-6.6

Polymerační reakce je typický polyesterifikační proces. Jako při syntéze jednoduchých esterů, diol je použit v nadbytku 10-15%. V první části reakce, po smíchání všech monomerů, dochází k esterifikaci kyselých komponent nadbytkem diolů, následuje otevření kruhu kaprolaktamu a iničiální amidové reakce tvořící oligomery. V druhé části dochází k polykondenzaci a vytvoření vysokomolekulárních polyesteramidů. První část probíhá za normálního tlaku, kdežto druhá ve vakuu (<1 mbar). Rozhodující bod syntézy

vysokomolekulárních polyesteramidů spočívá v tom, že reakční povrch je udržován v optimálních podmínkách možností odstranit vytvořený přebytek diolů a vody. Reakce je katalyzována esterifikačními katalyzátory, zejména titanium-tetraisopropoxidem.

Hlavní rozdíl mezi dvěma skupinami polyesteramidů syntetizovaných touto metodou je jejich bod tání. Mechanické vlastnosti jsou také pozměněné společně s požadovaným tempem biodegradace. S ohledem na vliv složení amidu a obsahu esteru na biodegradaci, obsah esteru <30 % vede ke vzniku produktu stabilnímu vůči biodegradaci. Naopak mechanická odolnost vzrůstá přímo v závislosti na zvyšujícím se obsahu amidů, proto je obsah amidů maximalizován pro dosažení dobrých mechanických vlastností, a přitom zajišťuje rychlou a kompletní biodegradaci.

Mechanické vlastnosti mohou být „šity na míru“ dle jejich konečného užití, ačkoliv musí být vždy udržena akceptovatelná míra biodegradace. Polyesteramidy odvozené od polyamidu-6 jsou vhodné především pro filmovou aplikaci, mechanickými vlastnostmi filmu (vyrobené z BAK 403 nebo BAK 404)¹ jsou velice podobné filmům založeným na polyethyleny.

Příprava těchto tříd polymerů je možná v typických polyethylenových výrobních celcích, ačkoliv drobné úpravy podmínek jsou nezbytné. Teplotní profil extrudéru má invertní strukturu ve srovnání s polyethyleny tohoto využití, což je způsobeno odlišným chováním během varu u granulátu polyesteramidu a polyethyleny. Teplota lisování musí být nižší, než teplota tání extrudátu, protože statisticky uspořádané polyesteramidy mají nižší rychlost krystalizace. Pro srovnání, polyesteramidy odvozené od polyamidu-6.6 vykazují vyšší míru krystalinity a tudíž jsou vhodnější pro injekční formy a vláknitou extruzi.

Jako čisté pryskyřice jsou polyesteramidy velmi měkké materiály, proto při výrobě tuhých materiálů s vyšší odolností v tahu je nutné použít plniva. Typická plniva obsahují mastek, uhličitán vápenatý, slídu, nebo wollastonit. Třídy jako BAK 105 nebo 106 mají vlastnosti podobné polypropylenu nebo dokonce polystyrenu. Díky kombinaci výborných tokových a mechanických vlastností jsou polyesteramidy využívány k produkci tenkostěnných nádob jako květináčů a dále více odolných předmětů, jako např. příborů. Právně povolený limit obsahu anorganických plniv v různých třídách BAK není vyšší než 47 %.

¹ BAK[®] (PESTA) Biologisch abbaubarer Kunststoff, Polyesteramid; Biologically degradable plastic, polyester amide. Biodegradabilní polymery s tradičním označením BAK[®] byly poprvé vyrobeny roku 1995 firmou Bayer a komerční výroba těchto polymerů byla zahájena okolo roku 1997

Polyesteramidy mají vyšší afinitu k organickým materiálům jako dřevní moučka, celulóza, nebo škrob. Tato vlastnost je závislá na schopnosti tvořit vodíkové můstky s přírodními částicemi. Není potřeba optimalizovat spojení mezi polymerem a pojivem [47, 48], jejich mechanické vlastnosti jsou velice dobré.

Polyesteramidy jsou využívány pro různé filmové aplikace, obzvlášť je-li potřeba rychlé a kompletní degradace po užití (např. hygienické, zdravotnické nebo zemědělské materiály). Další využití polyesteramidů zahrnuje výrobu injekčních stříkaček, květináčů a přístrojů. Kombinace polyesteramidu a dřevní moučkou vede k množství hodnotných směsí používaných při výrobě nábytku, přídavek dřeva se ukázal být užitečný při navrhování a vytváření neobvyklých tvarů.

Kombinace polyesteramidů s těžkými kovy (např. železným prachem) je východiskem pro materiály, které mohou být využívány ke změně vlastností kovů. Polyesteramid je potom biodegradován, zatímco kov je oxidován a stává se ekologicky neutrální.

Na rozdíl od čistých alifatických polyesterů, které jsou prakticky všechny biodegradabilní, čisté polyamidy nejsou biodegradabilní. Toto je dobře známá charakteristika polyamidů a je závislá hlavně na krystalicitě a bodech tání odpovídajících polymerů [49]. Polyesteramidy jsou tvořeny dvěma komponentami: esterová komponenta je zodpovědná za rychlou degradaci, zatímco amidová komponenta zajišťuje stabilitu a výborné mechanické vlastnosti polymeru. Poměr mezi amidovou a esterovou částí všech tříd BAK je dán tak, že je dosaženo maximální rychlosti biodegradace a vysokého stupně mechanické odolnosti.

Polyesteramidy založené na polyamidu-6 obsahují okolo 35-40 hmotnostních procent, zatímco ty založené na polyamidu-6.6 mají esterovou složku okolo 60% (čemuž vděčí za svou krystalicitu). Polyesteramidy, jako skupina, prošly řadou standardizovaných testů, které jsou certifikovány dle německého DIN 549000. Tato norma (Deutsches Institut für Normung) zahrnuje testovací metody v laboratořích jako Sturm test, kontrolované skladování a skladování v přirozených podmínkách.

Biodegradace polyesteramidů je monitorována v různých médiích, studie zahrnují mořskou vodu, sladkou vodu a půdu. Biodegradace polyesteramidů je kombinací hydrolytických a enzymově katalyzovaných procesů, kterými je nakonec tvořeno CO_2 . První krok (–hydrolyza) probíhá na esterových vazbách a vznikají při ní nejdříve polyesteramidy o kratším molekulovém řetězci, a nakonec oligomery a monomery. Tyto monomery mohou být detekovány s využitím různých analytických metod [50].

Další degradace monomerů probíhá dle známých degradačních cest. V případě kyseliny adipové vede β -oxidace uhlíkového řetězce ke tvorbě kyseliny octové a jantarové, které jsou obě hojně rozšířeny v přírodě. Kyselina aminokapronová (jejíž struktura je podobná struktuře přírodní aminokyseliny lysinu) je degradována cestou degradace aminokyselin s α -dekarboxylací vedoucí k hexamethyldiaminu, po které následuje dvojitě zkřížená oxidace za vzniku kyseliny adipové, která je odbourána výše zmíněným mechanismem.

Je prozkoumáno množství mikroorganismů, které jsou schopny degradovat polyesteramidy [51]. Průzkumy ukázaly, že bakterie degradující polyesteramidy vyskytující se v mnohých ekosystémech, degradují polyesteramidy kompletně na CO_2 , biomasu a vodu.

Poměr uhlíku při biodegradaci BAK 403 v tekutém médiu ukázal, že za těchto podmínek téměř 65% uhlíku z polymeru přechází na CO_2 a 25% je přeměněno na biomasu. Zbývající uhlík je rozpuštěn ve vodě jako CO_2 (uhličitan a hydrogenuhličitan) a jako organický uhlík ve formě ve vodě rozpustných kyselin s krátkým řetězcem.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE

4.1.1 Chemikálie

- Lineární polyesteramidové nosiče (tab. 1, tab. 3), Katedra farmaceutické technologie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
- Větvené oligoesterové nosiče (tab. 2, tab. 4), Katedra farmaceutické technologie, Farmaceutická fakulta v Hradci kálové
- Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát p.a., Lach – Ner, s.r.o., Neratovice
- Kyselina citronová monohydrát p.a., Lach – Ner, s.r.o., Neratovice
- Azid sodný p.a., Fluka
- Destilovaná voda, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

4.1.2 Přístroje

- Předvážky digitální, KERN 440-33
- Analytické digitální váhy, KERN ABS 220-4
- Horkovzdušná sušárna, MEMMERT ULE 400
- Biologický termostat, BT 120
- Vakuová sušárna, BINDER APT.line™ VD 23
- Digitální pH – metr, HANNA pH 223
- Vysoušeč vlasů, Remington professional

Tabulka 1 Lineární polyesteramidy – použité reaktanty

označení	SA (mol%)	AA (mol%)	EA (mol%)	AB (mol%)	AMP (mol%)	SnOct (mol%)
PEA1	50	-	50	-	-	0,02
PEA2	50	-	35	15	-	0,02
PEA3	50	-	35	-	15	0,02
PEA4	25	25	30	10	10	0,02

Vysvětlivky:

SA sebaková kyselina
AA adipová kyselina
EA ethanolamin
AB 2-amino 1-butanol

AMP 2-amino 2-methyl 1-propanol
SnOct oktoát cínatý (katalyzátor reakce)

Tabulka 2 Větvené oligoestery – složení reakční směsi

označení	větvicí monomer		GA (% mol)	DLLA (% mol)
	název	konc. (% hmotn.)		
D5	Dipentaerytritol	5,0	(100-D)/2	(100-D)/2
A3	Kys. akrylová	3,0	(100-A)/2	(100-A)/2

Vysvětlivky:

GA kyselina glykolová
 DLLA kyselina DL-mléčná

Tabulka 3 Molekulární a termické charakteristiky nosičů

nosič	Mn	Mw	Polydisp.	Větvení	Tg	ΔC_p
D5	1 900	2 300	1,20	1,04	16,3	N
PLGA	1 833	4 086	2,23	N	17,0	0,902
PEA 1	N	N	N	N	-3,1	4,057
PEA 2	N	N	N	N	-10,7	0,456
PEA 3	N	N	N	N	-8,5	4,531
PEA 4	N	N	N	N	-9,2	6,295

Vysvětlivky:

Mn číselně střední molekulová hmotnost
 Mw hmotnostně střední molekulová hmotnost
 Tg teplota skelného přechodu
 ΔC_p specifická tepelná kapacita
 N nebylo měřeno

Tabulka 4 Molekulární, termické a viskozimetrické charakteristiky nosičů větvených kyselinou polyakrylovou

nosič	Mn	Mw	Mw/Mn	g'	Tg	$[\eta]_w$
A2	5 500	20 600	3,75	0,35	N	9,5
A3	4 897	16 751	3,42	0,33	-27,9	N
	12 300	28 400				
A4	7 600	20 600	2,71	0,31	N	8,3

Vysvětlivky:

Mn číselně střední molekulová hmotnost
 Mw hmotnostně střední molekulová hmotnost
 Mw/Mn stupeň polydisperzity
 g' charakteristika větvení řetězce zjištěná pomocí GPC-MALS
 Tg teplota skelného přechodu
 $[\eta]_w$ vnitřní viskozita

4.2 STANOVENÍ STUPNĚ BOBTNÁNÍ A EROZE TESTOVANÝCH NOSIČŮ

4.2.1 Příprava vzorků testovaných nosičů

Testované polymery byly syntetizovány na katedře farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové. Z těchto polymerů, nebo jejich směsí (připravených v horkovzdušné sušárně roztavením při 60 - 100°C a mícháním do homogenní směsi) byla za pomoci skalpelu připravena tělíska o požadované hmotnosti 150,0 mg \pm 5 %. Jednotlivá tělíska byla přenesena do scintilačních lahvíček označených štítkem.

4.2.2 Příprava testovacích médií

Pro studium bobtnání a eroze byl jako médium vybrán citrát-fosfátový pufr. Pro sledování vlivu pH prostředí na stupeň bobtnání a eroze jsme zvolili pH o hodnotě 6.0 a 7.0.

- Pufr o pH 6.0 vznikl smícháním 925 g roztoku A a 1575g roztoku B.
- Pufr o pH 7.0 pak smícháním 475 g roztoku A a 2025g roztoku B.
- Roztok A byl připraven rozpuštěním 31,58 g kyseliny citronové v 1468g destilované vody.
- Roztok B rozpuštěním 286,30 g hydrogenfosforečnanu disodného dodekahydrátu v 3713,7g destilované vody.
- Po změření hodnoty pH pH-metrem a úpravě na požadovanou hodnotu, následovalo přidání konzervační látky v podobě azidu sodného o koncentraci 0,02%.

4.2.3 Postup při stanovení stupně bobtnání a eroze

Tělísko o požadované hmotnosti bylo před přenesením do vytárované označené scintilační lahvičky zváženo a tato hmotnost zaznamenána jako m_0 . Do každé scintilační lahvičky se vzorkem bylo přidáno 15g pufru o příslušném pH dle označení, následovně byly lahvičky uzavřeny a vloženy do biologického termostatu s nastavenou teplotou na 37°C. Ve stanovených časových intervalech byly lahvičky vyjmuty z termostatu, médium opatrně vylito, stěny lahviček osušeny buničitou vatou a krátce dosušeny pomocí vysoušeče vlasů. Po zvážení lahviček na analytických vahách a záznamu hmotnosti jako

m_b , následovalo umístění do vakuové sušárny a sušení do konstantní hmotnosti při teplotě 65°C. Po vysušení byly lahvičky opět zváženy s výslednou hodnotou m_s . U ostatních lahviček bylo médium měněno v předem stanovených intervalech. Pro každý časový interval se pracovalo se čtyřmi vzorky daného polymeru, se dvěma s pufrům o pH 6 a se dvěma s pufrům o pH 7.

