UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

STUDIUM BIOADHEZIVNÍCH MATERIÁLŮ

Diplomová práce

Hradec Králové 2005 *Darina Kuntová*

Děkuji PharmDr. Evě Šnejdrové, Ph.D. za odborné vedení a poskytnuté rady při vypracování diplomové práce.

Darina Kuntová

OBSAH

1. ÚVOD 5

2. CÍL PRÁCE 6

3. SEZNAM ZKRATEK 7

4. TEORETICKÁ ČÁST 8

4.1. Základní koncept 8

4.2. Vlastnosti bioadhezivních materiálů 10
4.2.1. Hydrofilita 10
4.2.2. Hustota zesítění a stupeň botnání 10
4.2.3. Molekulová hmotnost, délka řetězce a konformace 11
4.2.4. Náboj 11
4.2.5. Příklady bioadhezivních materiálů 11

4.3. Teorie bioadheze 13
4.3.1. Elektronová teorie 13
4.3.2. Adsorpční teorie 14
4.3.3. Teorie smáčení 14
4.3.4. Difúzní teorie 14

4.4. Faktory ovlivňující bioadhezivní vlastnosti 14
4.4.1. Faktory týkající se polymerů 14
4.4.2. Faktory vztahující se k prostředí 15
4.4.3. Fyziologické faktory 15

4.5. Substráty pro mukoadhezi 15
4.5.1. Mukus 15
4.5.2. Epiteliální povrchy 17

4.6. Adheze v biologických systémech 18
4.6.1. Lektiny 18
4.6.2. Bakteriální adheziny 19
4.6.3. Protilátky 19
4.6.4. Aminokyselinové sekvence 19

4.7. Polymery užívané pro bioadhezivní přenašečové systémy 19

4.8. Testování bioadheze in-vitro 21
4.8.1. Modely biologických tkání 21
4.8.2. Bioadhezivní testovací systémy 21
4.8.3. Porovnání bioadhezivních vlastností polymerů 24
4.8.4. Faktory ovlivňující adhezní sílu 24

5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 25

5.1. Použité suroviny 25

5.2. Použité přístroje 25

5.3. Pracovní postup 28
5.3.1. Testované adhezivní oligoestery 28

5.3.2. Příprava vzorků pro měření adheze 28
5.3.3. Postup měření adhezivních vlastností 30
5.3.4. Vyhodnocení 31
5.3.5. Příklad protokolu 32

6. VÝSLEDKY 33

6.1. Tabulky 33

6.2. Grafy 45

7. DISKUZE 55

7.1. Adhezivní vlastnosti vodných disperzí vybraných polymerů 56

7.2. Adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 30% triethylcitrátu 57
7.2.1. Vliv rychlosti odtržení 57
7.2.2. Vliv doby kontaktu 57

7.3. Adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 20% ethylpyruvátu 58

7.4. Vliv typu plastifikátoru na adhezivní vlastnosti oligoesterových nosičů 58

8. ZÁVĚRY 59

9. SOUHRN 60

10. LITERATURA 61

1. ÚVOD

Bioadhezivní materiály jsou schopny přilnout k biologickému povrchu na určitý časový interval. Pokud je adhezivní plochou slizniční tkáň pokrytá vrstvou hlenu, označují se tyto látky přesněji jako mukoadheziva. Ve farmaceutické technologii se využívá bioadheze s cílem zvýšit biologickou dostupnost léčiva a compliance pacienta. Bioadhezivní lékové formy mohou pomoci při podání jinak pouze parenterálně aplikovatelných léčiv. Umožňují různé dávkování léčiva v závislosti na čase volbou vhodných nosičů.

Jsou-li biodegradabilní, není třeba tyto přípravky z těla odstraňovat, jsou odbourány enzymatickými nebo neenzymatickými cestami. Díky biodegradabilním systémům s řízeným uvolňováním se zlepšila kvalita života pacientů a jejich compliance, především omezením nutnosti intramuskulární aplikace léčiv nebo častého podání perorálních léčiv (zejména u geriatrických pacientů). Výhodou je rychlejší dosažení terapeutické plazmatické koncentrace a s ní i rychlejšího nástupu účinku. Dochází také k eliminaci vlivu prvního průchodu játry.

Mezi látky s vynikajícími bioadhezivními vlastnosti patří zejména polymery kyseliny akrylové, deriváty celulosy a mezi ty nejnovější a velmi perspektivní i lektiny - proteiny bakteriálního nebo rostlinného původu. Lektiny isolované z rajčat mají v budoucnosti pro svou specifičnost a nízkou toxicitu velkou naději na terapeutické využití. Všechny tyto látky svými vlastnostmi umožňují řízené uvolňováni léčiva a mohou podporovat i jeho absorpci. Bioadheziva musí splňovat řadu podmínek, aby mohla být použita ve vývoji nových lékových forem. Musí být netoxická, nedráždivá, výhodou je biodegradabilita, nesmí zabraňovat vstřebávání léčiva a v neposlední řadě jejich komerční cena nesmí být příliš vysoká.

2. CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je studium adhezivních vlastností terpolymerů kyseliny D,L-mléčné, glykolové, mannitolu resp. dipentaerythritolu a jejich porovnání s klasickými bioadhezivy.

Cíl práce je možno rozdělit do těchto dílčích úkolů:

1. Formulovat vzorky pro měření adheze: pro plastifikaci oligoesterů použít triethylcitrát a ethylpyruvát a zvolit vhodnou koncentraci těchto plastifikátorů.
2. Na materiálovém zkušebním stroji T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell měřit adhezivní vlastnosti připravených vzorků jako maximální sílu F_{max} v [N] potřebnou pro odtržení vzorku od podkladu.
3. Zjistit vliv podmínek měření na hodnotu F_{max}, zejména vliv doby kontaktu adhezivního materiálu s podkladem a vliv rychlosti odtržení od podkladu.
4. Zjistit vliv typu a množství použitého plastifikátu oligoesterových nosičů na jejich adhezivní vlastnosti.
5. Porovnat adhezivitu plastifikovaných oligoesterů a vybraných celulosových derivátů, karbomeru a škrobu.

3. SEZNAM ZKRATEK

CMC.....sodná sůl karmelosy

CP.....Karbomer

EP.....ethylpyruvát

F_{max}.....maximální síla v [N] potřebná pro odtržení adhezivního materiálu

GŽ.....glycerogel želatiny

HPMC...hydroxypropylmethylcelulosa

LE.....vzdálenost mezi horní a dolní adhezivní plochou

MC .....methylcelulosa

PAA .....polyakrylová kyselina

PC.....polykarbophil

s.....směrodatná odchylka

TEC.....triethylcitrát

3M.....oligoester kyseliny D,L-mléčné a glykolové a 3% mannitolu

5M.....oligoester kyseliny D,L-mléčné a glykolové a 5% mannitolu

8M.....oligoester kyseliny D,L-mléčné a glykolové a 8% mannitolu

3D.....oligoester kyseliny D,L-mléčné a glykolové a 3% dipentaerythritolu

5D.....oligoester kyseliny D,L-mléčné a glykolové a 5% dipentaerythritolu

8D.....oligoester kyseliny D,L-mléčné a glykolové a 8% dipentaerythritolu

3M…8D + 30%TEC……oligoestery plastifikované 30% triethylcitrátu

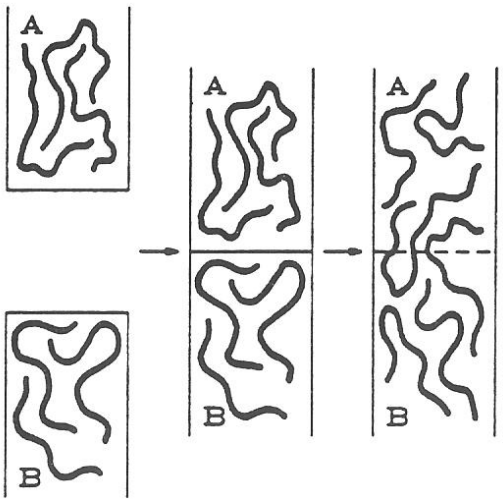
3M…8D + 20%EP…..…oligoestery plastifikované 20% ethylpyruvátu

4. TEORETICKÁ ČÁST

4.1. Základní koncept

Bioadheze může být zjednodušeně popsána jako přilnutí syntetického nebo přírodního materiálu k biologickému substrátu a udržení se na něm po určitý čas. Je-li substrátem mukózní membrána pokrytá vrstvou mucinu, používáme termín mukoadheze.[1] Cytoadheze je vysoce specifický typ bioadheze.[2]

Mechanizmus bioadheze je založen na molekulárních přitažlivých a odpudivých silách. Obvykle je bioadheze popisována jako dvoustupňový proces. V prvním kroku musí být dosažen těsný kontakt mezi adhezivním materiálem a substrátem, v druhém kroku mohou obě fáze interdifundovat nebo vzájemně interpenetrovat v určitém rozsahu.[3]



Obr. 1: Schématické znázornění adsorpce řetězců adhezivního polymeru (A) na glykoproteinovou strukturu hlenu (B) a jejich interpenetrace.[3]

První z kroků je považován za mezifázový jev ovlivněný povrchovou energií a rozprostíráním obou fází, tzn. adhezivního polymeru a hlenu pokrývajícího sliznici. Úzký kontakt mezi adhezivem a substrátem je dosažen, je-li rozprostírací koeficient S (spreading coefficient) jedné z fází kladný. Tento koeficient vyjadřuje rozdíl mezi adhezní prací (W_a) a kohezní prací (W_k) vykonanou mezi dvěma fázemi.