Vzorec pro výpočet stupně bobtnání:

$$B = \frac{m_B - m_S}{m_S} \cdot 100 \quad [\%]$$

m_B - hmotnost vzorku po nabobtnání v čase t

m_S - hmotnost vzorku po vysušení

Vzorec pro výpočet stupně eroze:

$$E = \left(1 - \frac{m_o - m_S}{m_o} \right) \cdot 100 \quad [\%]$$

m_o - původní navážka vzorku

m_S - hmotnost vzorku po vysušení

4.3 VÝSLEDNÁ DATA A GRAFY

Vysvětlivky:

6, 7	pH použitého pufru
A, B	opakování vzorku
B	stupeň bobtnání
E	stupeň eroze
PEA 1	polyesteramid 1
PEA 4	polyesteramid 4
PEA 1234	směs polyesteramidů 1, 2, 3 a 4, které jsou ve směsi zastoupeny stejným dílem
PEA 123	směs polyesteramidů 1, 2 a 3, které jsou ve směsi zastoupeny stejným dílem
PEA 234	směs polyesteramidů 2, 3 a 4, které jsou ve směsi zastoupeny stejným dílem
PEA 23A	směs polyesteramidů 2 a 3, polyakrylátu 3, které jsou ve směsi zastoupeny stejným dílem
PEA 41D	směs polyesteramidů 4 a 1, D5, ve směsi zastoupené v poměru 1:1:4
PEA 23D	směs polyesteramidů 2 a 3, D5, ve směsi zastoupené v poměru 1:1:4
PLGA	kopolymer kys. poly-mléčné a poly-glykolové
D5	dipentaerytritol
A2	polymer větvený kyselinou akrylovou
A3	polymer větvený kyselinou akrylovou
A4	polymer větvený kyselinou akrylovou
N	neměřeno

Tabulka 5 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze směsí nosičů v daném poměru a příslušném médiu

Směs nosičů v daném poměru	B[%] 1 den	E[%] 1 den	B[%] 3 dny	E[%] 3 dny
PEA1/PLGA pufr 6 (1:2)	109	96	120	97
PEA1/PLGA pufr 7 (1:2)	135	96	186	89
PEA4/PLGA pufr 6 (1:2)	86	103	100	105
PEA4/PLGA pufr 7 (1:2)	151	99	263	99
PEA1/D5 pufr 6 (1:2)	6	99	13	99
PEA1/D5 pufr 7 (1:2)	8	100	14	98
PEA4/D5 pufr 6 (1:2)	10	98	15	95
PEA4/D5 pufr 7 (1:2)	21	93	35	92

Tabulka 6 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze nosičů v pufru o pH 6,0

nosič	B[%] 1 den	E[%] 1 den	B[%] 3 dny	E[%] 3 dny
A2 pufr 6	89	66	201	24
A3 pufr 6	53	41	zcela rozpuštěno	zcela rozpuštěno
A4 pufr 6	38	9	zcela rozpuštěno	zcela rozpuštěno

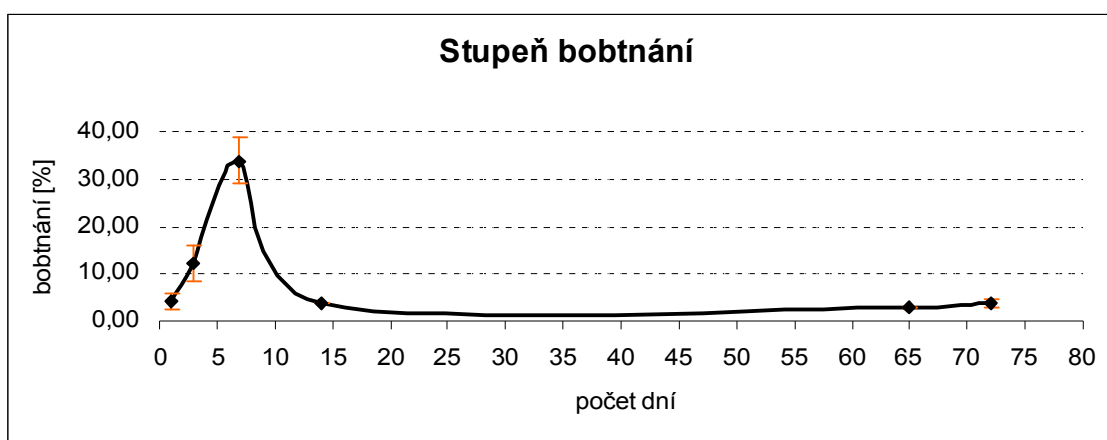
Tabulka 7 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze směsí nosičů v daném poměru a příslušném médiu

Směs nosičů v daném poměru	B[%] 1 den	E[%] 1 den	B[%] 3 dny	E[%] 3 dny
A3/PEA1 pufr 6 (1:1)	49	87	N	N
A3/PEA1 pufr 7 (1:1)	270	60	N	N
A3/PEA4 pufr 6 (1:1)	111	37	N	N
A3/PEA4 pufr 7 (1:1)	zcela rozpuštěno	zcela rozpuštěno	N	N
A3/PEA1 pufr 6 (1:3)	20	102	16	102
A3/PEA1 pufr 7 (1:3)	15	102	21	100
A3/PLGA pufr 6 (1:1)	129	75	N	N
A3/PLGA pufr 7 (1:1)	225	18	N	N
A3/PLGA pufr 6 (1:3)	156	102	321	51
A3/PLGA pufr 7 (1:3)	225	72	403	60
A3/D5 pufr 6 (1:1)	252	17	N	N
A3/D5 pufr 7 (1:1)	138	21	N	N

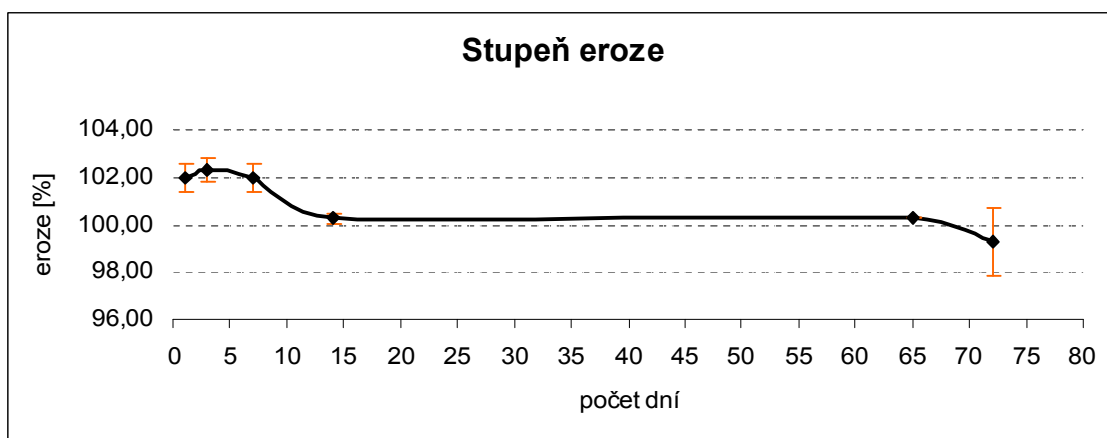
Tabulka 8 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 1, médium pufr 6,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
				[g]		[%]	
Vzorek A	PEA-1-6-A	1	0,1591	0,1709	0,1613	5,95	101,38
	PEA-1-6-A	3	0,1460	0,1612	0,1486	8,48	101,78
	PEA-1-6-A	7	0,1501	0,2136	0,1540	38,70	102,60
	PEA-1-6-A	14	0,1566	0,1628	0,1567	3,89	100,06
	PEA-1-6-A	65	0,1533	0,1583	0,1537	2,99	100,26
	PEA-1-6-A	72	0,1596	0,1653	0,1608	2,80	100,75
Vzorek B	PEA-1-6-B	1	0,1500	0,1575	0,1538	2,41	102,53
	PEA-1-6-B	3	0,1518	0,1811	0,1561	16,02	102,83
	PEA-1-6-B	7	0,1416	0,1852	0,1436	28,97	101,41
	PEA-1-6-B	14	0,1485	0,1548	0,1492	3,75	100,47
	PEA-1-6-B	65	0,1457	0,1503	0,1461	2,87	100,27
	PEA-1-6-B	72	0,1559	0,1596	0,1526	4,59	97,88

Graf 1 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 1, médium pufr 6,0



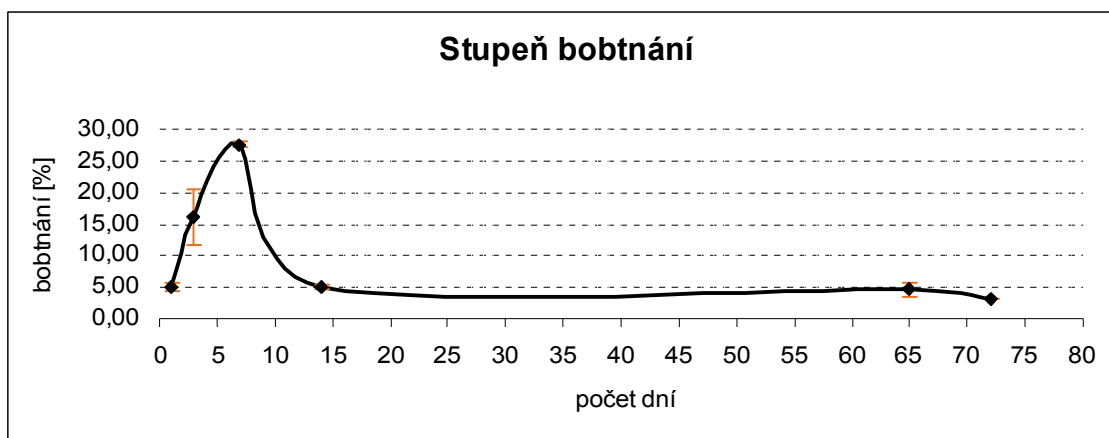
Graf 2 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 1, médium pufr 6,0



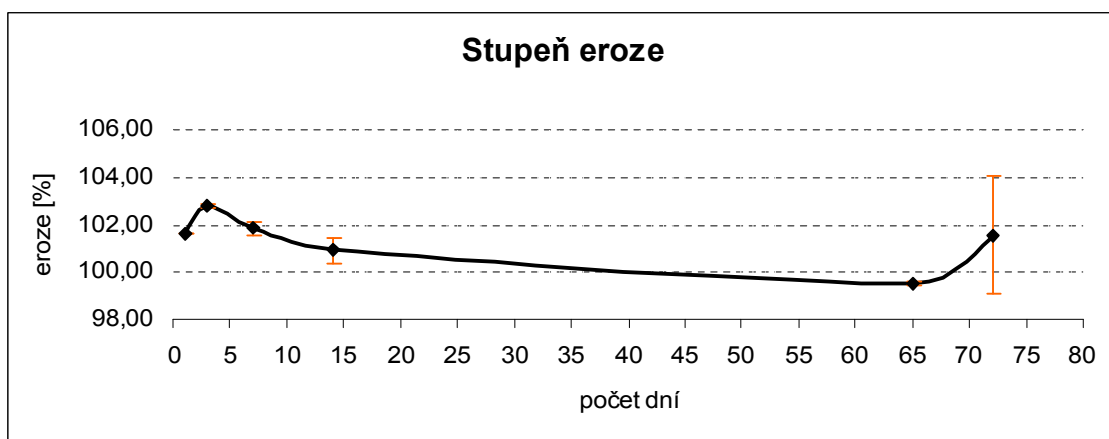
Tabulka 9 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 1, médium pufr 7,0

	Dny	Vzorek	Ms	B	E		
			[g]		[%]		
Vzorek A	1	PEA-1-7-A	0,1546	0,1662	0,1571	5,79	101,62
	3	PEA-1-7-A	0,1573	0,1950	0,1618	20,52	102,86
	7	PEA-1-7-A	0,1434	0,1877	0,1465	28,12	102,16
	14	PEA-1-7-A	0,1546	0,1643	0,1568	4,78	101,42
	65	PEA-1-7-A	0,1584	0,1631	0,1575	3,56	99,43
	72	PEA-1-7-A	0,1564	0,1599	0,1550	3,16	99,10
Vzorek B	1	PEA-1-7-B	0,1580	0,1675	0,1606	4,30	101,65
	3	PEA-1-7-B	0,1475	0,1691	0,1515	11,62	102,71
	7	PEA-1-7-B	0,1457	0,1881	0,1480	27,09	101,58
	14	PEA-1-7-B	0,1507	0,1594	0,1513	5,35	100,40
	65	PEA-1-7-B	0,1584	0,1667	0,1578	5,64	99,62
	72	PEA-1-7-B	0,1517	0,1629	0,1578	3,23	104,02

Graf 3 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 1, médium pufr 7,0



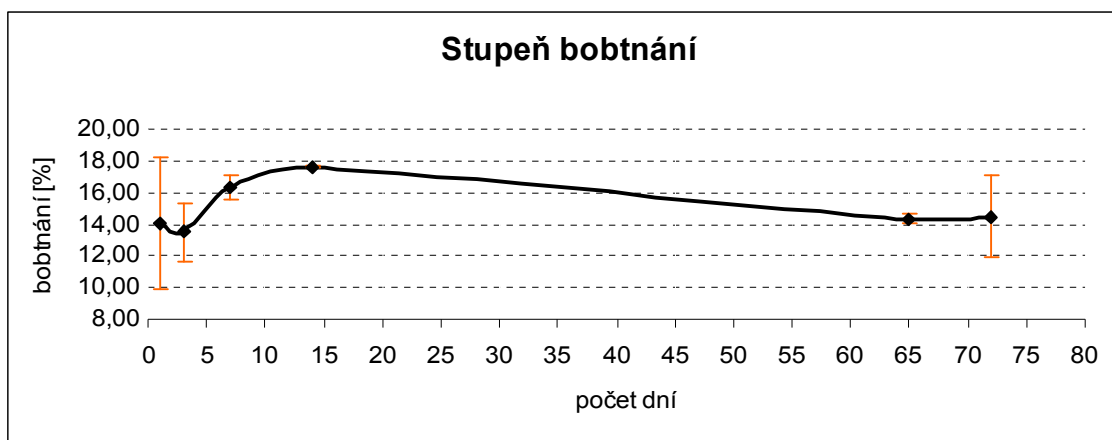
Graf 4 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 1, médium pufr 7,0



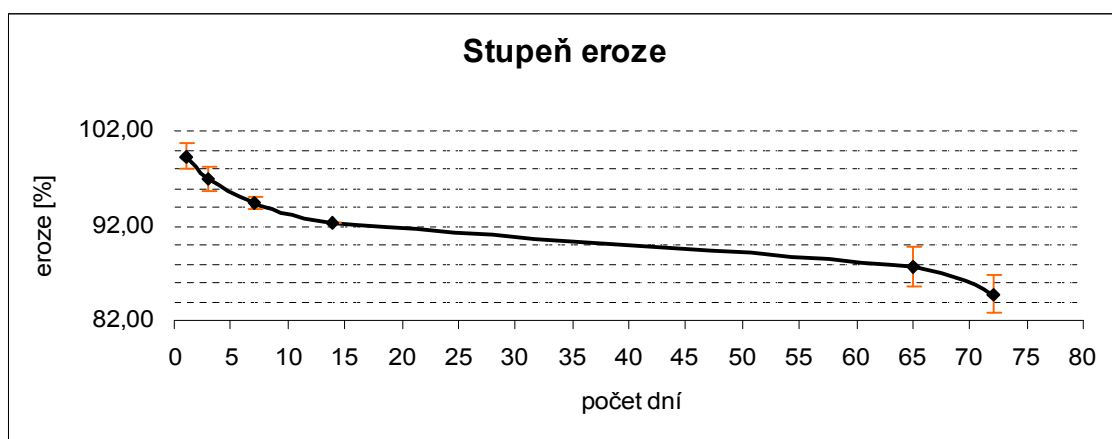
Tabulka 10 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 4, médium pufr 6,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
			[g]			[%]	
Vzorek A	PEA-4-6-A	1	0,1574	0,1824	0,1542	18,29	97,97
	PEA-4-6-A	3	0,1455	0,1606	0,1393	15,29	95,74
	PEA-4-6-A	7	0,1590	0,1747	0,1511	15,62	95,03
	PEA-4-6-A	14	0,1571	0,1705	0,1449	17,67	92,23
	PEA-4-6-A	65	0,1522	0,1495	0,1304	14,65	85,68
	PEA-4-6-A	72	0,1521	0,1410	0,1260	11,90	82,84
Vzorek B	PEA-4-6-B	1	0,1458	0,1614	0,1468	9,95	100,69
	PEA-4-6-B	3	0,1548	0,1698	0,1520	11,71	98,19
	PEA-4-6-B	7	0,1596	0,1752	0,1497	17,03	93,80
	PEA-4-6-B	14	0,1465	0,1591	0,1353	17,59	92,35
	PEA-4-6-B	65	0,1553	0,1590	0,1394	14,06	89,76
	PEA-4-6-B	72	0,1504	0,1529	0,1306	17,08	86,84

Graf 5 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 4, médium pufr 6,0



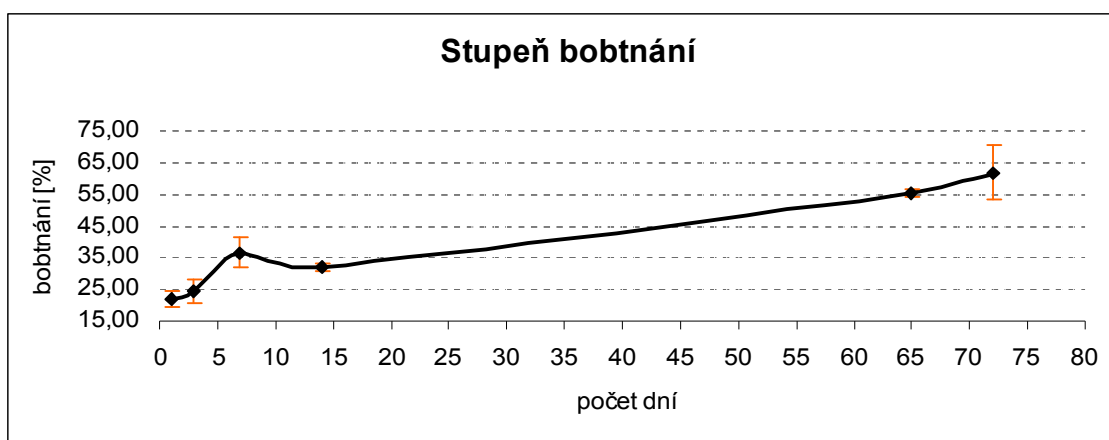
Graf 6 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 4, médium pufr 6,0



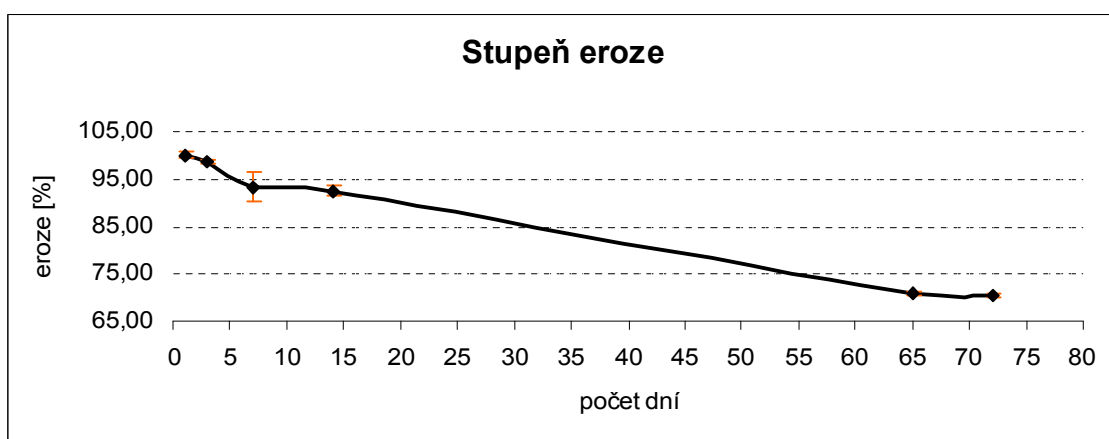
Tabulka 11 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 4, médium pufr 7,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
			[g]			[%]	
Vzorek A	PEA-4-7-A	1	0,1554	0,1928	0,1546	24,71	99,49
	PEA-4-7-A	3	0,1548	0,1973	0,1537	28,37	99,29
	PEA-4-7-A	7	0,1536	0,1964	0,1389	41,40	90,43
	PEA-4-7-A	14	0,1464	0,1794	0,1372	30,76	93,72
	PEA-4-7-A	65	0,1440	0,1581	0,1024	54,39	71,11
	PEA-4-7-A	72	0,1439	0,1722	0,1009	70,66	70,12
Vzorek B	PEA-4-7-B	1	0,1499	0,1799	0,1508	19,30	100,60
	PEA-4-7-B	3	0,1489	0,1761	0,1461	20,53	98,12
	PEA-4-7-B	7	0,1420	0,1807	0,1369	31,99	96,41
	PEA-4-7-B	14	0,1530	0,1861	0,1399	33,02	91,44
	PEA-4-7-B	65	0,1526	0,1685	0,1076	56,60	70,51
	PEA-4-7-B	72	0,1589	0,1726	0,1125	53,42	70,80

Graf 7 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 4, médium pufr 7,0



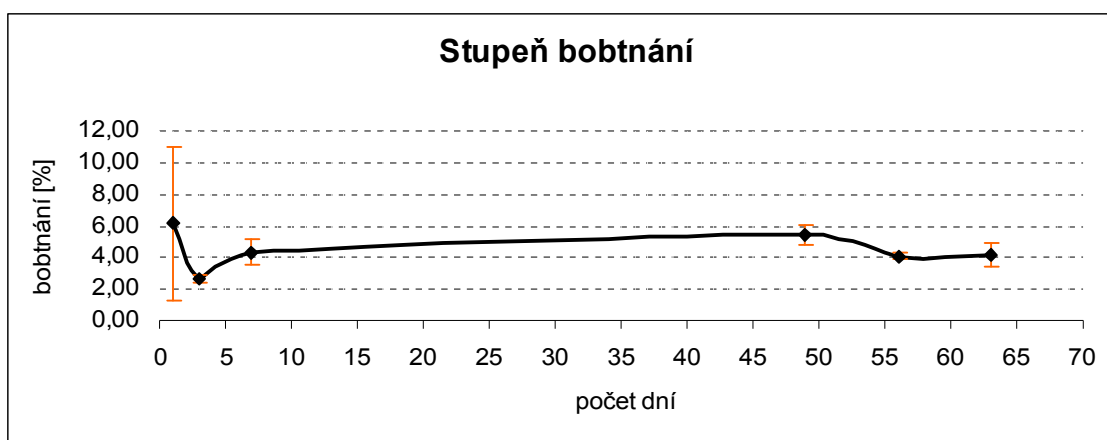
Graf 8 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 4, médium pufr 7,0



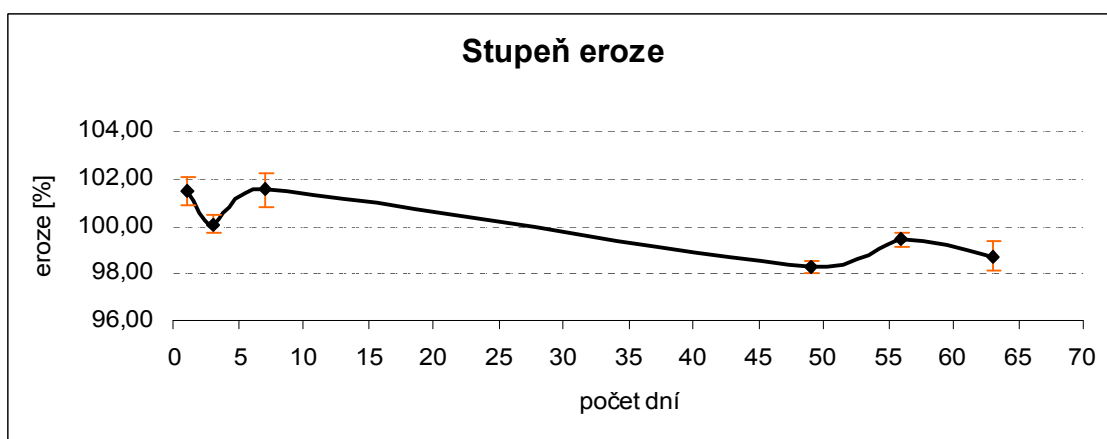
Tabulka 12 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 123, médium pufr 6,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
				[g]		[%]	
Vzorek A	PEA-123-6-A	1	0,1531	0,1565	0,1545	1,29	100,91
	PEA-123-6-A	3	0,1586	0,1619	0,1581	2,40	99,68
	PEA-123-6-A	7	0,1542	0,1608	0,1554	3,47	100,78
	PEA-123-6-A	49	0,1517	0,1578	0,1487	6,12	98,02
	PEA-123-6-A	56	0,1487	0,1546	0,1483	4,25	99,73
	PEA-123-6-A	63	0,1503	0,1566	0,1493	4,89	99,33
Vzorek B	PEA-123-6-B	1	0,1555	0,1761	0,1587	10,96	102,06
	PEA-123-6-B	3	0,1569	0,1622	0,1576	2,92	100,45
	PEA-123-6-B	7	0,1552	0,1670	0,1587	5,23	102,26
	PEA-123-6-B	49	0,1587	0,1639	0,1563	4,86	98,49
	PEA-123-6-B	56	0,1477	0,1522	0,1464	3,96	99,12
	PEA-123-6-B	63	0,1481	0,1503	0,1453	3,44	98,11

Graf 9 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 123, médium pufr 6,0



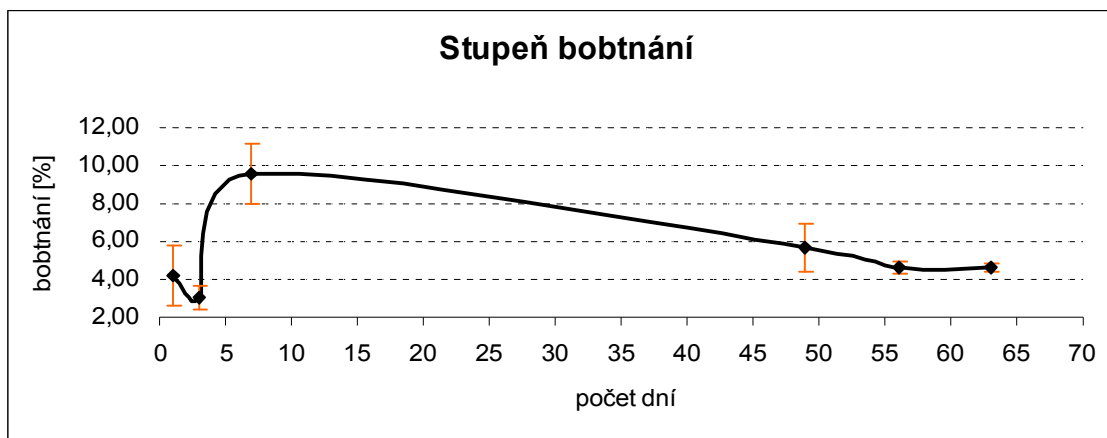
Graf 10 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 123, médium pufr 6,0



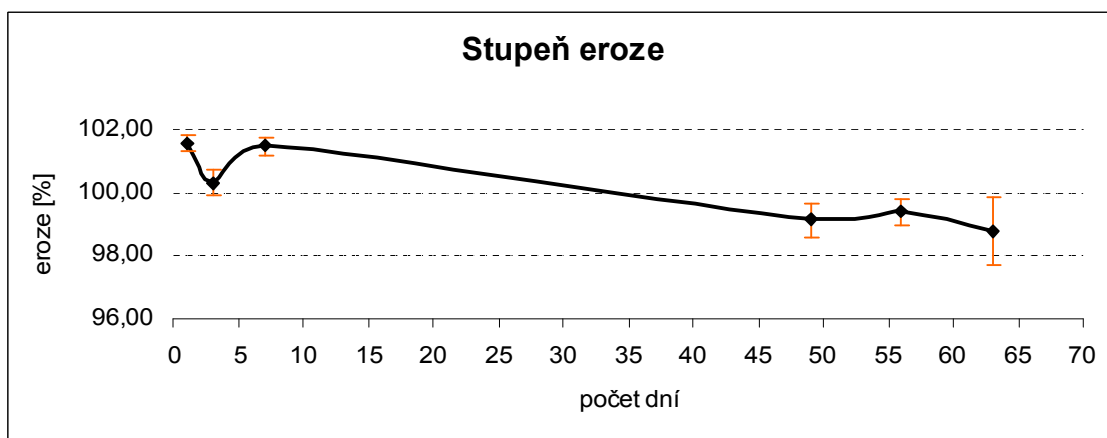
Tabulka 13 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 123, médium pufr 7,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
		[g]			[%]		
Vzorek A	PEA-123-7-A	1	0,1483	0,1598	0,1510	5,83	101,82
	PEA-123-7-A	3	0,1465	0,1499	0,1464	2,39	99,93
	PEA-123-7-A	7	0,1590	0,1789	0,1609	11,19	101,19
	PEA-123-7-A	49	0,1521	0,1621	0,1516	6,93	99,67
	PEA-123-7-A	56	0,1457	0,1504	0,1442	4,30	98,97
	PEA-123-7-A	63	0,1595	0,1633	0,1558	4,81	97,68
Vzorek B	PEA-123-7-B	1	0,1585	0,1649	0,1606	2,68	101,32
	PEA-123-7-B	3	0,1554	0,1623	0,1565	3,71	100,71
	PEA-123-7-B	7	0,1589	0,1747	0,1617	8,04	101,76
	PEA-123-7-B	49	0,1582	0,1629	0,1560	4,42	98,61
	PEA-123-7-B	56	0,1564	0,1638	0,1561	4,93	99,81
	PEA-123-7-B	63	0,1527	0,1592	0,1525	4,39	99,87

Graf 11 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 123, médium pufr 7,0