Pro rozprostírání kapaliny (A) po povrchu tuhé látky nebo jiné kapaliny (B) platí

$$S_{A/B} = W_A - W_K = \gamma_A - \gamma_B - \gamma_{A/B} \quad (4.1)$$

kde γ_A a γ_B jsou povrchové energie kapaliny A a fáze B,

γ_{AB} je mezifázová energie A/B.

K rozprostírání povrchu A po povrchu B dochází, je-li $S_{A/B} > 0$, tj. je-li adhezní práce větší než práce kohezní (přitažlivé síly mezi molekulami kapaliny A a B jsou větší než přitažlivé síly mezi molekulami v jednotlivých kapalinách). U nemísitelných systémů voda-organická látka bude docházet k rozestírání organických kapalin, které mají malou kohezní energii, na vodném povrchu, ale voda, která má vysokou kohezní energii, se po površích organických látek nerozestírá. Z výše uvedeného vyplývá, je-li $S_{A/B} > 0$, je substrát B (mukus) smáčen polymerem A (adhezivem).

Druhý krok mukoadheze je představován propletením řetězců v různé vzdálenosti od mezipovrchu. Řetězce polymerů obou fází interdifundují a výsledkem tohoto procesu je zesílení adhezních sil mezi oběma fázemi.[4]

Na molekulární úrovni proces mukoadheze zahrnuje tvorbu vazeb mezi molekulami adheziva a substrátu, elektrostatické[5] a hydrofóbní interakce, vodíkové vazby, van der Waalsovi interakce.[6] Vodíkové vazby tvoří karboxylové, hydroxylové, amidové a sulfátové skupiny. Polyanionty jsou upřednostňovány před polykationty.[7] Karboxylové skupiny jsou pro bioadhezi výhodnější v porovnání s neutrálními skupinami.[8]

Stupeň mukoadheze lze těžko předvídat, jelikož každá mukóza má jiné složení a také jiný poločas obměny. Rozdíly mohou být také zapříčiněny různým pH v místě působení a také zdravotním stavem jedince. Problémem je i nedostatek specifičnosti adhezivních vazeb.[2]

Bioadhezivní terapeutické systémy pro řízené uvolňování léčiva v mukózní membráně nebo přes mukózu jsou určeny k lokálnímu podání léčiva nebo systémové aplikaci peptidů a jiných léčiv špatně absorbovatelných z gastrointestinálního traktu. Místa targetingu pro mukoadhezivní lékové systémy zahrnují oko, GIT, děložní krček, pochvu, konečník, ústní nebo nosní dutinu.

Mukoadhezivní lékové formy zajišťují prodloužený kontakt mezi léčivem a povrchem tkáně. V důsledku prodlouženého kontaktu se zvýší koncentrace léčiva v určitém místě, a tím se může zvýšit transmukózní přestup léčiva. Jelikož se podáním léčiva pomocí mukoadheze obchází metabolismus prvního průchodu játry, zvyšuje se

tím biodostupnost léčiva. Bioadhezivní lékové formy mohou významně měnit permeabilitu mukózní bariérou, a tím zvýšit absorpci léčiva.

4.2. Vlastnosti bioadhezivních materiálů

Bioadhezivní materiály jsou obvykle hydrofilní makromolekuly, které obsahují početné skupiny tvořící vodíkové vazby, především karboxylové, hydroxylové, amidové a aminové. Hydratují a botnají v kontaktu s vodným prostředím. Hydratace a zbobtnání jsou nezbytné, ale nadměrná hydratace obvykle způsobí vytvoření slizu a následnou ztrátu bioadhezivních vlastností.

Bioadhezivní polymery se mohou být přírodní (např. chitosan a pektin) nebo syntetické (např. deriváty kyseliny polyakrylové a deriváty celulosy).

Jsou klasifikovány jako anionické, katonické a neionické. Vysoká molekulová hmotnost, dostatečná polarita a flexibilita řetězců polymeru je obvykle podmínkou dostatečné schopnosti adheze.[9]

4.2.1. Hydrofilita

Hydrofilní funkční skupiny jsou připojeny k mukóze nebo k biomembráně různými interakcemi, jako jsou vodíkové můstky, hydrofóbní a elektrostatické interakce. Tyto skupiny také zodpovídají za botnání polymeru, čímž dávají vzniknout maximu adhezních míst. Zbotnáním se zvětšuje prostor mezi řetězci, a tím se zvyšuje jejich flexibilita. Flexibilita řetězce a rychlost difúze jsou důležitými faktory pro zvyšující se propletení řetězců polymeru, interpenetraci, a tedy pro pevnost adhezní síly.[10]

4.2.2. Hustota zesítění a stupeň botnání

Hustota zesítění je nepřímo úměrná stupni botnání. Nižší hustota zesítění znamená vyšší flexibilitu a stupeň hydratace, větší povrch polymeru a lepší bioadhezi. Adhezivní síla vzniklá vytlačením vody z vrstvy hlenu na sliznici do bobtnajícího polymeru také napomáhá řetězcům polymeru k penetraci hlouběji do mukózní vrstvy. K dosažení požadovaného stupně zbotnání je vhodnější nízký stupeň zesítění polymeru.[10]

4.2.3. Molekulová hmotnost, délka řetězce a konformace

Pro adhezivitu polymerů rozpustných ve vodě jsou důležitými proměnnými molekulová hmotnost a délka řetězce. Pro jednotlivá bioadheziva existuje ideální rozmezí molekulové hmotnosti. Např. pro polyakrylovou kyselinu je optimální molekulová hmotnost okolo 750,000, zatímco pro polyethylenoxid kolem 4,000,000.[11] Pro dextran existuje širší rozmezí od $2x10^5$ do $2x10^7$. Pro kyselinu polyakrylovou je ideální pKa 4-5, proto pro maximální bioadhezi je výhodné kyselé pH.[10] Z konformací je pro bioadhezi nejvýhodnější konformace dvojité šroubovice.[4]

4.2.4. Náboj

Typ náboje a hustota je důležitou charakteristikou hydrofilních ionických bioadheziv. Anionické polymery se váží na mukózu pomocí vodíkových vazeb a tato vazba je ještě zesílena v kyselém prostředí, jsou-li karboxylové skupiny přeměněny na anionickou formu. Katonické polymery jako např. polylysin se mohou vázat na negativně nabitý mucin při pH 7,4. Katonické polymery jsou také mnohem toxičtější než anionické a často způsobují buněčnou agregaci a další toxické rekce buněk.[12]

Z výše uvedeného vyplývá, že jsou upřednostňovány polyanionické polymery před polykationty. Vyšší počet hydroxylových skupin znamená lepší bioadhezivní vlastnosti materiálu.

Typickou vlastností společnou pro dobré bioadhezivní materiály v tekuté formě (tzv. hydrokoloidy) je téměř nulový úhel smáčení a nízká viskozita. Pro bioadheziva v tuhé formě jsou předpokladem dobré adhezivity specifické skupiny (karboxylová, hydroxylová) a vysoká botnací kapacita (přibližně 100-násobná) než je jejich hmotnost.[10]

4.2.5. Příklady bioadhezivních materiálů

<u>Deriváty kyseliny polyakrylové</u>

- Karbomer
- Polykarbophil
- poly(akrylová) kyselina
- poly(methylvinylether-co-methakrylová) kyselina
- polyakryláty
- poly(2-hydroxyethylmethakrylát)
- poly(methylmethakrylát)

- poly(methakrylát)
- poly(alkylkyanoakrylát)
- poly(isohexylkyanoakrylát)
- poly(isobutylkyanoarkrylát)

Deriváty celulosy

- hydroxyethylcelulosa
- hydroxypropylcelulosa
- sodná sůl karmelosy
- methylcelulosa
- methylhydroxyethylcelulosa
- hydroxypropylmethylcelulosa

Kationaktivní polysacharidy

- Chitosan:

katonický, vysokomolekulární, netoxický, biokompatibilní a biodegradabilní polysacharid získaný ze schránek mořských krabů. Jedná se o lineární kopolymer N-glykosaminu a N-acetylglykosaminu.