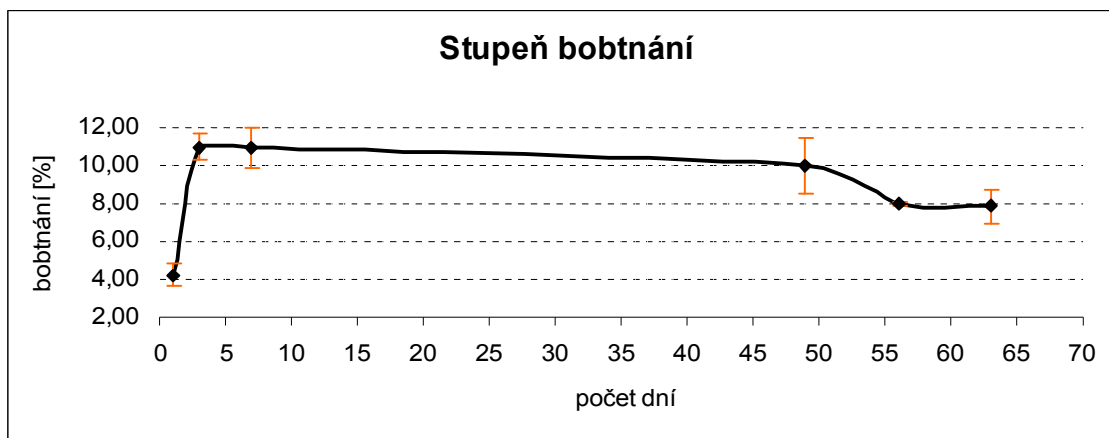
Graf 12 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 123, médium pufr 7,0



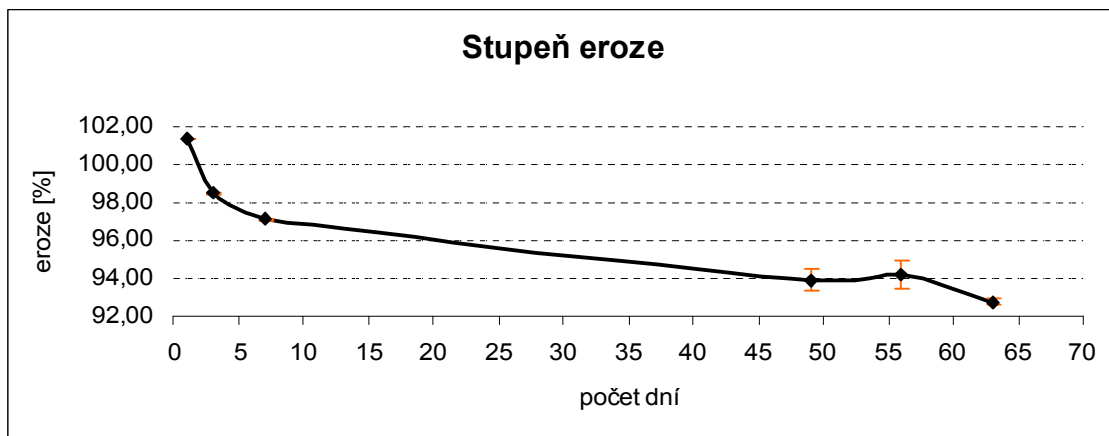
Tabulka 14 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 234, médium pufr 6,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
		[g]			[%]		
Vzorek A	PEA-234-6-A	1	0,1486	0,1561	0,1506	3,65	101,35
	PEA-234-6-A	3	0,1510	0,1642	0,1488	10,35	98,54
	PEA-234-6-A	7	0,1408	0,1531	0,1367	12,00	97,09
	PEA-234-6-A	49	0,1557	0,1597	0,1471	8,57	94,48
	PEA-234-6-A	56	0,1478	0,1516	0,1403	8,05	94,93
	PEA-234-6-A	63	0,1581	0,1566	0,1464	6,97	92,60
Vzorek B	PEA-234-6-B	1	0,1532	0,1628	0,1553	4,83	101,37
	PEA-234-6-B	3	0,1553	0,1707	0,1529	11,64	98,45
	PEA-234-6-B	7	0,1543	0,1648	0,1499	9,94	97,15
	PEA-234-6-B	49	0,1532	0,1594	0,1430	11,47	93,34
	PEA-234-6-B	56	0,1533	0,1546	0,1433	7,89	93,48
	PEA-234-6-B	63	0,1541	0,1557	0,1432	8,73	92,93

Graf 13 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 234, médium pufr 6,0



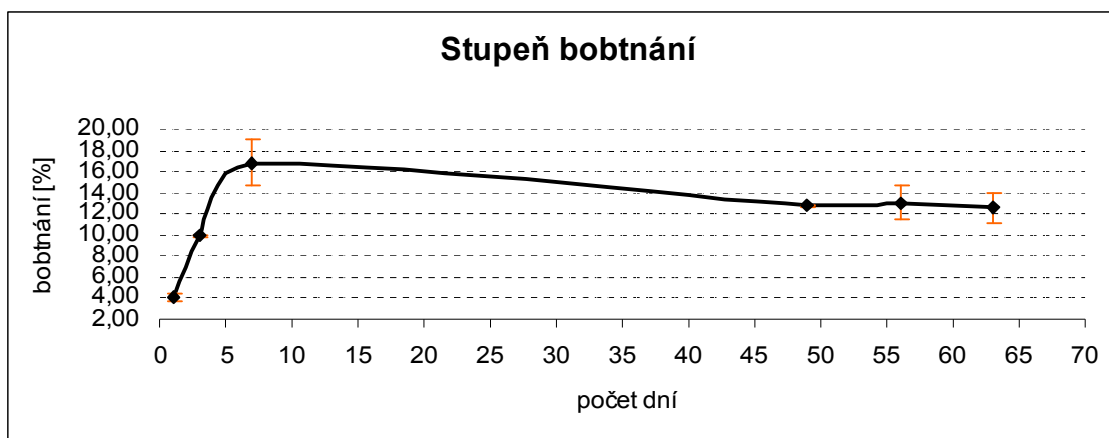
Graf 14 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 234, médium pufr 6,0



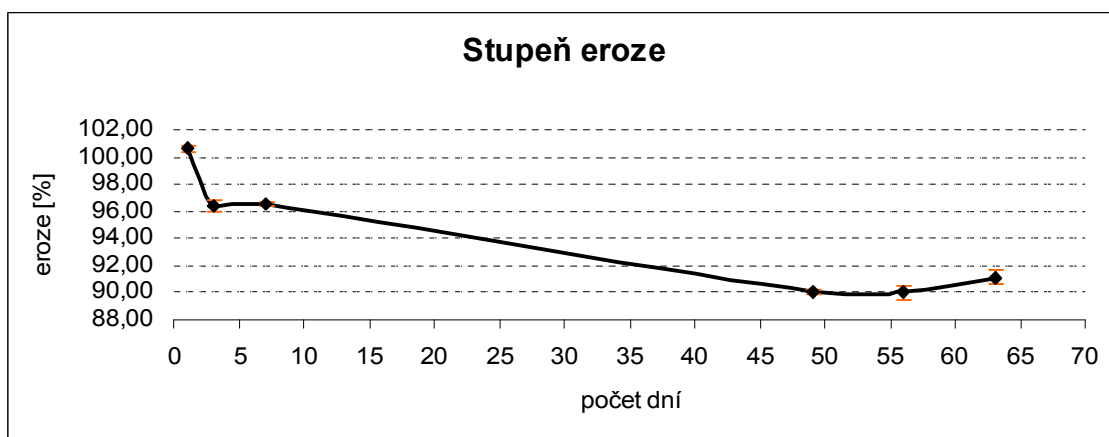
Tabulka 15 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 234, médium pufr 7,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
		[g]			[%]		
Vzorek A	PEA-234-7-A	1	0,1562	0,1640	0,1569	4,53	100,45
	PEA-234-7-A	3	0,1472	0,1564	0,1425	9,75	96,81
	PEA-234-7-A	7	0,1461	0,1681	0,1412	19,05	96,65
	PEA-234-7-A	49	0,1457	0,1476	0,1310	12,67	89,91
	PEA-234-7-A	56	0,1435	0,1448	0,1299	11,47	90,52
	PEA-234-7-A	63	0,1413	0,1459	0,1280	13,98	90,59
Vzorek B	PEA-234-7-B	1	0,1469	0,1536	0,1481	3,71	100,82
	PEA-234-7-B	3	0,1491	0,1573	0,1430	10,00	95,91
	PEA-234-7-B	7	0,1530	0,1692	0,1476	14,63	96,47
	PEA-234-7-B	49	0,1402	0,1427	0,1265	12,81	90,23
	PEA-234-7-B	56	0,1545	0,1586	0,1383	14,68	89,51
	PEA-234-7-B	63	0,1452	0,1480	0,1332	11,11	91,74

Graf 15 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 234, médium pufr 7,0



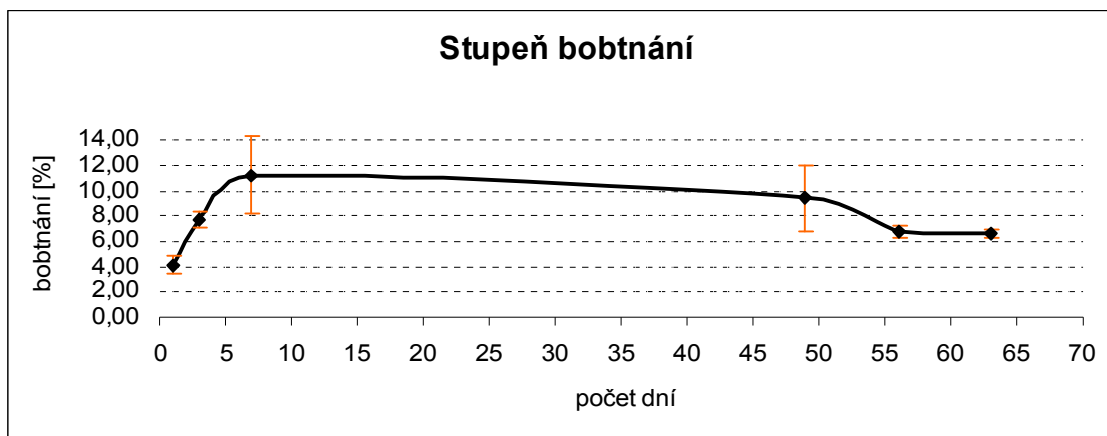
Graf 16 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 234, médium pufr 7,0



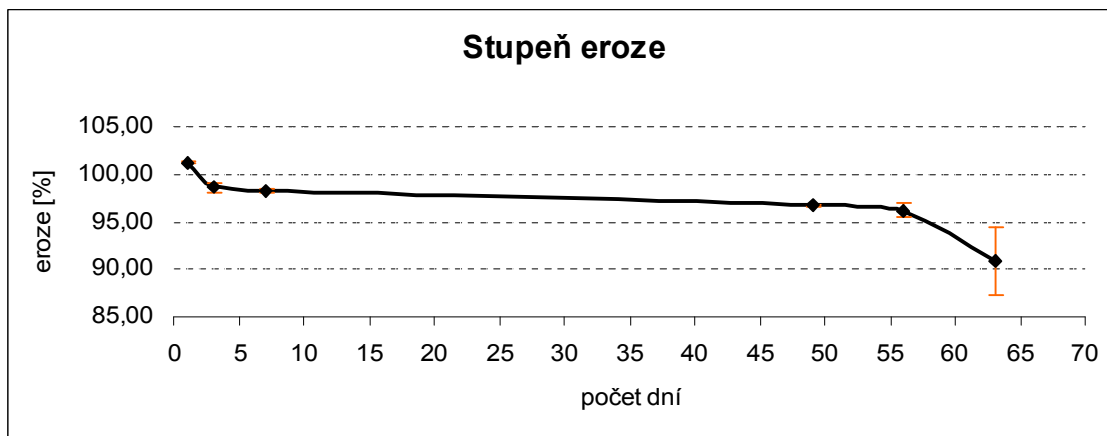
Tabulka 16 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 1234, médium pufr 6,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
		[g]				[%]	
Vzorek A	PEA-1234-6-A	1	0,1501	0,1573	0,1521	3,42	101,33
	PEA-1234-6-A	3	0,1493	0,1605	0,1480	8,45	99,13
	PEA-1234-6-A	7	0,1433	0,1519	0,1404	8,19	97,98
	PEA-1234-6-A	49	0,1431	0,1481	0,1386	6,85	96,86
	PEA-1234-6-A	56	0,1531	0,1591	0,1484	7,21	96,93
	PEA-1234-6-A	63	0,1474	0,1483	0,1394	6,38	94,57
Vzorek B	PEA-1234-6-B	1	0,1490	0,1582	0,1508	4,91	101,21
	PEA-1234-6-B	3	0,1523	0,1600	0,1494	7,10	98,10
	PEA-1234-6-B	7	0,1577	0,1775	0,1553	14,29	98,48
	PEA-1234-6-B	49	0,1551	0,1676	0,1497	11,96	96,52
	PEA-1234-6-B	56	0,1541	0,1565	0,1471	6,39	95,46
	PEA-1234-6-B	63	0,1404	0,1311	0,1225	7,02	87,25

Graf 17 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 1234, médium pufr 6,0



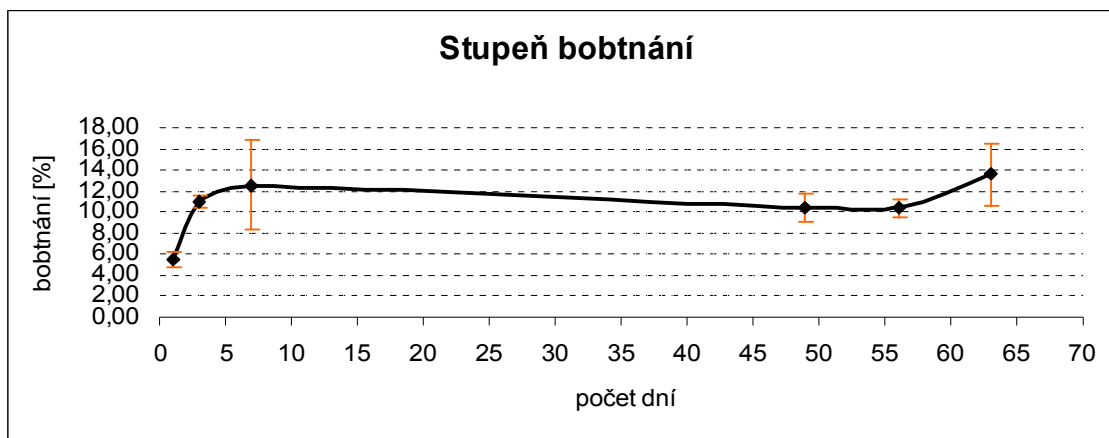
Graf 18 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 1234, médium pufr 6,0