Polyuronidy

- Pektin:

netoxický, levný hydrofilní polysacharid získaný ze stěn rostlinných buněk, zbytky karboxylových skupin uronové kyseliny zajišťují dobré bioadhezivní vlastnosti

- Arabská klovatina

Další

- N-(2-hydroxypropyl)methakrylamid kopolymer
- poly(vinylpyrrolidon)
- poly(vinylalkohol)
- agarosa[10]

Tab. 1: Porovnání mukoadhezivních vlastností polymerů: vztaženo k pektinu[13]

Testovaný polymer	**Průměrná adhezivní síla (%)**	**Kvalitativní adhezivní vlastnosti**
Polykarbophil	≥200	Vynikající
Sodná sůl karmelosy	192,4	
Polyakrylová kyselina	185,0	
Tragant	154,4	
Polyethylen oxid	128,6	
Polymethylvinylether co-maleinový anhydrid	147,7	
Methylcelulosa	128,0	
Alginát sodný	126,2	Uspokojivé
Hydroxypropylmethylcelulosa	125,2	
Karayová guma	125,2	
Methylethylcelulosa	117,4	Dobré
Rozpustný škrob	117,2	
Želatina	115,8	
Pektin	100,0	Slabé
Povidon	97,6	
Polyethylenglykol	96,0	
Polyvinylalkohol	94,8	
Polyhydroxyethylmethakrylát	88,4	
Hydroxypropylcelulosa	87,1	

4.3. Teorie bioadheze

4.3.1. Elektronová teorie

Tato teorie je založená na přitažlivých elektrostatických silách mezi glykoproteiny mucinové sítě a bioadhezivním materiálem. Elektronový přenos probíhá mezi substrátem a adhezivem, které tvoří na rozhraní elektrickou dvojvrstvu.[2] K separaci substrátu a adheziva je zapotřebí energie k překonání vzniklého elektrického potenciálu.[10]

4.3.2. Adsorpční teorie

Povrchové síly mají za následek vznik chemických vazeb. Silnými primárními vazbami jsou kovalentní vazby, slabými sekundárními jsou vazby iontové, vodíkové a van der Waalsovi.[2]

4.3.3. Teorie smáčení

Tato teorie vysvětluje bioadhezi pomocí schopnosti bioadhezivního polymeru pokrýt mukózní membránu a vytvořit co nejuzší kontakt. Koeficient smáčení musí být pozitivní a kontaktní úhel mezi polymerem a buňkami se musí blížit nule.[2] Adhezivum musí mít menší povrchové napětí než substrát. Povrchové napětí bioadhezivního polymeru může být ovlivněno jeho stupněm zesítění nebo použitím tenzidů. Jestliže je substrátem polymer strukturně podobný adhezivu, zvyšuje se stupeň smáčení, a tím i adhezní síla.[10]

4.3.4. Difúzní teorie

Podle této teorie dochází k fyzikálnímu propletení mucinových vláken s flexibilními řetězci polymeru. V podstatě jde o interpenetraci mucinových vláken do porézní struktury polymeru. Pro maximální difúzi a bioadhezivní sílu je důležité, aby parametry solubility (δ) byly pro bioadhezivní materiál i glykoproteiny mucinu podobné.[2]

4.4. Faktory ovlivňující bioadhezivní vlastnosti

4.4.1. Faktory týkající se polymerů

Molekulová hmotnost: Nízká molekulová hmotnost je výhodná pro interpenetraci molekul polymeru. Naopak vyšší molekulová hmotnost je důležitá pro fyzikální propletení řetězců. Za optimální molekulovou hmotnost (práh bioadhezivity) se považuje molekulová hmotnost nejméně 100,000.

Ohebnost polymerních řetězců: Dostatečná ohebnost řetězců polymeru je důležitá pro jejich interpenetraci a propletení s řetězci substrátu. U vysoce zesítěných polymerů klesá mobilita jednotlivých polymerních řetězců, což vede k poklesu bioadhezivních vlastností.

Konformace a koncentrace polymeru: Tuhé polymery mají při vyšší koncentraci vyšší bioadhezivní vlastnosti. Naopak u tekutých bioadheziv může vyšší koncentrace způsobit svinutí molekul a redukci flexibility řetězců polymeru.[2]

4.4.2. Faktory vztahující se k prostředí

pH prostředí: Povrchový náboj na mucinu se mění s pH v závislosti na rozdílech v disociaci funkčních skupin na cukerné části molekuly a aminokyselinách polypeptidové kostry. Povrchový náboj na polymeru ovlivňuje stupeň hydratace. Např. polykarbophil vykazuje bioadhezivní vlastnosti při pH nižším než 5, kdy neionizované karboxylové skupiny tvoří vodíkové vazby s řetězci mucinu.

Kontaktní tlak a doba: Důležitou roli hraje také intestinální tlak vyvinutý na kontaktní plochu, který ovlivňuje hloubku interpenetrace polymeru s mucinem. Vysoký tlak po dostatečně dlouhou dobu zlepšuje adhezi mezi polymerem a substrátem. Počáteční kontaktní doba má vliv na rozsah bobtnání a interpenetraci řetězců polymeru. V gastrointestinálním traktu však nelze tyto faktory ovlivnit.

Botnání: Závisí na koncentraci polymeru a na přítomnosti vody. Umožňuje snadné odloučení polymeru po uvolnění aktivní látky.[2]

4.4.3. Fyziologické faktory

Obměna mucinové vrstvy: Rychlost obměny limituje dobu setrvání bioadhezivního materiálu na mukózní membráně. V gastrointestinálním traktu závisí tato doba na přítomnosti jídla. Při aplikaci do nosu je intranazální mukociliární clearance inhibována chitosanem.

Zdravotní stav jedince: Nemoci jako např. vředová žaludeční choroba, ulcerosní kolitis, cystická fibróza, bakteriální a houbové infekce, záněty, ale i běžné nachlazení, mohou změnit vlastnosti mukózy.[2]

4.5. Substráty pro mukoadhezi

4.5.1. Mukus

Mukus neboli hlen je plně hydratovaný viskoelastický gel, který přiléhá k slizničním povrchům. Pokrývá povrch oka, nosu, úst, respiračního traktu, děložního čípku a gastrointestinálního traktu.

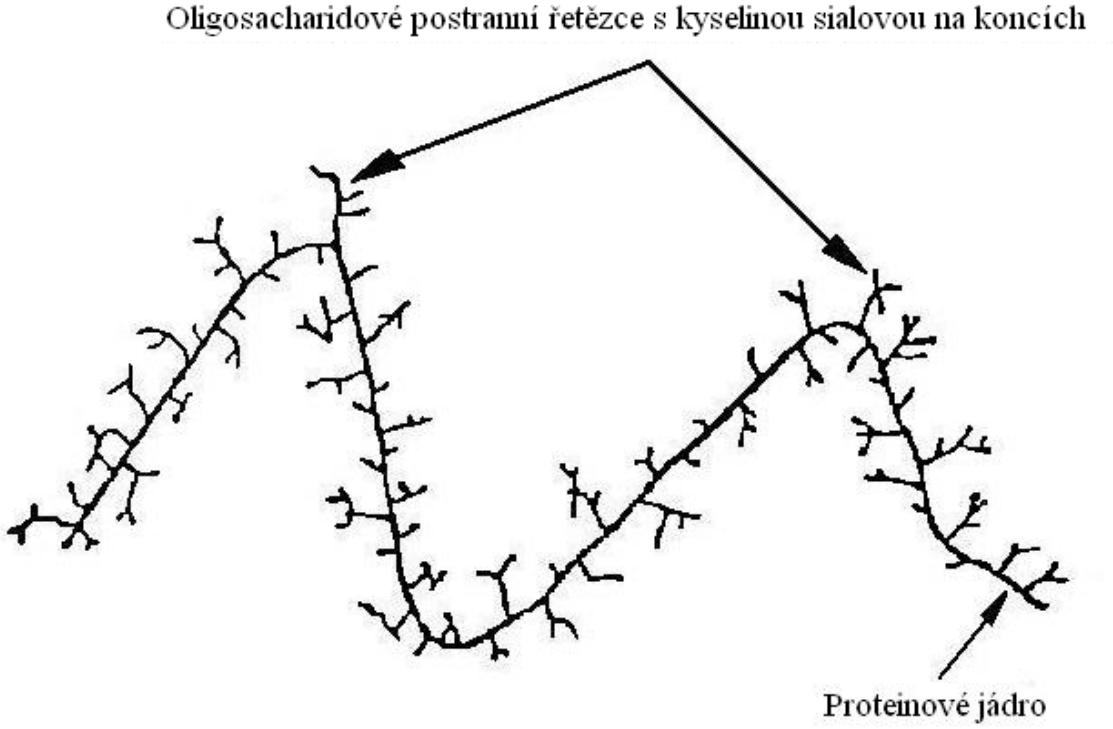
Nejdůležitějšími úkoly hlenu jsou:

- chránit buňky epitelu před fyzikální a chemickou destrukcí
- zajišťovat lubrikaci
- sloužit jako smáčecí agens
- regulovat obsah vody ve spodních vrstvách

Hlen je tvořen mucinem a nemucinovou složkou. Mezi nemucinové komponenty patří Ig A (SIgA) protilátky, enzymy, tenzidy a volné lipidy.

Mucin je definován jako barvitelná součást hlenu. Základní složkou mucinu je skupina vysokomolekulárních glykoproteinů, které dávají mucinu jeho viskoelastické a protektivní vlastnosti.

Většina z těchto glykoproteinů nese negativní náboj díky přítomnosti sialové kyseliny a esterovaným sulfátům na koncích cukerných jednotek. Přibližné pKa této kyseliny je 1.0-2.5, což znamená, že je při fyziologickém pH plně ionizována.



Obr. 2: Mucin a jeho struktura [10]

Mucin má tvar kartáče, složeného z postranních oligosacharidových řetězců připojených na proteinové jádro. Proteinová kostra tvoří kolem 12% až 17% celkové hmotnosti a z toho přibližně 70% tvoří serin, threonin a prolin. Zbývající část molekulové váhy připadá na oligosacharidy, které jsou tvořeny pěti složkami:

N-acetylgalactosaminem, N-acetylglukosaminem, N-acetyl/N-glykolyl neuramidovou kyselinou, fukosou a galaktosou.

Mukus může pojmout až 40krát více vody než je jeho celková hmotnost, a vytvořit tak gel. Tento gel je tvořen velkými glykoproteinovými molekulami držícími při sobě nekovalentními vazbami. Soudržnost tohoto přilnavého gelu je dostatečně slabá na to, aby umožnila jeho tok, ale zároveň dostatečně silná, aby odolal solubilizaci a osmotickým tlakům.

Síla držící glykoproteiny při sobě není jednoznačně známa. Předpokládá se, že se jedná především o vodíkové vazby. Protože se gel nerozpouští v roztoku iontů, nebudou při bioadhezi hlavním typem interakcí iontové vazby.[10]

Síla vrstvy hlenu se u člověka pohybuje od 1 do 400 μm.[14] Rychlost obměny vrstvy hlenu se může významně měnit v závislosti na lokalizaci hlenu, věku a pohlaví jedince. Přibližný čas obměny této vrstvy v gastrointestinálním traktu myši je přibližně 1 až 5 hodin.[15] Krátká doba obměny může být limitní pro využití bioadhezivních lékových forem. Ukázalo se, že tato doba je v praxi mnohem delší. Tento fakt je přisuzován přítomnosti polymeru na gobletových buňkách, který omezí pozdější produkci hlenu.

Hlen je kontinuálně obnovován sekrecí z několika zdrojů:

- gobletových buněk
- gastrických žláz
- submukózních žláz v dýchacím traktu

Sekrece z gobletových buněk je primárním zdrojem hlenu. Jejich životnost je kolem 2 až 3 dnů u hlodavců a 4 až 6 dnů u člověka. Sekrece je uskutečněna exocytózou.[10]

Zajímavé je působení vápníku. Kalcium má schopnost vysrážet mucin. Chelatační látky jako např. EDTA jsou schopny zvrátit tento proces a rozpustit již vzniklé precipitáty. Ukázalo se, že vysoké koncentrace kalcia mohou zvýšit sílu adheze a také hydratační rychlost. Pozitivně nabité ionty kalcia chrání repulzní síly mezi záporně nabitými mucinovýni skupinami, a tím způsobí až stonásobnou expanzi mucinu během 5 až 10 sekund.[16]

4.5.2. Epiteliální povrchy

Buněčná membrána je složena z lipidové dvojvrstvy se zakotvenými proteiny a polysacharidy. Ke znázornění její struktury se stále používá model tekuté mozaiky.

V modelu se mohou proteiny a bílkoviny volně pohybovat lipidickou dvojvrstvou membrány. Některé z nich jsou volně připevněné k membráně.

Hlavní komponenty membrány zahrnují lipidy (cholesterol, fosfolipidy a sfingolipidy), proteiny a sacharidy. Sacharidy jsou navázány na proteiny nebo lipidy jako glykoproteiny a glykolipidy.

Struktury, vyskytující se na vnějším povrchu buňky a obsahující polysacharidy, jsou nazývány glykokalyx. Buněčné membránové proteinové receptory zvané lektiny jsou schopny se specificky vázat na glykokalyx nebo polysacharidy na glykoproteinech. Předpokládá se, že tyto proteinové receptory mohou být zodpovědné za komunikaci mezi buňkami a také mezi buňkami a médiem.[17]

Protože pouze málo lipidů nese kladný náboj, buněčná membrána je nabita záporně jako mucin. Z toho vyplývá, že adhezní síly mezi membránou a mukózní vrstvou musí být dostatečně silné k překonání repulzních sil. Vytvoření indukovaného dipólu vede k zesílení adhezní síly mezi tkání a mucinem.

4.6. Adheze v biologických systémech

V biologických systémech existuje mnoho typů bioadheze. Typickými příklady bioadheziv jsou lektiny, bakteriální adheziny, protilátky, atd.

4.6.1. Lektiny

Lektiny jsou definovány jako proteiny nebo glykoproteinové komplexy neimunitního původu, které se váží specificky a nekovalentně na cukernou složku.[18]

Podle molekulární struktury se rozlišují tři skupiny lektinů. Merolektiny jsou lektiny, které mají pouze jednu cukry rozpoznávající doménu. Halolektiny jsou lektiny a dvěma a více doménami rozpoznávajícími cukry. Chimerolektiny jsou lektiny s další nesouvisející doménou.[19]

Lektiny mohou zvýšit přilnavost mikročástic k epitelu tenkého střeva a zvýšit penetraci léčiva. Mohou být také užity k targetingu léčiv do různých částí střeva nebo do buněk (např. specifické lektiny pro parietální buňky nebo pro M buňky).

Lektiny rajského jablka mají potencionální využití díky jejich nízké toxicitě a vysoké specifičnosti, ale jejich užití je limitované inaktivací díky zkřížené reaktivitě s hlenem. Dalšími z užitečných lektinů jsou lektiny izolované z tropické rostliny čeledi Fabaceae (Abrus precatroius), žampionu dvouvýtrusého (Agaricus bisporus), úhoře říčního (Anguilla anguilla), podzemnice olejné (Arachis hypogea) a exotické orchideje

(Bauhinia purpurea). Nyní se také intenzivně zkoumá využití lektinů v targetingu do rakovinných tkání.[2]

4.6.2. Bakteriální adheziny

Bakterie jsou schopné adherovat k různým epiteliálním povrchům erytrocytů s pomocí řas (fimbrií). Řasy, vypadající podobně jako lektiny, jsou dlouhé glykoproteinové komplexy nalezené na površích mnoha bakteriálních kmenů.[2] V mnoha případech je vazba baktérie na buněčný povrch zpomalena určitým typem cukru. Například vazba mnoha MS (mannosa senzitivních) kmenů E. Coli k buňce je inhibována mannosou.[10]

4.6.3. Protilátky

Protilátky mohou být produkovány proti vybraným molekulám přítomným na mukózním povrchu. Díky jejich vysoké specifičnosti mohou být klasickým výběrem jako polymerní ligandy pro získávání místně specifických mukoadheziv. Tento přístup může být užitečný pro targeting do nádorových tkání.[2]

4.6.4. Aminokyselinové sekvence

Určité aminokyselinové sekvence mají komplementární části k buňce a k mukózním povrchům. Když jsou připojené k mikročásticím, mohou zahájit vázání na specifické buněčné povrchové glykoproteiny. Tyto proteiny mohou být pozměněné v závislosti na zdravotním stavu jedince. Změněné proteinové sekvence mohou být napadeny komplementárními aminokyselinovými sekvencemi připojenými k lékovému transportnímu systému.[2]

4.7. Polymery užívané pro bioadhezivní přenašečové systémy

Adhezivní materiály zahrnují jak rozpustné, tak nerozpustné polymery, biodegradabilní i nebiodegradabilní polymery. Mohou to být hydrogely nebo termoplasty, homopolymery, kopolymery nebo směsi, přírodní nebo syntetické polymery.

Hydrofilní polymery jsou ve vodě rozpustné polymery, které neomezeně bobtnají v kontaktu s vodou a přecházejí kompletně na roztoky.

Hydrogely jsou ve vodě bobtnající materiály, obvykle prostorově zesítěné polymery s omezenou botnací kapacitou.

Termoplastické polymery jsou neerodovatelné polystyrenové a semikrystalické bioerodovatelné polymery, které vytváří karboxylové kyselé skupiny při degradaci, např. polyanhydridy a polymléčné kyseliny. Syntetické polymery užívané v bioadhezivních formulacích zahrnují polyvinylalkoholy, polyamidy, polykarbonáty, polyalkylenglykoly, polyvinylethery, estery a halogenidy, polymethakrylovou kyselinu, polymethylmetakrylovou kyselinu, methylcelulosu, ethylcelulosu, hydroxypropylcelulosu, hydroxypropylmethylcelulosu a sodnou sůl karmelosy.[2]

První generace mukoadhezivních polymerů postrádá dostatek specifičnosti a může se vázat ke jakémukoliv z mukózních povrchů. To limituje jejich využití pro výrobu bioadhezivních polymerů pro jednotlivé tkáně.