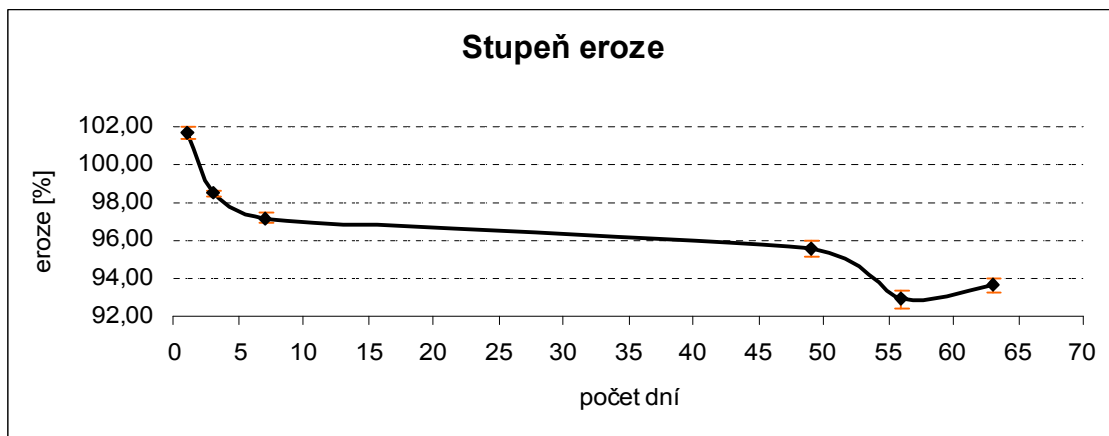
Tabulka 17 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 1234, médium pufr 7,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
			[g]			[%]	
Vzorek A	PEA-1234-7-A	1	0,1496	0,1599	0,1526	4,78	102,01
	PEA-1234-7-A	3	0,1426	0,1553	0,1407	10,38	98,67
	PEA-1234-7-A	7	0,1487	0,1685	0,1442	16,85	96,97
	PEA-1234-7-A	49	0,1588	0,1704	0,1524	11,81	95,97
	PEA-1234-7-A	56	0,1421	0,1460	0,1314	11,11	92,47
	PEA-1234-7-A	63	0,1505	0,1552	0,1403	10,62	93,22
Vzorek B	PEA-1234-7-B	1	0,1515	0,1632	0,1535	6,32	101,32
	PEA-1234-7-B	3	0,1495	0,1639	0,1470	11,50	98,33
	PEA-1234-7-B	7	0,1556	0,1642	0,1516	8,31	97,43
	PEA-1234-7-B	49	0,1550	0,1609	0,1475	9,08	95,16
	PEA-1234-7-B	56	0,1469	0,1502	0,1371	9,56	93,33
	PEA-1234-7-B	63	0,1479	0,1621	0,1391	16,53	94,05

Graf 19 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 1234, médium pufr 7,0



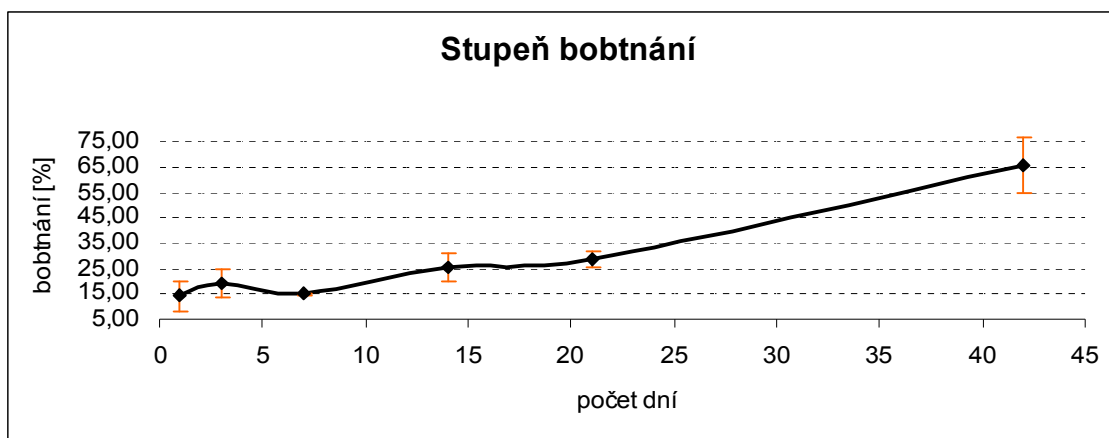
Graf 20 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 1234, médium pufr 7,0



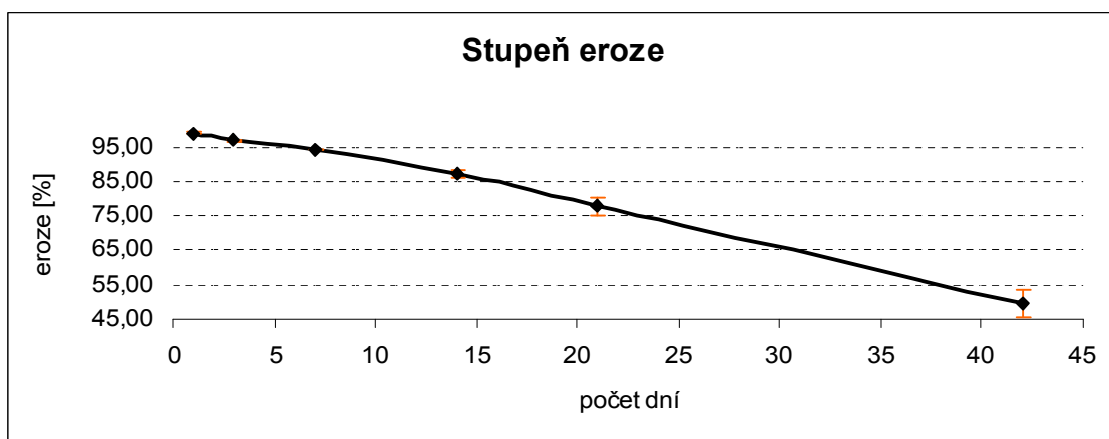
Tabulka 18 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 23D, médium pufr 6,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
		[g]			[%]		
Vzorek A	PEA-23D-6-A	1	0,1561	0,1676	0,1544	8,55	98,91
	PEA-23D-6-A	3	0,1574	0,1725	0,1521	13,41	96,63
	PEA-23D-6-A	7	0,1530	0,1649	0,1443	14,28	94,31
	PEA-23D-6-A	14	0,1549	0,1603	0,1333	20,26	86,06
	PEA-23D-6-A	21	0,1497	0,1485	0,1124	32,12	75,08
	PEA-23D-6-A	42	0,1492	0,1209	0,0683	77,01	45,78
Vzorek B	PEA-23D-6-B	1	0,1539	0,1838	0,1528	20,29	99,29
	PEA-23D-6-B	3	0,1554	0,1882	0,1509	24,72	97,10
	PEA-23D-6-B	7	0,1554	0,1690	0,1462	15,60	94,08
	PEA-23D-6-B	14	0,1592	0,1850	0,1410	31,21	88,57
	PEA-23D-6-B	21	0,1572	0,1585	0,1265	25,30	80,47
	PEA-23D-6-B	42	0,1532	0,1269	0,0819	54,95	53,46

Graf 21 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 23D, médium pufr 6,0



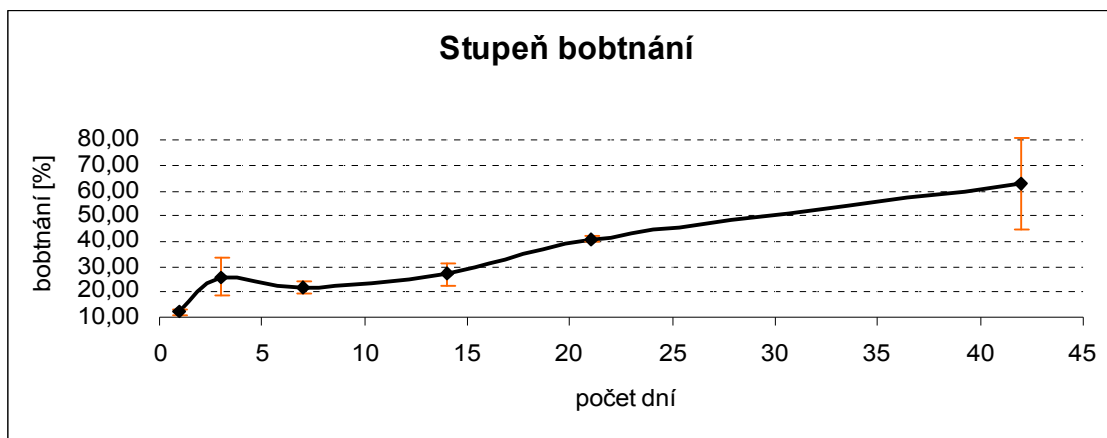
Graf 22 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 23D, médium pufr 6,0



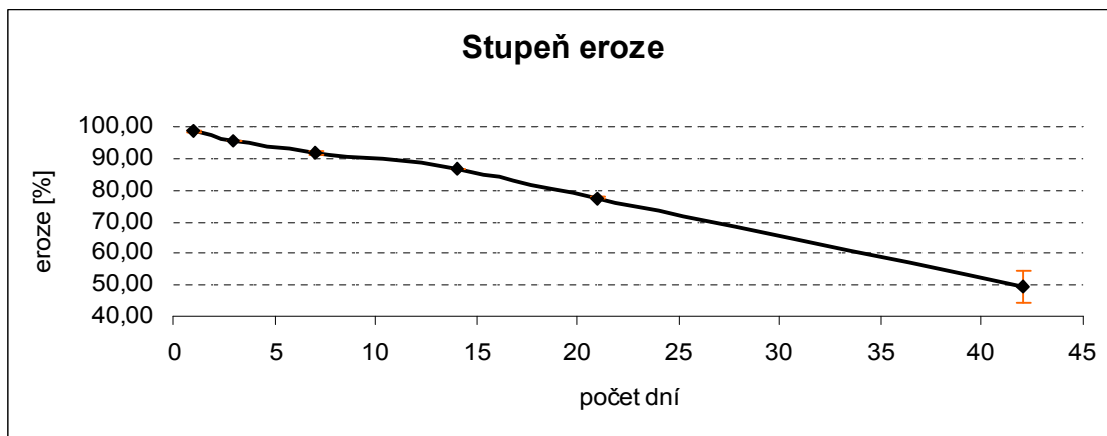
Tabulka 19 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 23D, médium pufr 7,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
		[g]			[%]		
Vzorek A	PEA-23D-7-A	1	0,1568	0,1746	0,1540	13,38	98,21
	PEA-23D-7-A	3	0,1571	0,2006	0,1504	33,38	95,74
	PEA-23D-7-A	7	0,1581	0,1748	0,1462	19,56	92,47
	PEA-23D-7-A	14	0,1554	0,1766	0,1345	31,30	86,55
	PEA-23D-7-A	21	0,1567	0,1690	0,1208	39,90	77,09
	PEA-23D-7-A	42	0,1522	0,1201	0,0831	44,52	54,60
Vzorek B	PEA-23D-7-B	1	0,1454	0,1587	0,1435	10,59	98,69
	PEA-23D-7-B	3	0,1563	0,1777	0,1495	18,86	95,65
	PEA-23D-7-B	7	0,1526	0,1720	0,1389	23,83	91,02
	PEA-23D-7-B	14	0,1559	0,1658	0,1349	22,91	86,53
	PEA-23D-7-B	21	0,1522	0,1679	0,1182	42,05	77,66
	PEA-23D-7-B	42	0,1505	0,1204	0,0664	81,33	44,12

Graf 23 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 23D, médium pufr 7,0



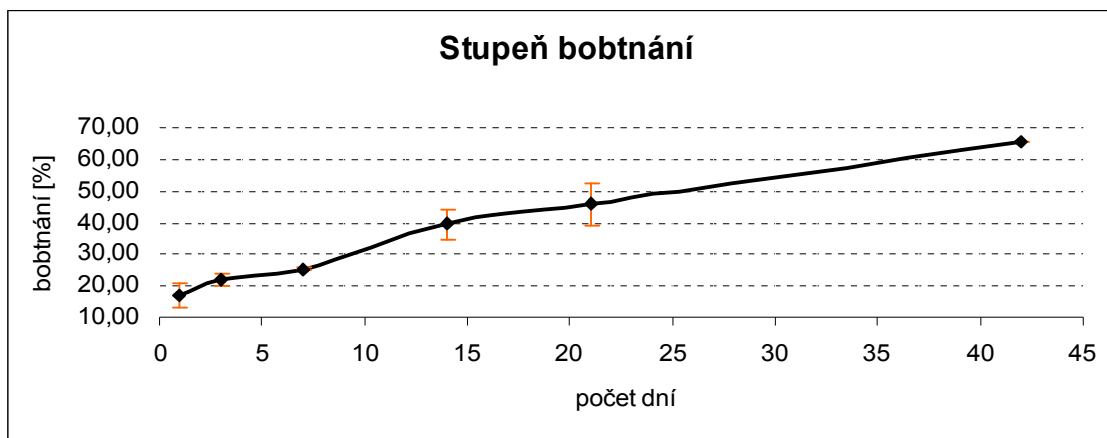
Graf 24 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 23D, médium pufr 7,0



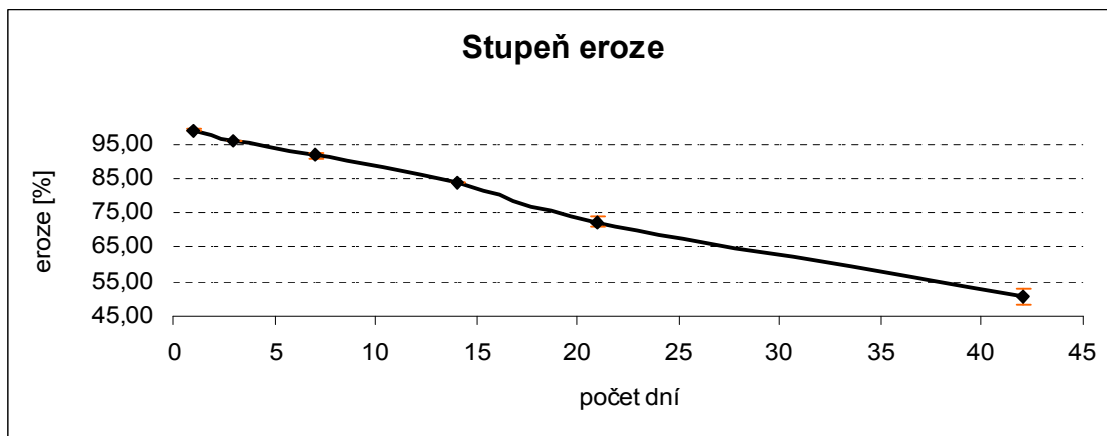
Tabulka 20 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 41D, médium pufr 6,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
		[g]			[%]		
Vzorek A	PEA-41D-6-A	1	0,1535	0,1724	0,1520	13,42	99,02
	PEA-41D-6-A	3	0,1574	0,1872	0,1513	23,73	96,12
	PEA-41D-6-A	7	0,1561	0,1811	0,1441	25,68	92,31
	PEA-41D-6-A	14	0,1592	0,1796	0,1334	34,63	83,79
	PEA-41D-6-A	21	0,1562	0,1604	0,1155	38,87	73,94
	PEA-41D-6-A	42	0,1499	0,1317	0,0795	65,66	53,04
Vzorek B	PEA-41D-6-B	1	0,1475	0,1764	0,1463	20,57	99,19
	PEA-41D-6-B	3	0,1564	0,1801	0,1498	20,23	95,78
	PEA-41D-6-B	7	0,1549	0,1761	0,1409	24,98	90,96
	PEA-41D-6-B	14	0,1568	0,1897	0,1316	44,15	83,93
	PEA-41D-6-B	21	0,1507	0,1630	0,1068	52,62	70,87
	PEA-41D-6-B	42	0,1590	0,1273	0,0770	65,32	48,43