Tab. 2: Specifické ligandy odpovídající glykosylovým skupinám na buněčných membránách, které mohou být použity pro targeting bioadhezivních mikrosfér na specifické místo.[2]

Glykosylové skupiny na buněčných membránách	Specifické ligandy	Specifické místo
Mannosa	*Galanthus nivalis* aglutinin(GNA)	Epiteliální buňky v žaludku, slepém střevě a tračníku
N-acetylglukosamin	Aglutinin z pšeničných klíčků (WGA)	Epiteliální buňky v žaludku, slepém střevě a střevě a absorpční enterocyty v tenkém střevě
	Lecitin *Lykocopersicon aesculentum* nebo lecitin z rajčat (LEA)	Silná vazba na M buňky
N-acetylgalaktosamin	*Viscum album* lecitin ML-1	Endocytóza.kartáčovým lemem enterocytů a Gobletovými buňkami Silná vazba na epiteliální buňky tenkého střeva
Phytohemaglutinin	*Phaseolus vulgaris* Isoaglutinin	Povrch buněk žaludku
Fukosa	*Aleuria aurentia* aglutinin (AAA)	Specifická vazba a transcytóza M buňkami

4.8. Testování bioadheze in-vitro

V současnosti neexistuje univerzální testovací metoda k měření bioadheze. Pro stanovení síly bioadhezivních interakcí in vitro je nejčastěji používány tahové zkoušky.[20] Touto metodou je měřena síla potřebná k odtržení polymeru od substrátu.

K popisu adhezivních vlastností polymerů jsou užívány dva parametry: adhezní práce a maximální síla potřebná k odtržení adhezivního polymeru od substrátu. Adhezní práce je dána plochou pod křivkou v grafu závislosti síly na vzdálenosti kontaktní plochy bioadheziva a modelu biologické tkáně. Maximální odtrhávací síla je píkem na této křivce závislosti síla-dráha. Oba dva parametry poskytují stejnou informaci o vazebné síle mezi adhezivem a substrátem.

Bioadhezi mohou ovlivnit různé podmínky měření (např. různá kontaktní síla, kontaktní doba, rychlost odtrhávání).[21]

4.8.1. Modely biologických tkání

Při vyhodnocování bioadheze se používá několik modelů biologických tkání. Patří mezi ně peritoneum myši, tenké střevo krysy, králičí žaludek, hovězí sublinguální mukóza a vepřová bukální mukóza. Je velmi obtížné získat mukózy s jednotným povrchem a konzistencí, které by přinášely dobře reprodukovatelné výsledky.[21]

Příklad přípravy substrátu pro testování bioadheze:

Střední část čerstvého střeva ze samce krys Wistar byla zmražena při - 20°C do požadovaného blokování svalové kontrakce. Tím byl zajištěn hladký jednotný povrch substrátu a byly blokovány jakékoli mikrobiologické degradační procesy. Před použitím byla tkáň rozmrazena při 4°C a rozřezána na 3 cm dlouhé části, které byly podélně otevřeny, čímž se odhalil vnitřní slizniční povrch. Před zkoušením byl každý slizniční povrch jemně omyt isotonickým fosfátovým pufrem o pH 6,8.[22]

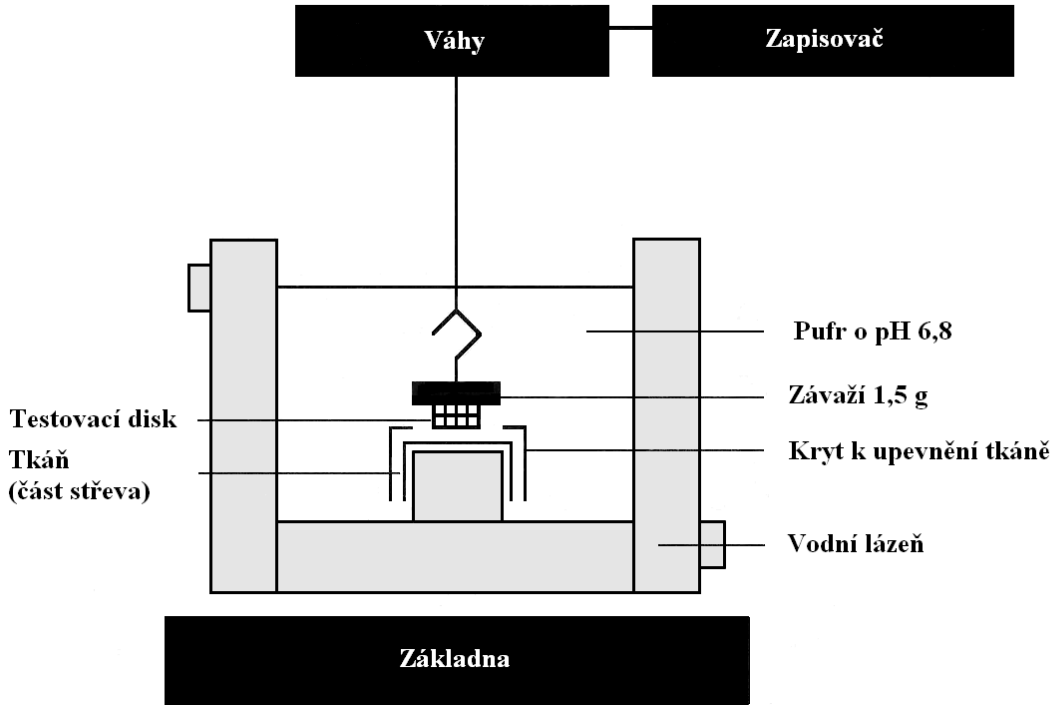
4.8.2. Bioadhezivní testovací systémy

Smart a kol[22] při studiu mukoadhezivních vlastností použili přístroj pro stanovení mukoadheze *(obr.3)*, měření realizovali v prostředí isotonického fosfátového pufru o pH 6,8. Testovaný materiál, který byl nejprve slisován do disku a upevněn k závaží o hmotnosti 1,5 g pomocí kyanoakrylátového lepidla. Toto závaží bylo

připevněno k vahám, spouštěno na mukózní povrch a ponecháno zde 2 minuty. Základna byla poté snižována rychlostí 1 mm/min, dokud testovaný materiál nebyl zcela odtržen od mukózní membrány a nebyla zaznamenána síla potřebná k přerušení adhezní vazby.

Takto naměřená síla je vyhodnocena graficky jako závislost síly na vzdálenosti. Vrchol na grafu odpovídá maximální odtrhávací síle a plocha pod křivkou odpovídá celkové adhezní práci.

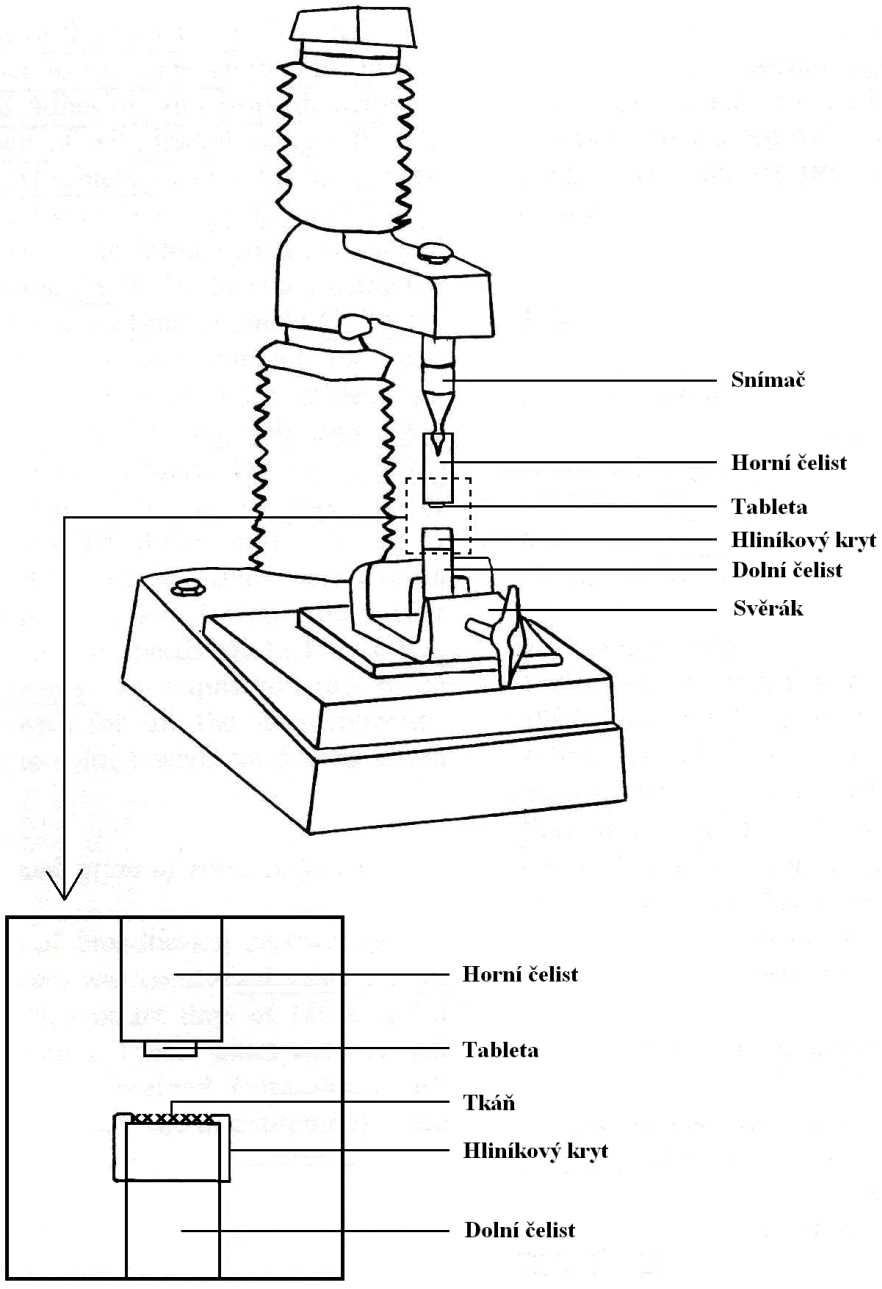
Vyšší hodnoty adhezní síly naměřené při vyšších hodnotách rychlosti odtrhávání naznačují, že adhezní vazba má viskoelastický charakter, při vyšší rychlosti odtržení má adhezní vazba méně času k deformaci a toku. Na adhezní sílu nemá podstatný vliv kontaktní doba, důvodem může být poměrně rychlé vytvoření adhezní vazby. Zdvojnásobení kontaktní síly nemá podstatný efekt.