Graf 25 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 41D, médium pufr 6,0



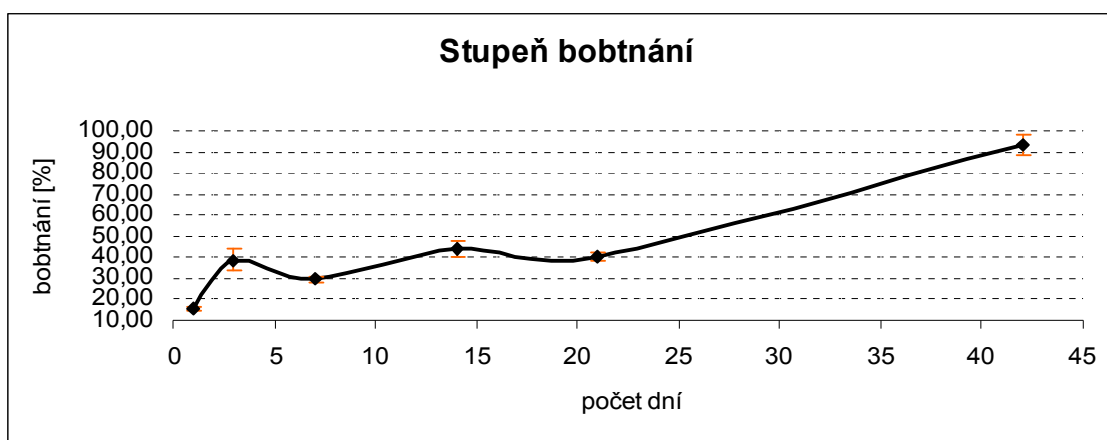
Graf 26 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 41D, médium pufr 6,0



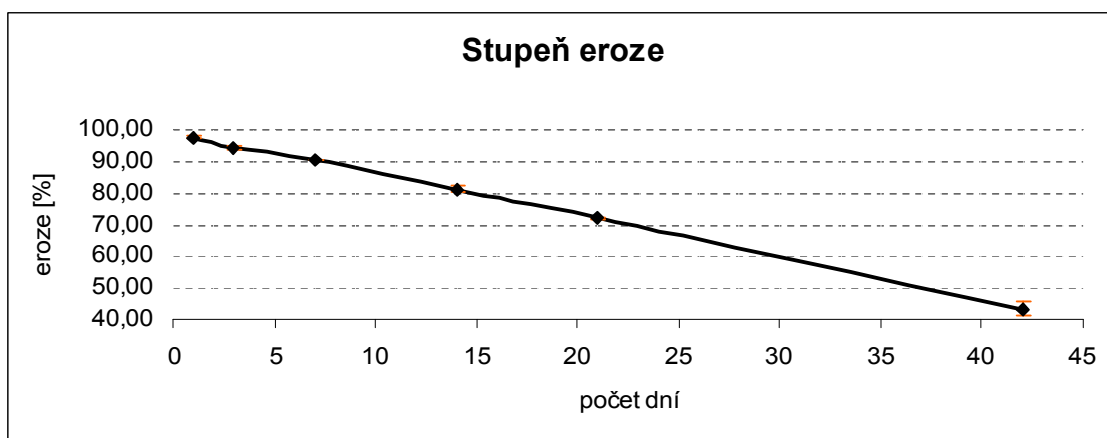
Tabulka 21 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 41D, médium pufr 7,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
		[g]			[%]		
Vzorek A	PEA-41D-7-A	1	0,1525	0,1702	0,1482	14,84	97,18
	PEA-41D-7-A	3	0,1532	0,2096	0,1452	44,35	94,78
	PEA-41D-7-A	7	0,1510	0,1751	0,1365	28,28	90,40
	PEA-41D-7-A	14	0,1506	0,1738	0,1237	40,50	82,14
	PEA-41D-7-A	21	0,1571	0,1550	0,1123	38,02	71,48
	PEA-41D-7-A	42	0,1589	0,1365	0,0725	88,28	45,63
Vzorek B	PEA-41D-7-B	1	0,1557	0,1781	0,1526	16,71	98,01
	PEA-41D-7-B	3	0,1582	0,1984	0,1487	33,42	93,99
	PEA-41D-7-B	7	0,1557	0,1838	0,1405	30,82	90,24
	PEA-41D-7-B	14	0,1545	0,1837	0,1245	47,55	80,58
	PEA-41D-7-B	21	0,1550	0,1599	0,1121	42,64	72,32
	PEA-41D-7-B	42	0,1598	0,1302	0,0658	97,87	41,18

Graf 27 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 41D, médium pufr 7,0



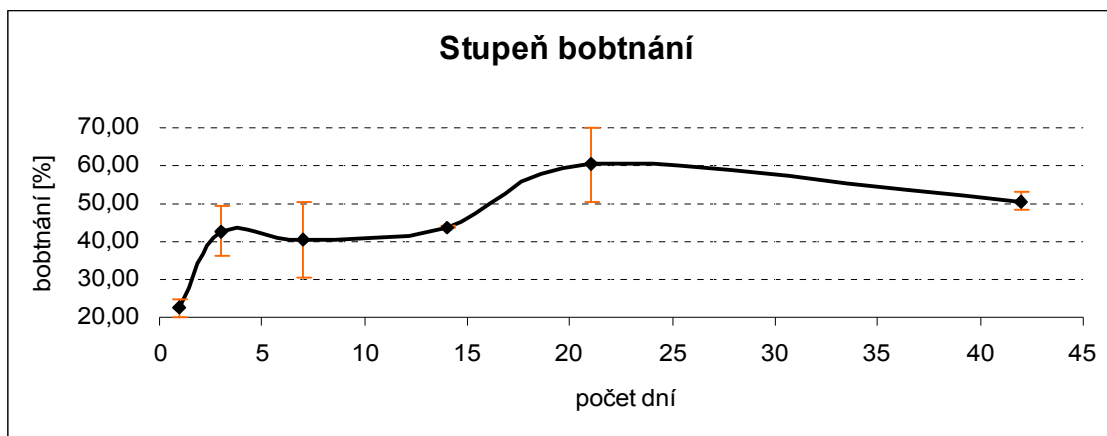
Graf 28 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 41D, médium pufr 7,0



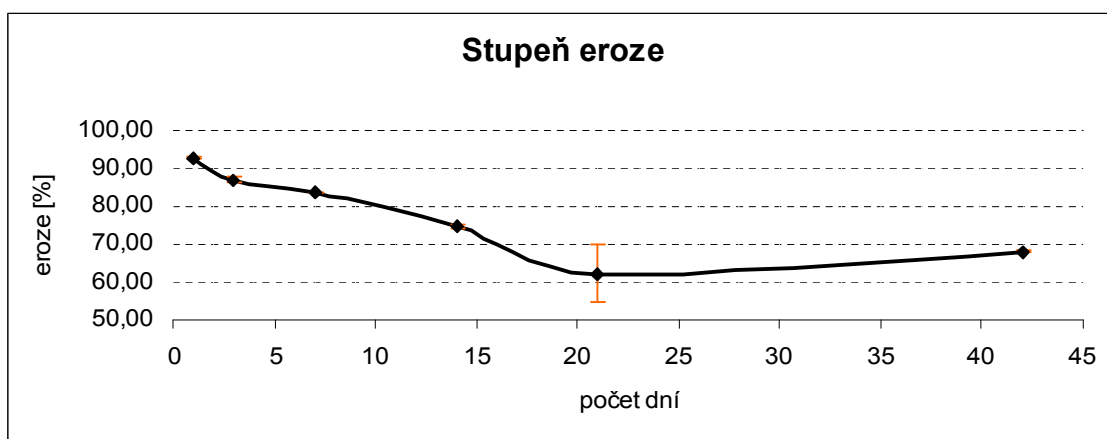
Tabulka 22 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 23A, médium pufr 6,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
		[g]			[%]		
Vzorek A	PEA-23A-6-A	1	0,1556	0,1744	0,1452	20,11	93,32
	PEA-23A-6-A	3	0,1564	0,2011	0,1347	49,29	86,13
	PEA-23A-6-A	7	0,1492	0,1631	0,1248	30,69	83,65
	PEA-23A-6-A	14	0,1522	0,1624	0,1131	43,59	74,31
	PEA-23A-6-A	21	0,1474	0,1376	0,0809	70,09	54,88
	PEA-23A-6-A	42	0,1581	0,1642	0,1071	53,31	67,74
Vzorek B	PEA-23A-6-B	1	0,1499	0,1729	0,1386	24,75	92,46
	PEA-23A-6-B	3	0,1477	0,1766	0,1296	36,27	87,75
	PEA-23A-6-B	7	0,1567	0,1970	0,1311	50,27	83,66
	PEA-23A-6-B	14	0,1490	0,1617	0,1123	43,99	75,37
	PEA-23A-6-B	21	0,1574	0,1654	0,1098	50,64	69,76
	PEA-23A-6-B	42	0,1585	0,1605	0,1083	48,20	68,33

Graf 29 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 23A, médium pufr 6,0



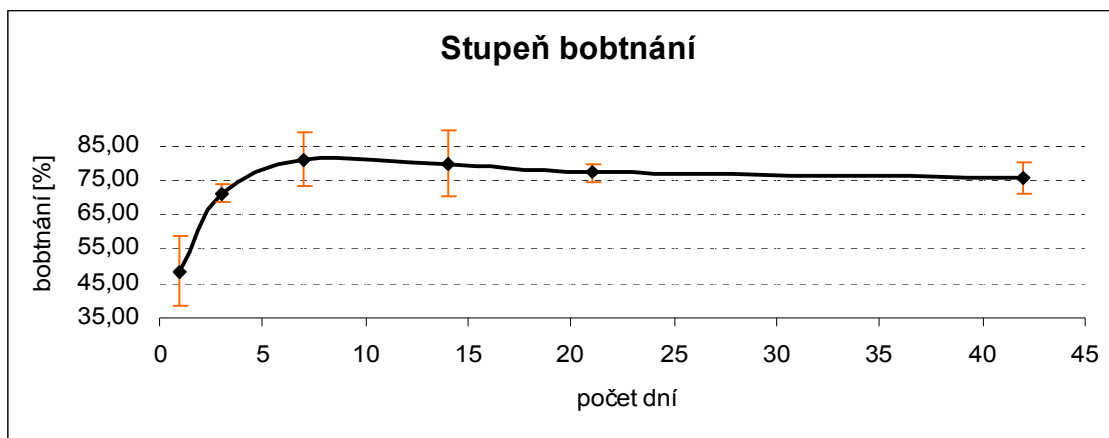
Graf 30 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 23A, médium pufr 6,0



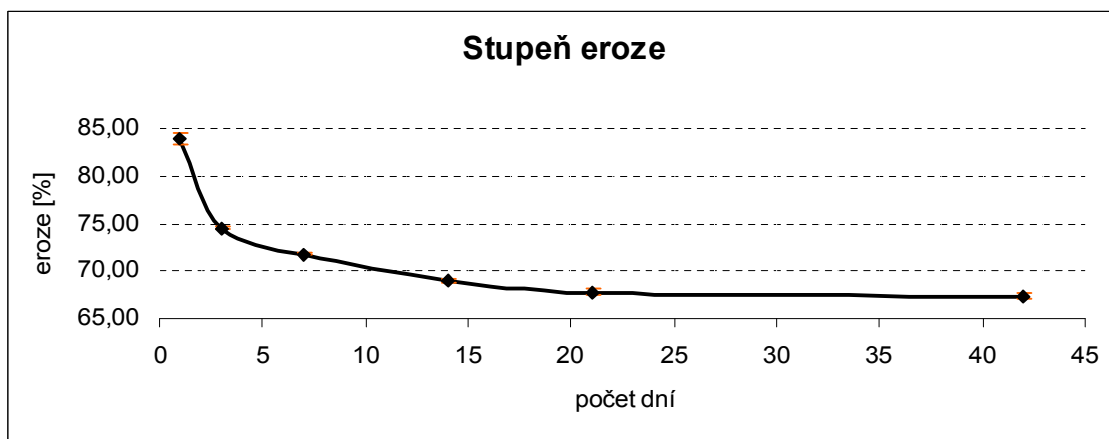
Tabulka 23 Časový průběh stupně bobtnání a stupně eroze, vzorek PEA 23A, médium pufr 7,0

		Dny	Vzorek	Mb	Ms	B	E
		[g]			[%]		
Vzorek A	PEA-23A-7-A	1	0,1573	0,1839	0,1330	38,27	84,55
	PEA-23A-7-A	3	0,1590	0,2000	0,1186	68,63	74,59
	PEA-23A-7-A	7	0,1553	0,2109	0,1117	88,81	71,93
	PEA-23A-7-A	14	0,1558	0,2030	0,1073	89,19	68,87
	PEA-23A-7-A	21	0,1515	0,1851	0,1031	79,53	68,05
	PEA-23A-7-A	42	0,1558	0,1804	0,1054	71,16	67,65
Vzorek B	PEA-23A-7-B	1	0,1582	0,2091	0,1318	58,65	83,31
	PEA-23A-7-B	3	0,1521	0,1969	0,1134	73,63	74,56
	PEA-23A-7-B	7	0,1586	0,1970	0,1138	73,11	71,75
	PEA-23A-7-B	14	0,1521	0,1796	0,1054	70,40	69,30
	PEA-23A-7-B	21	0,1548	0,1821	0,1044	74,43	67,44
	PEA-23A-7-B	42	0,1499	0,1809	0,1005	80,00	67,04

Graf 31 Časový průběh stupně bobtnání, vzorek PEA 23A, médium pufr 7,0



Graf 32 Časový průběh stupně eroze, vzorek PEA 23A, médium pufr 7,0



5 DISKUSE

5.1 K TÉMATU PRÁCE

Biodegradabilní materiály využitelné ve tkáňovém inženýrství a jako nosiče léčiv jsou v současné době intenzivně studovány na různých akademických a průmyslových pracovištích. Požadavky na jejich parametry stoupají v náročnosti. Nejčastěji se jedná o syntetické polymery připravované „na míru“ (*tailor made*). V případě nosičů léčiv je velmi důležitým parametrem jejich interakce s hydrofilním prostředím organismu po aplikaci zpravidla ve formě implantovaných tělísek, polotuhých nebo částicových systémů. Interakce tohoto typu je možno relativně snadno a věrohodně simulovat v podmínkách *in vitro*. Základním parametrem je degradace polymeru, která se nejčastěji chápe jako snižování molekulové hmotnosti náhodným přeskupením kovalentních vazeb hlavního řetězce. Dalšími důležitými parametry degradace jsou bobtnání a eroze. Oba děje mohou probíhat následně nebo do různé míry paralelně. Z praktických hledisek je výhodné, když materiál bobtná co nejméně a eroduje z povrchových vrstev. Průběh bobtnání a eroze má značný význam pro kinetiku liberace aktivní látky. Souvisí s difúzí molekul, může docházet k obstrukčním efektům, k sorpci, liberace, při současném bobtnání, má zvláštní, nefickovský, často kontinuální průběh, který se označuje ve fyzice a příbuzných aplikovaných oborech, jakými je také farmaceutická technologie a biofarmacie, jako Case II Effect.