.

Obr. 3: Přístroj k stanovení mukoadheze [22]

Wong a kol.[21] použili pro stanovení bioadheze analyzátor k testování bioadhezivních materiálů slisovaných do tablet *(obr.4)*. Horní čelist s tabletou je spuštěna rychlostí 0,5 mm/s na dolní, na které je upevněna tkáň. Po dosažení požadované kontaktní síly a uplynutí určené doby kontaktu je tableta odtržena od tkáně rychlostí 0,5 mm/s a horní čelist zastavena ve výšce 20 mm. Může být testován vliv kontaktní síly, doby kontaktu a rychlosti odtržení.



Obr. 4: Analyzátor bioadhezivní vazeb [21]

4.8.3. Porovnání bioadhezivních vlastností polymerů

Tab. 3: Bioadhezivní síla tablet (x dyne/cm^2) obsahujících mukoadhezivní polymer[9]

Anionické polymery					Katonické polymery	Neionické polymery
CMC	CP934	CP940	PC	Pektin	Chitosan	HPMC
46,48	230,0	118,71	150,91	26,53	34,14	22,44

Bylo zjištěno,[8] že bioadhezivní síla anionických polymerů s výjimkou pektinu je vyšší než katonického polymeru chitosanu. Mukoadhezivní vlastnosti derivátů celulosy a derivátů kyseliny polyakrylové (PAA) jsou rozdílné v důsledku jiného mechanismu vzniku bioadhezivní vazby. Testované deriváty kyseliny polyakrylové CP 934 CP 940 jsou větvené molekuly s více či méně zesítěnými segmenty srovnatelné délky, přesto vykazují různou bioadhezivní kapacitu. To může být zdůvodněno jejich rozdílnou molekulovou vahou (M_w). Schopnost difúze derivátu kyselina polyakrylové do mucinové sítě klesá s rostoucí molekulovou vahou. Polykarbophil jeví nižší adhezní sílu než karbomery v důsledku strukturální odlišnosti. Slabší bioadhezivní vlastnosti neionické hydroxypropylcelulosy jsou přičítány chybějící proton-donorové karboxylové skupině, což omezuje schopnost vytvořit vodíkové můstky.[9]

4.8.4. Faktory ovlivňující adhezní sílu

Bioadheze může být ovlivněna změnou instrumentálních parametrů:[22]

- Rychlostí odtržení adheziva od podkladu (nejdůležitější faktor)
- Dobou kontaktu zkoušeného bioadhezivního materiálu a substrátu
- Zatížením aplikovaným během kontaktní periody

Tab. 4: Některé faktory ovlivňující adhezivní vlastnosti Carbopolu 934P [22]

Doba kontaktu [min]	Kontaktní zatížení [g]	Rychlost odtržení [mm/min]	Adhezní síla [N/cm^{-2}]	s
0	1.5	1	2.82	1.08
2	1.5	1	2.75	0.99
5	1.5	1	4.21	1.22
2	1.5	2	3.17	1.28
2	1.5	4	5.01	1.21
2	3.2	1	3.21	0.69

5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1. Použité suroviny

Oligoester kyseliny D,L-mléčné, kyseliny glykolové a 3% mannitolu pracovně označený 3M (FaF UK Hradec Králové)

Oligoester kyseliny D,L-mléčné, kyseliny glykolové a 5% mannitolu pracovně označený 5M (FaF UK Hradec Králové)

Oligoester kyseliny D,L-mléčné, kyseliny glykolové a 8% mannitolu pracovně označený 8M (FaF UK Hradec Králové)

Oligoester D,L-mléčné, kyseliny glykolové a 3% dipentaerythritolu pracovně označený 3D (FaF UK Hradec Králové)

Oligoester D,L-mléčné, kyseliny glykolové a 5% dipentaerythritolu pracovně označený 5D (FaF UK Hradec Králové)

Oligoester D,L-mléčné, kyseliny glykolové a 8% dipentaerythritolu pracovně označený 8D (FaF UK Hradec Králové)

Aqua purificata (FaF UK Hradec Králové)

Carbomerum 940 (firma Jan Kulich)

Carmellosum natricum (firma Jan Kulich)

Ethylpyruvát (Fluka)

Gelatina (firma Jan Kulich)

Glycerolum 85% (firma Jan Kulich)

Methylcelullosum (firma Jan Kulich)

Natrii hydroxidum (firma Jan Kulich)

Triethylcitrát (Merck)

5.2. Použité přístroje

Materiálový zkušební stroj T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell

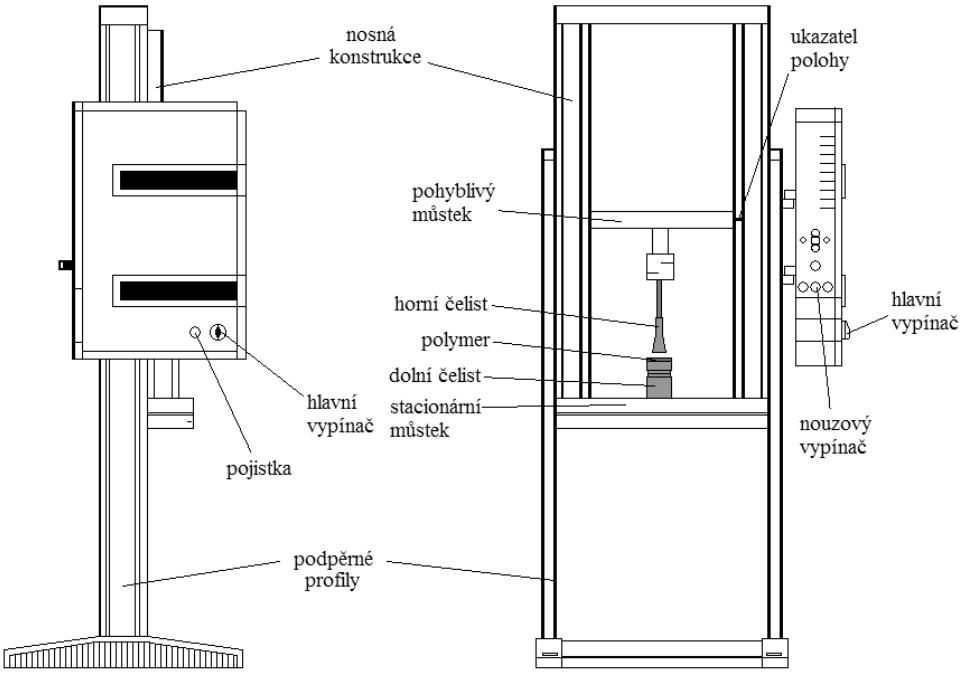
Mikrovlnná trouba, Le Cygne electronic, model LCE-2034M

Digitální váhy KERN 440-33, max. 200g, d = 0,01g

Materiálový zkušební stroj T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell

Materiálový zkušební stroj je určen k univerzálnímu použití *(obr.5 a obr. 6)*. Lze ho uzpůsobit téměř pro všechny požadavky národních a mezinárodních standardů. Tento univerzální zkušební stroj je použitelný pro rutinní testování i pro studium mechanických vlastností materiálů. Umožňuje tlakové, tahové a ohybové testy materiálu. (Software Master test lze předem definovat pro nejčastěji používané zkoušky nebo komplexní testy.)[23]

Obr. 5: Materiálový zkušební stroj T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell [23]



Obr. 6: Schéma materiálového zkušebního stroje T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell se zařízením k měření adheze [23]

Jedná se o přístroj s elektromechanickým ovládáním a maximální testovací silou 50 kN, který je propojený s počítačem pro vyhodnocování výsledků měření, kontrolu a monitorování práce přístroje.