Na katedře farmaceutické technologie FaF UK v Hradci Králové byly syntetizovány polymery a oligomery polyesterového a polyesteramidového typu s různou konstitucí řetězce, konkrétně lineární nebo do různého stupně větvenou. Při syntéze byl využit postup polymerace za otevření kruhu nebo polykondenzace. Jednoznačnou výhodou polykondenzace je možnost realizovat syntézu bez použití katalyzátoru. Nižší dosažitelná molekulová hmotnost produktů reakce může být v některých případech výhodou.

Předmětem studia chování v prostředí roztoků pufrů pH 6,0 a 7,0 byly především polyesteramidy. Látky tohoto typu jsou v oboru farmaceutická technologie zkoumány ve velmi omezeném rozsahu. Je o nich známo, že jsou biokompatibilní a že rychlost jejich degradace je mezi rychle hydrolyzujícími polyestery a velmi stabilními polyamidy. Byly syntetizovány čtyři různé látky označené číslicemi, z nichž pouze nosič PEA 1 byl již dříve

popsán. Podle poznatků publikovaných o jeho syntéze byl jako katalyzátor použit cín oktoát.

Nosič PEA 1 byl kopolymerem kyseliny sebakové s ethanolaminem. Velmi rychle krystalizoval, což je možno vysvětlit lineární velmi pravidelnou molekulou s flexibilními amidovými vazbami se silnými interakcemi mezi hydrofilními skupinami navzájem a hydrofobními skupinami navzájem. Při obyčejné teplotě byl velmi křehký.

Nosič PEA 2 se lišil od nosiče PEA 1 tím, že místo 15 mol% ethanolaminu byl použit 2-amino-1-butanol. Tato složka vnesla do struktury jistou nepravidelnost v podobě ethylů a odlišné délky alkylenu.

Nosič PEA 3 se lišil od PEA 2 záměnou 15 mol% 2-amino-1-butanolu stejným podílem 2-amino-2-methyl-1-propanolu. Od této složky bylo očekáváno, že se stane výraznějším zdrojem nepravidelnosti struktury řetězce. Z hlavního řetězce mohly v tomto případě vyčnívat dva methyly.

Nosič PEA 4 byl kopolymerem čtyř složek: kyseliny sebakové a adipové v ekvimolárním poměru, 30 mol% ethanolaminu a po 10 mol% aminobutanolu a amino-methyl-propanolu. Tento nosič byl evidentně značně amorfní, také se vyznačoval velmi nízkou hodnotou teploty skelného přechodu, stejně jako ostatní tři polyesteramidy.

Molekulovou hmotnost nosičů nebylo možno v Synpo a.s. Pardubice možno stanovit, protože se nerozpouštějí v tetrahydrofuranu.

Dalšími nosiči, které byly použity do směsí s polyesteramidy, byly větvené polyestery, označené jako D5 a A3. Větvíci složkami byl dipentaerytritol (D) nebo kyselina polyakrylová (A). Číslice vyjadřuje koncentraci větvíci složky v hmotnostních procentech. Hlavními reaktanty byly kyselina DL-mléčná a kyselina glykolová. Oba nosiče se vyznačovaly vysokým stupněm větvení. Nosič D5 měl ve frakci větvených molekul pouze koncové hydroxyly, koncentrace karboxylů indikovala podíl nevětvených, tedy lineárních řetězců bez účasti dipentaerytritolu. Nosič A3 měl obdobně ve větvených molekulách s kyselinou polyakrylovou pouze koncové karboxyly.

Od těchto oligoesterových terpolymerů bylo očekáváno, že budou modifikovat průběh bobtnání a eroze spíše ve smyslu urychlení eroze při nízkém stupni bobtnání. Studium kompatibility složek nebylo předmětem této práce.

5.2 K METODICE PRÁCE

V této práci byly využity metodické postupy vypracované na školícím pracovišti v průběhu dřívějších let. V případě větvených oligoesterů bylo prokázáno, že jejich bobtnání je nerovnovážný děj, který v mnohých případech nemá progresivní charakter. Materiál postupně bobtná do maxima. Po této fázi následuje odbobtnání. V některých případech může následovat další fáze bobtnání s případným odbobtnáním.

Eroze zpravidla probíhá již od počátku působení média, nebo v krátkém úseku po začátku jeho působení. Její rychlost se exponenciálně snižuje. Ve zkoumaných těliscích tedy současně probíhá bobtnání nebo odbobtnání a eroze. Je tedy nemožné zkoumat tyto děje odděleně a nezávisle na sobě. Jedná se tedy o dva velmi komplikované nerovnovážné děje. Bylo jednoznačně prokázáno, že citlivost bobtnání ke změnám parametrů média je značně vyšší, než je citlivost eroze.

Průběh dějů může být ovlivněn aktuální aciditou prostředí. Tento faktor se může projevit i při použití nosičů. Hodnota pH se může vlivem různých patofyziologických faktorů měnit. Obdobně jako v dříve realizovaných studiích, byla s ohledem na reálné možnosti zvolena hodnota pH 6,0 a 7,0. Kapacita pufrů byla dostatečná k udržení hodnot do výměny média.

5.3 BOBTNÁNÍ A EROZE JEDNOTLIVÝCH POLYESTERAMIDŮ

V tabulce 8 a v grafu 1 a 2 jsou data, která se týkají bobtnání a eroze nosiče označeného jako PEA 1 v pufru o pH 6,0. Bobtnání mělo zajímavý průběh. Po sedmi dnech byla dosažena maximální hodnota charakteristiky. Mezi 7. a 14. dnem se v médiu pH 6 (graf 1) stupeň bobtnání snížil z 33 % na 4 % a udržoval se na nízkých hodnotách až do 72. dne. V období po 7. dni došlo k velmi nevýrazné erozi. Vysvětlením může být hydrolyza amorfni frakce nosiče a její dočasný vliv na zvýšené bobtnání, případně eluce ve vodě rozpustné nízkomolekulární frakce produktu polykondenzační reakce. Hodnoty eroze 102 % je možno vysvětlit depozicí elektrolytů z média do zbobtnalého tělesa z polyesteramidu. Chování stejného nosiče v pufru pH 7,0 bylo velmi podobné (graf 3,4 a tabulka 9), těleso bobtnalo s maximem naměřeným v 7. dni, eroze byla také velmi pomalá. Je možno odhadnout, že za 72 dní ubyla pouze 2 % procenta sloučeniny.

V grafu 5 a 6 a v tabulce 10 jsou výsledky testování interakcí nosiče PEA 4 při pH média 6,0. Jednalo se o vysoce viskózní patrně amorfni materiál. V médiu došlo k postupnému bobtnání do 14. dne, v 72denním intervalu byla zjištěna nižší hodnota. Mírné snížení je možno přičíst erozi pro manipulaci s adhezivním materiálem. Nosič erodoval rychleji než výše popsany PEA 1. Za 72 dní ubylo asi 15 % z původní hmotnosti (graf 6).

Stejný nosič PEA 4 se ve vodním isotonickém roztoku pufru pH 7,0 choval zcela odlišně než při pH 6,0, jak je patrné z tab. 11 a z grafů 7 a 8. Stupeň bobtnání se progresivně zvyšoval, za 72 dní převyšoval 60 %. Za 72 dní erodovalo přibližně 30 % z celkové původní hmotnosti (graf 8). Nosič PEA 4 z hlediska bobtnání a eroze má parametry, které by mohly být vhodné pro formulaci biodegradabilních přípravků s léčivou.

5.4 BOBTNÁNÍ A EROZE SMĚSÍ POLYESTERAMIDŮ

Velmi odlišné parametry biodegradability nosičů PEA 1 a PEA 4 vedly k záměru vyzkoušet jejich směsi, případně směsi s dalšími polyesteramidy. Byly smíseny ve stejných hmotnostních podílech tři polyesteramidy označené jako PEA 1, 2 a 3. Výsledky bobtnání a eroze v médiu pH 6,0 jsou v tab. 12 a v grafu 9 a 10. Zajímavý je velmi nízký a prakticky konstantní stupeň bobtnání pohybující se kolem hodnoty 4 %. Z praktického hlediska je možno negativně hodnotit příliš pomalou erozi. Za 63 dnů ubylo pouze 2 % z celkové hmotnosti tělísek. Chování směsi polyesteramidů při pH 7,0 je prezentováno v tabulce 13 a v grafu 11 a 12. Odlišnosti jsou nevýrazné. Týkají se pouze maxima stupně bobtnání prokázaného v intervalu 7 dní. Blížilo se 10 %, potom následovalo odbobtnání na hodnotu přibližně 5 %.

Další testovaná směs polyesteramidů se lišila záměnou vysoce krystalického PEA 1 za pravděpodobně amorfni PEA 4. Tato změna měla významný vliv na vlastnosti systému, jak je možno posoudit z grafů 13 a 14 a tabulky 14. Stupeň bobtnání při pH 6,0 byl vyšší, pohyboval se kolem 10 %. Rychlost eroze byla také vyšší, za 49 dní ubylo asi 8 % materiálu tělísek. Při pH média 7,0 bylo bobtnání mírně zvýšeno. Také eroze byla poněkud rychlejší. Za 51 dní byl zaznamenán asi 11% úbytek hmotnosti tělísek, jak je vidět z grafu 16.

Byly také vytvořeny matrice smísením stejných dílů všech polyesteramidů, tedy PEA 1 až 4. Jejich chování v roztoku pufru pH 6,0 je v grafu 17 a 18. V počáteční fázi se

hodnota stupně bobtnání postupně zvyšuje k 11 %, potom dochází k pomalému odbobtnání k hodnotě 7 %. Eroze je stejně jako v případě výše popsanych směsí velmi pomalým procesem. Při pH 7,0 je stupeň bobtnání mírně vyšší, eroze tělísek je prakticky stejná. Z těchto výsledků je možno dojít k závěrům, že jednotlivé polyesteramidů se ve směsích z hlediska stupně bobtnání a rychlosti eroze chovají aditivně. Uvedené vlastnosti je tedy možno řídit mísením jednotlivých produktů. Dalším poznatkem souvisejícím s aditivitou chování je vysoká pravděpodobnost správnosti hypotézy o kompatibilitě složek.

5.5 BOBTNÁNÍ A EROZE SMĚSÍ POLYESTERAMIDŮ S VĚTVENÝMI POLYESTERY

Protože směsi polyesteramidů měly nevýhodně pomalou erozi při vhodných parametrech nízkého bobtnání, byly testovány jejich směsi s lineárními a větvenými polyestery. Směs PEA 1 nebo PEA 4 s PLGA se vyznačovala příliš pomalou erozí při vysokém stupni bobtnání, charakteristika přesahovala hodnotu 100 % (tab. 5). Větvené polyestery mají relativně nízký stupeň bobtnání a kontinuální erozi.

Dále byl vybrán 5% dipentaerytrolelem větvený terpolymer kyseliny DL-mléčné a glykolové (označený jako D5). Jeho směsi s PEA1 nebo PEA 4 měly velmi nízký stupeň bobtnání (20 - 40 %), rychlost eroze však byla příliš nízká (tab. 5).

V grafu 21 a 22 a v tab. 18 jsou údaje, které se týkají chování směsí PEA 2, PEA3 a D5 v poměru složek 1:1:4. Tato změna ve složení se projevila při pH média 6,0 postupným růstem hodnot stupně bobtnání. Na konci pokusu, za 42 dní byla jeho hodnota 65 %. Také eroze byla vlivem přísady polyesteru podstatně rychlejší, úbytek hmotnosti za 42 dní byl přibližně poloviční. Změna pH média na hodnotu 7,0 neměla prakticky žádný vliv na časový průběh obou sledovaných charakteristik, jak je patrné z tabulky 19 a grafů 23 a 24.

Ve směsi jiných polyesteramidů, tedy PEA 1, PEA 4 s 67 % nosičem D5 nedošlo k výrazným změnám v chování při pH 6,0 proti směsi PEA 2, PEA 3 a D5 (tab. 20, grafy 25 a 26). Po zvýšení pH na 7,0 se stupeň bobtnání v pozdějším intervalu zvýšil, mírně se také zvýšila rychlost eroze (tab. 21, grafy 27 a 28). Za 42 dní zůstala necelá polovina neerodovaného materiálu.

5.6 BOBTNÁNÍ A EROZE POLYESTERŮ VĚTVENÝCH KYSELINOU POLYAKRYLOVOU A JEJICH SMĚSÍ S POLYESTERAMIDY A POLYESTERY

V tabulce 6 jsou údaje o chování samotných nosičů A2, A3 a A4. Je z nich patrné, že v prostředí pufru pH 6 dochází k výraznému bobtnání (až 200 %) a velmi rychlé erozi. Tělísko patrně nereroduje na základě hydrolyzy řetězců, ale spíše mechanismem rozpouštění gelu.

V kombinaci A3 a PEA 4 v poměru 1:1 v pufru pH 7,0 se směs rozpustila za jeden den, u směsi A3 a PEA 1 v poměru 1:1 ve stejném pufru dosahovalo bobtnání téměř 300 % a eroze okolo 60 % za jeden den. Při pH 6,0 za 1 den zbylo 40 % až 90 % z původního množství, bobtnání se pohybovalo mezi 50 – 110 %. Po zvýšení podílu polyesteramidu došlo k rozpuštění složky A a k zachování skeletu PEA.

Záměna terpolymeru s dipentaerythritolem D5 (graf 29 a 30) za terpolymer A3 s kyselinou polyakrylovou ve směsi s PEA 2 a PEA3 neměla výrazný vliv na charakter křivky popisující průběh bobtnání a eroze modelových matric. Nosič A3 byl použit v 33 % koncentraci. Znamená to, že jeho účinek byl výraznější než působení terpolymer D5 (tab 18, 19; grafy 21 - 24). V grafech 29, 30 a v tab. 22 je dokumentováno, že bobtnání systémů se postupně zvyšuje. Příčinou může být nižší molekulová hmotnost doprovázená vyšší koncentrací koncových skupin. Eroze také probíhá kontinuálně, za 42 dní došlo k erozi třetiny z původní hmotnosti tělísek. Po zvýšení pH na 7,0 byly zaznamenány pronikavé změny v chování směsných matric (tab. 23, grafy 31 a 32). Z grafu 31 je patrné, že po 7 dnech působení pufru hodnoty stupně bobtnání dosáhnou téměř rovnovážné hodnoty, která se pohybuje kolem 80 %. Po tomto sedmidenním intervalu se také výrazně zpomalí eroze systému (graf 32).

Směs A3 a lineárního polyesteru PLGA v poměru 1:1 se vyznačovala extrémně vysokým bobtnáním (maximum na 230 %). Eroze proběhla do 20 % za 1 den v pH 7, v pH 6 ubylo 25 % původního množství. Po změně poměru složek na 1:3 se bobtnání ještě více projevilo (400 %), za 3 dny byla eroze v rozsahu 50 %. Také směs A3 a D5 byla pro využití jako nosiče léčiv nepoužitelná (po jednom dni bobtnání blížící se 300 % a eroze na zhruba 20 % původní hmotnosti).

6 ZÁVĚR

1. Bylo prokázáno, že polyesteramidy s nízkými hodnotami molekulové hmotnosti syntetizované polykondenzační reakcí se vyznačují nízkým stupněm bobtnání s nízkou rychlostí eroze v prostředí roztoků pufrů pH 6,0 a 7,0.
2. Stupeň bobtnání a rychlost eroze jsou do značné míry pravděpodobně ovlivněny krystalinitou sloučenin.
3. Stupeň bobtnání má nerovnovážné hodnoty a v některých případech počáteční stádium bobtnání pokračuje stádiem odbobtnání, charakteristika tedy dosahuje maximálních hodnot.
4. Interakce mezi polyesteramidy a hydrofilním médiem je možno řídit smísením těchto sloučenin.
5. Přísada polyesterů s větvenou konstitucí řetězce do matic z polyesteramidů vede ke zvýšení hodnot stupně bobtnání a ke zvýšení rychlosti eroze. Kopolymer s kyselinou polyakrylovou má výraznější vliv na změnu vlastností polyesteramidů než nosič větvený dipentaerythritolem.
6. Polyesteramidy jsou materiály, které mohou být využity v různých oblastech tkáňového inženýrství, jejich směsi s polyestery by mohly najít uplatnění v oblasti přípravků s prolongovanou liberací léčiv.

7 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] SHIEH, S.-J., ZIMMERMAN, M. C. and PARSONS, J. R. Preliminary characterization of bioresorbable and nonresorbable synthetic fibers for the repair of soft tissue injuries. *J. Biomed. Mater. Res*, 1990, vol. 24, pp.789-808.
- [2] MEISLIN, R. J., WISEMAN, D. M., ALEXANDER, H., CUNNINGHAM, T., LINKSKY, C., CARLSTEDT, C., PITMAN, M. and CASAR, R. A biochemical study of tendon adhesion reduction using a biodegradable barrier in a rabbit model. *J. Appl. Biomater.*, 1990, vol. 1, pp.13-19.
- [3] MAA HELLER, J.Y., WUTHRICH, F., NG, S. Y. and DUNCAN, R. Recent developments in the synthesis and utilization of poly(ortho esters). *J. Controlled Rel.*, 1991, vol. 16, pp. 3-13.
- [4] LANGER, R. New methods of drug delivery. *Science*, 1990, vol. 249, pp. 1527-1533
- [5] ST. PIERRE, T. and CHIELLINI, E. Biodegradability of synthetic polymers used for medical and pharmaceutical applications. *J. Bioact. Compat. Polymers*, 1986, vol. 1, pp. 467 – 497.
- [6] LEMM, W., KRUKENBERG, T., REGIER, G., GERLACH, K. and BUCHERL, E. S. Biodegradation of some biomaterials after subcutaneous implantation. *Proc. Eur. Soc. Artif. Org.*, 1981, vol, pp. 71 – 75.
- [7] POTTS, J. E., CLENDINNING, R. A., ACKART, W. B. and NIEGISCH, W. D. The biodegradability of synthetic polymers. *Polymer Science and Technology Series*, New York: Plenum Press, 1973, vol. 3, pp. 61 – 79.
- [8] HUANG, S. J., BANSLEBEN, D. A. and KNOX, J. R. Biodegradable polymers: chymotrypsin degradation of low molecular weight poly(ester-urea) containing phenylalanine. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1979, vol. 23, pp. 429 – 437.
- [9] SWIFT, G. Biodegradable polymers in the environment: Are they really biodegradable? *Proc. ACS Div. Polym. Mat. Sci. Eng.*, 1992, vol. 66, pp. 403 – 404.
- [10] RATNER, B. D., GLADHILL, K.W. and HORBETT, T. A. Analysis of in vitro enzymatic and oxidative degradation of polyurethanes. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1988, vol. 22, pp. 509 – 527.
- [11] HERGENROTHER, R. W., WABERS, H. D. and COOPER, S. L. The effect of chain extenders and stabilizers on the in-vivo stability of polyurethanes. *J. Appl. Biomater.*, 1992, vol. 3, pp. 17 – 22.
- [12] NARAYAN, R. Degradable materials. *Perspectives, issues and opportunities*, FL: CRC Press, 1990, pp. 1 – 37.
- [13] VERT, M. Bioresorbable polymers for temporary therapeutic applications. *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 1989, vol. 166/167, pp. 155 – 168.

- [14] ALBERTSON, A.-C. and KARLSSON, S. Biodegradation and test methods for environmental and biomedical applications of polymers. *Degradable Materials. Perspectives, Issues, and Opportunities*, FL: CRC Press, 1990, pp. 263 – 293.
- [15] SHALABY, S.W. Bioresorbable polymers. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, New York: Marcel Dekker, Inc., 1988, vol. 1, pp. 465 – 476.
- [16] DROBNIK, J. and RYPACEK, F. Soluble synthetic polymers in biological systems. *Adv. Polym. Sci.*, 1984, vol. 57, pp. 1 – 50.
- [17] HELLER, J., PANGBURN, S. H. and ROSKOS, K. V. Development of enzymatically degradable protective coatings for use in triggered drug delivery systems II. derivatized starch hydrogels. *Biomaterials*, 1990, vol. 11, pp. 345 – 350.
- [18] BRIERLEY, C. L., KELLY, D. P., SEAL, K. J. and BEST, D. J. Materials and biotechnology. *Biotechnology. Principles and Applications*, Boston, MA: Blackwell Scientific Publications, 1985, Chapter 5.
- [19] KRONENTHAL, R. L. Biodegradable polymers in medicine and surgery. *Polymers in Medicine and Surgery*, New York, NY: Plenum Press, 1975, pp. 119 – 137.
- [20] MACGREGER, E. A. and GREENWOOD, C. T. *Polymers in nature*. New York, NY: John Wiley & Sons, 1980, chapters 3 and 6.
- [21] GROSS, J. R. *Absorbent polymer technology: The evolution of absorbent materials*. New York, NY: Elsevier, 1990 pp. 3 – 22.
- [22] CHAMBLISS, W. G. The forgotten dosage form: enteric – coated tablets. *Pharm. Technol.*, september 1983, pp. 124 – 140.
- [23] HOLLAND, S. J. and TIGHE, B. J. Biodegradable polymers. *Adv. Pharmaceutical Sci.*, D. Ganderton and T. Jones, eds., New York, NY: Academic Press, 1992, Vol. 6, pp. 101 – 164.
- [24] SCHAKENRAAD, J. M., HARDONK, M. J., FEIJEN, J., MOLENAAR, I. and NEIUWENHUIS, P. Enzymatic activity toward poly(L-lactic acid) implants. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1990, vol. 24, pp. 529 – 545.
- [25] PITT, C. G., GRATZL, M. M., KIMMEL, G. L., SURLLES, J. and SCHINDLER, A. Aliphatic polyesters. II. The degradation of poly(DL-lactide), poly(ϵ -caprolactone), and their copolymers in vivo. *Biomaterials*, 1981, vol. 2, pp. 215 – 220.
- [26] HELDER, J., DIJKSTRA, P. J. and FEIJEN, J. In vitro degradation of glycine/DL-lactic acid copolymers. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1990, vol. 24, pp. 1005 – 1020.
- [27] YASIN, M., HOLLAND, S. J. and TIGHE, B. J. Polymers for biodegradable medical devices. V. Hydroxybutyrate-hydroxyvalerate copolymers: effects of polymer processing on hydrolytic degradation. *Biomaterials*, 1990, vol. 11, pp. 451 – 454.
- [28] WOOD, D. A., WHATELEY, T. L. and FLORENCE, A. T. Formation of poly(butyl 2-cyanoacrylate) microcapsules and the microencapsulation of aqueous solutions of [125 I]-labelled proteins. *Int. J. Pharm.*, 1981, vol. 8, pp. 35 – 43.

- [29] DAMGE, C., MICHEL, C., APRAHAMIAN, M., COUVREUR, P. and DEVISSAGUET, J. P. Nanocapsules as carriers for oral peptide delivery. *J. Controlled Rel.*, 1990, vol. 13, pp. 233 – 239.
- [30] ALLCOCK, H. R. Polyphosphazenes as new biomedical and bioactive materials. *Biodegradable polymers as drug delivery systems*, M. Chasin and R. Langer, eds., New York, NY: Marcel Dekker, Inc., 1990, chapter 5.
- [31] RICHARDS, M., DAHIYAT, B. I., ARM, D. M., BROWN, P. R. and LEONG, K. W. Evaluation of polyphosphates and polyphosphonates as degradable biomaterials. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1991, vol. 25, pp. 1151 – 1167.
- [32] SINGH, M., RAY, A. R. and VASUDEVAN, P. Biodegradation studies on periodate oxidized cellulose. *Biomaterials*, 1982, vol. 3, pp. 16 – 20.
- [33] KAPLAN, A., SZABO, L. L. and OPHEIM, K. E. *Clinical chemistry: Interpretation and techniques*. Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 1988, chapter 6: enzymes.
- [34] JOSEFSSON, J. and SJOSTROM, H. Intestinal dipeptidases IV. Studies on the release and subcellular distribution of intestinal dipeptidases of the mucosal cells of the pig. *Acta. Physiol. Scand.*, 1966, vol. 67, pp. 27 – 33.
- [35] PEANASKY, J. S., LONG, J. M. and WOOL, R. P. Percolation effects in degradable polyethylene-starch blends. *J. Polymer Sci.: part B: Polymer physics*, 1991, vol. 29, pp. 565 – 579.
- [36] HELLER, J. Controlled release of biologically active compounds from bioerodible polymers. *Biomaterials*, 1980, vol. 1, pp. 51 – 57.
- [37] CHANG, T. M. S. Biodegradable semipermeable microcapsules containing enzymes, hormones, vaccines, and other biologicals. *J. Bioeng.*, 1976, vol. 1, pp. 25 – 32.
- [38] ZEOLI, L. T. and KYDONIEUS, A. F. Physical methods of controlled release. *Controlled release technology. Bioengineering aspect*, K. G. Das, ed., New York, NY: John Wiley & Sons, 1983, pp. 61 – 120.
- [39] ZHANG, G., SCHWARTZ, J. B. and SCHNAARE, R. L. Bead coating I. change in release kinetics (and mechanism) due to coating levels. *Pharm. Res.*, 1991, vol. 8(3), pp. 331 – 335.
- [40] HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication: theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci.*, 1963, vol. 52(12), pp. 1145 – 1149.
- [41] ALFREY, T., GURNEE, E. F. and LLOYD, W. G. Diffusion in glassy polymers. *J. Polymer Sci.*, 1966, part C, vol. 12, pp. 249 – 261.
- [42] PEPPAS, N. A. and KORSMEYER, R. W. Dynamically swelling hydrogels in controlled release applications. *Hydrogels in medicine and pharmacy: Properties and applications*, N. A. Peppas, ed., Boca Raton, FL: CRC Press Inc., 1987, vol. III, pp. 118 – 121.
- [43] WINDLE, A. H. *Polymer permeability: Case II sorption*. London and New York, J. Comyn, ed., NY: Elsevier applied science publishers, 1985, pp. 75 – 118.
- [44] OKADA, M. Chemical syntheses of biodegradable polymers. *Prog. Polym. Sci.*, 2002, vol. 27, pp. 87 – 133.

- [45] TIMMERMANN, R., DUJARDIN, R., KOCH, R. *Thermoplastic, biodegradable, workable high molecular weight copolymer – contains aliphatic ester and aliphatic amide units*, 1993, EP 0 641 817.
- [46] GRIAT, E., KOCH, R., TIMMERMANN, R. BAK 1095 und BAK 2195: completely biodegradable synthetic thermoplastics. *Polym. Degrad. Stabil.*, 1998, vol. 59, pp. 223 – 226.
- [47] JIANG, L., HINRICHSSEN, G. Flax and cotton fiber-reinforced biodegradable poly(ester)amide composites. *Angew. Makromol. Chem.*, 1999, part 2, characterization of biodegradation, vol. 268, pp. 18 – 21.
- [48] AVEROUS, L., FAUCONNIER, N., MORO, L., FRINGANT, C. Blends of thermoplastic starch and polyesteramide: processing and properties. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2000, vol. 76, pp. 1117 – 1128.
- [49] TOKIWA, Y., SUZUKI, T., ANDO, T. Synthesis of copolyamide-esters and some aspects involved in their hydrolysis by lipase. *J. Appl. Polym. Sci.*, 1979, vol. 24, pp. 1701 – 1711.
- [50] NEGORO, S. The nylon oligomer biodegradation system of *Flavobacterium* and *Pseudomonas*. *Biodegradation*, 1994, vol. 5, pp. 185 – 194.
- [51] WIEGAND, S., STEFFEN, M., STEGER, R., KOCH, R. Isolation and identification of microorganisms able to grow on the polyester amide BAK 1095. *J. Environ. Polym. Degrad.*, 1999, vol. 7, pp. 145 – 156.