V programu Master-test byla servisním technikem vytvořena šablona *Adheze 50 kN* pro měření adheze materiálu. V této šabloně jsou předem definovány **parametry**, které se při testování **nemění:**

- Typ zkoušky: zkouška tlakem
- Horní SW limit: 1400,000 mm
- Dolní SW limit: 597,168 mm
- Aktuální LE: 25,000 mm
- Dolní limit síly: - 10 000,000 N
- Horní limit síly: 10 000,000 N
- Metoda měření: diferenční dráha
- Okamžik vynulování dráhy: na předtížení
- Odlehčení – zkušební cyklus: standardní síla -1000 N
- Tuhost pružiny – způsob určení: sečna
- Volba výsledků – F_{max}: [N], desetinná místa: 2
- Prodleva na předzatížení: bez prodlevy
- Čas na dosažení předzatížení: 60s
- Vzdálenost čelistí LE: 25 mm
- Rychlost nastavení LE: 25 mm/min

Některé parametry, zejména ty, které mají vliv na testování adheze, se **mění**:

- Rychlost cyklů: dráha příčníku: 10 mm/min
- Definování síly pro zatížení: 10 N
- Předzatížení: 3N
- Rychlost předzatěžování: 10 mm/min
- Zkušební vzdálenost čelistí: 5 mm
- Rychlost pro volnou dráhu 100 mm/min

Byly měněny tyto parametry:

- **Zatížení – zkušební cyklus: standardní síla** 10 N nebo 20 N
- **Jiná rychlost pro odlehčení:** 100 nebo 200 mm/min
- **Prodleva na referenční hodnotu síly při zatěžování:** 5 nebo 10s

5.3. Pracovní postup

5.3.1. Testované adhezivní oligoestery

Testované oligoestery byly syntetizovány na katedře farmaceutické technologie. Jedná se o rozvětvené terpolymery mannitolu resp. dipentaerythritolu, D,L-mléčné kyseliny a kyseliny glykolové. Jejich základní charakteristiky uvedeny v tabulce 5.

Tab. 5: Charakteristika testovaných oligoesterů

Označení oligoesteru	Mannitol	Dipenthaerythritol	Kyselina mléčná	Kyselina glykolová	M_w(g/mol)
3M	3%	-	48,5	48,5	3800
5M	5%	-	47,5	47,5	2200
8M	8%	-	46,0	46,0	1600
3D	-	3%	48,5	48,5	5300
5D	-	5%	47,5	47,5	2300
8D	-	8%	46,0	46,0	1700

K porovnání bioadhezivních vlastností oligoesterů byla použita klasická bioadheziva. Ze syntetických byly použity deriváty celulosy (methylcelulosa a sodná sůl karmelosy), derivát kyseliny polyakrylové (karbomer), z přírodních želatina.

5.3.2. Příprava vzorků pro měření adheze

Vzorky oligoesterů plastifikované 30% triethylcitrátu:

Oligoester	7,0 g
Triethylcitrát	3,0 g

Množství oligoesteru 7,0 g bylo naváženo do malé kádinky. Poté byl oligoester taven v mikrovlnné troubě, dokud nepoklesla dostatečně jeho viskozita. Dále byly přidány 3,0 g triethylcitrátu a směs byla homogenizována. Takto připravený vzorek byl přikryt alobalem a označen.

Vzorky oligoesterů plastifikované 20% ethylpyruvátu:

Oligoester	8,0 g
Ethylpyruvát	2,0 g

Stejným způsobem byly připraveny vzorky s ethylpyruvátem za použití 8,0 g oligoesteru a 2,0 g plastifikátoru.

6% gel methylcelulosy:

Methylcellulosum	1,5 g
Aqua purificata	48,5 g

Voda byla zahřáta v kádince na teplotu přibližně 80°C a dána pod míchačku. Za stálého míchání byla pomalu nasypána na hladinu vody methylcelulosa. Poté byla kádinka s roztokem polymeru uložena do lednice a byla tam ponechána 6 hodin. Takto bylo připraveno 50,0 g vzorku.

10% gel sodné soli karmelosy:

Carmellosum natrium	5,0 g
Aqua purificata	45,0 g

Do kádinky s horkou vodou umístěné na vařiči byly nasypána sodná sůl karmelosy a soustava byla míchána do rozpuštění polymeru. Bylo připraveno 50,0 g vzorku.

1% gel sodné soli karbomeru:

Carbomerum	1,0 g
Solutio natrii hydroxidi 10%	q.s.
Aqua purificata	ad 100,0 g

Prášek karbomeru byl v porcelánové třence rozptýlen asi v polovině celkové hmotnosti vody. Po dostatečném zbobtnání polymeru byl k soustavě přidáván roztok hydroxidu sodného. Po dosažení hodnoty pH 7,0 (za kontroly indikátorovými papírky) bylo přidávání hydroxidu ukončeno. Směs byla ponechána v klidu 15 minut, poté bylo opět

změřeno pH. Nebyl přidán další hydroxid, protože pH bylo vyšší než 6. Soustava byla doplněna vodou do požadované hmotnosti 100,0 g.

15% glycerogel želatiny:

Gelatina	7,5 g
Aqua purificata	15,0g
Glycerolum 85%	22,5 g

Želatina byla nasypána do vody obyčejné teploty a ponechána botnat 15 minut. Poté byl přidán glycerol 85%, směs byla promíchána. Poté byla směs zahřívána na vodní lázni do rozpuštění želatiny. Vzniklý gel byl použit ještě před ztuhnutím k měření.

5.3.3. Postup měření adhezivních vlastností

Nejprve byl uveden do chodu počítač a přístroj. Byla provedena kontrola nastavení parametrů a zvoleny proměnné parametry. Na spodní platformu bylo v rovnoměrné vrstvě naneseno 1,5 g vzorku. Dále byl přístroj ovládán pomocí počítače. Byla nastavena výchozí vzdálenost horní a dolní plochy, vynulována síla a zkouška byla spuštěna. *Horní plocha* se pohybovala směrem *dolů.* Z *výchozí pozice LE 25 mm* se pohybovala rychlostí *25 mm/min* do okamžiku, kdy se přiblížila na *zkušební vzdálenost čelistí 5 mm*. Po dosažení této vzdálenosti se pohybovala rychlostí *10 mm/min*. Čelisti se k sobě přilepily. *Doba kontaktu* byla *5 nebo 10 s, zatížení 10 N nebo 20 N*. Poté se *horní čelist odtrhla* rychlostí *10, 100 nebo 200 mm/min*. Snímač síly zaznamenal F_{max} a zkouška byla ukončena, když hodnota síly poklesla na polovinu maxima.. Po ukončení zkoušky se automaticky nastavila výchozí vzdálenost čelistí (LE). Po každém měření bylo nutné kartou odstranit použitý vzorek a acetonem očistit horní i dolní plochu. U klasických bioadheziv byla postačující voda. S každým vzorkem bylo provedeno několik měření za stejného přístrojového nastavení. Adhezivní vlastnosti byly hodnoceny pomocí maximální sily potřebné k odtržení horní čelisti od adhezivního materiálu.

5.3.4. Vyhodnocení

Každá zkouška byla počítačovým programem vyhodnocena. Výsledky byly dány do tabulky a také vyobrazeny graficky jako závislost síly na době trvání zkoušky.

Program vyhodnotil průměrnou adhezní sílu ($\bar{x}$) podle vzorce 5.1, její směrodatnou odchylku (s) podle vzorce 5.2 a variační koeficient (v) podle vzorce 5.3.

$$\bar{x} = \frac{x_1 + ... + x_N}{N} \tag{5.1}$$

kde $x_1 \ldots x_N$ jsou jednotlivé naměřené hodnoty síly,

N počet měření.

$$s = \sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2 + ... + (x_N - \bar{x})^2}{N - 1}} \tag{5.2}$$

kde $x_1 \ldots x_N$ jsou jednotlivé naměřené hodnoty síly,

$\bar{x}$ průměrná hodnota měřené síly,

N počet měření.

$$v = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\% \tag{5.3}$$

kde s je směrodatná odchylka měření,

$\bar{x}$ průměrná hodnota měřené síly.

5.3.5. Příklad protokolu

Zwick / Roell 13.03.2006

Zk. parametry:

Zkoušel(a)	: Kuntová
Materiál	: 1%Karbomer
Snímač síly	: 50kN
Zatížení-zk. cyklus	: 20 N
Předzatížení	: 3 N
Jiná rychlost pro odlehčení	: 100 mm/min
Prodleva na ref. hodn. síly při zatěžování:	1:10

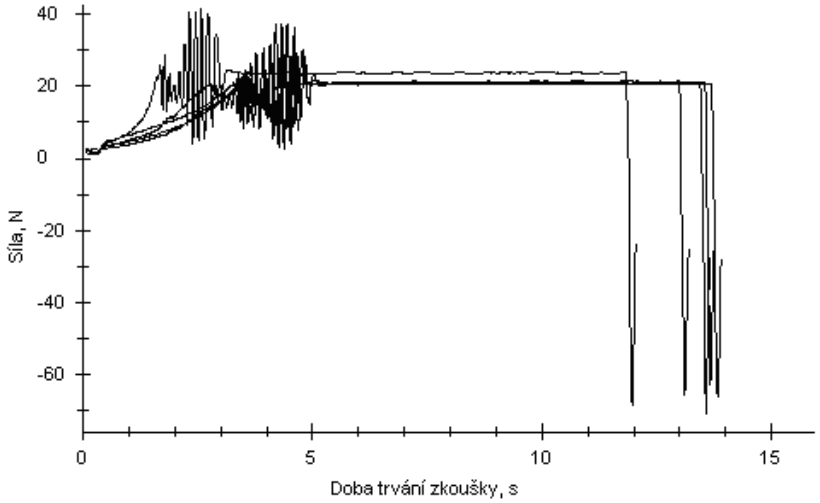
Výsledky:

Nr	Fa max. N
1	-71,07
2	-62,62
3	-68,60
4	-65,68
5	-66,11

Statistika:

Série n = 5	Fa max. N
x	-66,82
s	3,19
v	-4,77

Grafické záznamy zkoušek:



strana */*

6. VÝSLEDKY

6.1. Tabulky

Tab. 6: Hodnoty Fmax vodných disperzí polymerů

- doba kontaktu 10 s, rychlost odtržení 10 mm/min, kontaktní síla 20 N

Adhezivum	Měření č.	F_{max} [N]	∅ F_{max} [N]	s
6% vodná disperze MC	1	69,93	70,84	2,95
	2	67,47		
	3	72,91		
	4	74,76		
	5	69,12		
1% gel sodné soli karbomeru	1	51,61	50,66	0,80
	2	51,07		
	3	50,17		
	4	50,89		
	5	49,56		
10% vodná disperze karmelosy	1	42,48	43,36	1,95
	2	43,41		
	3	43,31		
	4	46,45		
	5	41,15		
15% glycerogel želatiny	1	5,95	6,72	0,55
	2	7,49		
	3	6,58		
	4	6,86		
	5	6,71		

Tab. 7: Hodnoty Fmax vodných disperzí polymerů

- doba kontaktu 10 s, rychlost odtržení 100 mm/min, kontaktní síla 20 N

Adhezivum	Měření č.	F_{max} [N]	∅ F_{max} [N]	s
6% vodná disperze MC	1	91,91	91,55	4,23
	2	93,13		
	3	84,37		
	4	92,86		
	5	95,51		
1% gel sodné soli karbomeru	1	71,07	66,82	3,19
	2	62,62		
	3	68,60		
	4	65,68		
	5	66,11		
10% vodná disperse karmelosy	1	56,42	56,90	2,69
	2	55,01		
	3	61,57		
	4	55,17		
	5	56,33		
15% glycerogel želatiny	1	15,01	12,81	2,69
	2	15,36		
	3	9,49		
	4	13,78		
	5	10,42		

Tab. 8: Hodnoty F_{max} vodných disperzí polymerů

*- doba kontaktu **5 s**, rychlost odtržení **200 mm/min**, kontaktní síla **10 N***

Adhezivum	Měření č.	F_{max} [N]	∅ F_{max} [N]	s
6% vodná disperze MC	1	43,56	40,61	3,03
	2	37,96		
	3	43,46		
	4	41,04		
	5	37,06		
1% gel sodné soli karbomeru	1	22,41	24,39	2,17
	2	27,67		
	3	23,47		
	4	25,50		
	5	22,92		
10% vodná disperse karmelosy	1	17,84	20,01	1,83
	2	18,66		
	3	21,66		
	4	22,04		
	5	19,84		
15% glycerogel želatiny	1	3,95	3,13	1,16
	2	4,52		
	3	2,52		
	4	3,06		
	5	1,59		

Tab. 9: Hodnoty F_{max} vodných disperzí polymerů

*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **200 mm/min,** kontaktní síla **10 N***

Adhezivum	Měření č.	F_{max} [N]	∅ F_{max} [N]	s
6% vodná disperze MC	1	46,98	47,11	4,28
	2	48,46		
	3	51,86		
	4	48,08		
	5	40,18		
1% gel sodné soli karbomeru	1	24,20	28,48	4,60
	2	27,06		
	3	24,57		
	4	34,49		
	5	32,08		
10% vodná disperse karmelosy	1	28,41	26,47	2,21
	2	26,52		
	3	27,64		
	4	27,04		
	5	22,72		
15% glycerogel želatiny	1	5,07	5,48	1,18
	2	6,20		
	3	6,98		
	4	5,26		
	5	3,87		

*Tab. 10: Hodnoty F_{max} oligoesterů plastifikovaných **30% TEC***
*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **10 mm/min,** kontaktní síla **20N***

Adhezivum	Měření č.	F_{max} [N]	∅ F_{max}[N]	s
3M	1	61,17	61,86	11,17
	2	51,02		
	3	51,14		
	4	57,11		
	5	62,44		
	6	57,12		
	7	55,76		
	8	77,85		
	9	50,21		
	10	78,77		
	11	77,85		
5M	1	65,32	80,77	8,29
	2	84,60		
	3	91,00		
	4	82,47		
	5	69,96		
	6	77,49		
	7	79,94		
	8	90,58		
	9	86,42		
	10	79,88		
8M	1	70,89	85,65	9,62
	2	91,51		
	3	87,85		
	4	78,42		
	5	89,96		
	6	82,69		
	7	94,98		
	8	71,68		
	9	88,77		
	10	100,06		

Tab. 10: Pokračování

3D	1	57,91	65,19	10,56
	2	64,33		
	3	57,73		
	4	87,70		
	5	71,91		
	6	74,02		
	7	55,69		
	8	55,36		
	9	69,58		
	10	57,62		
5D	1	95,59	90,32	10,33
	2	94,32		
	3	87,42		
	4	90,75		
	5	105,85		
	6	106,96		
	7	81,48		
	8	79,69		
	9	82,63		
	10	78,47		
8D	1	96,83	99,42	8,47
	2	102,06		
	3	91,13		
	4	119,55		
	5	101,42		
	6	99,13		
	7	103,10		
	8	97,80		
	9	94,36		
	10	88,85		

*Tab. 11: Hodnoty F_{max} oligoesterů plastifikovaných **30% TEC***

*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **100 mm/min,** kontaktní síla **20 N***

Adhezivum	Měření č.	F_{max} [N]	∅ F_{max} [N]	s
3M	1	101,23	97,25	8,49
	2	103,02		
	3	87,50		
5M	1	114,38	114,78	9,14
	2	124,11		
	3	102,41		
	4	118,00		
8M	1	126,53	122,59	7,73
	2	131,54		
	3	116,42		
	4	115,85		
3D	1	127,67	118,29	10,61
	2	103,28		
	3	123,15		
	4	119,05		
5D	1	141,53	130,57	12,22
	2	133,75		
	3	113,06		
	4	133,93		
8D	1	133,27	132,77	0,54
	2	132,85		
	3	132,20		

*Tab. 12: Hodnoty F_{max} oligoesterů plastifikovaných **30% TEC***
*- doba kontaktu **5 s**, rychlost odtržení **200 mm/min**, kontaktní síla **10 N***

Adhezivum	Měření č.	F_{max} [N]	∅ F_{max} [N]	s
3M	1	121,47	117,70	3,36
	2	115,01		
	3	116,61		
5M	1	112,86	111,37	4,94
	2	115,40		
	3	105,85		
8M	1	109,58	103,05	5,87
	2	98,58		
	3	100,98		
3D	1	120,75	116,83	3,73
	2	116,41		
	3	113,33		
5D	1	114,49	115,81	1,30
	2	117,09		
	3	115,87		
8D	1	118,74	116,43	2,38
	2	116,56		
	3	113,98		

*Tab. 13: Hodnoty F_{max} oligoesterů plastifikovaných **30% TEC***
*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **200 mm/min,** kontaktní síla **10 N***

Adhezivum	Měření č.	F_{max} [N]	∅ F_{max} [N]	s
3M	1	126,59	124,50	3,86
	2	120,04		
	3	126,87		
5M	1	123,72	123,79	2,54
	2	121,27		
	3	126,34		
8M	1	132,24	129,82	2,41
	2	127,43		
	3	129,78		
3D	1	115,24	120,33	4,83
	2	120,90		
	3	124,85		
5D	1	127,63	128,14	1,61
	2	129,95		
	3	126,85		
8D	1	127,44	125,40	1,81
	2	124,79		
	3	123,97		

*Tab. 14: Hodnoty F_{max} oligoesterů plastifikovaných **20% EP***

*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **10 mm/min,** kontaktní síla **20 N***

Adhezivum	Měření č.	F_{max} [N]	∅ F_{max}[N]	s
3M	1	91,34	94,59	5,17
	2	99,11		
	3	99,26		
	4	105,80		
	5	90,85		
	6	92,57		
	7	94,11		
	8	92,61		
	9	90,08		
	10	90,21		
5M	1	121,29	103,67	10,61
	2	113,24		
	3	116,97		
	4	97,86		
	5	91,24		
	6	94,64		
	7	106,62		
	8	99,07		
	9	103,69		
	10	92,05		
8M	1	98,93	104,14	4,67
	2	105,93		
	3	99,98		
	4	107,00		
	5	104,18		
	6	104,85		
	7	96,23		
	8	112,08		
	9	107,93		
	10	104,27		

Tab. 14: Pokračování

3D	1	103,67	85,29	11,85
	2	101,54		
	3	74,63		
	4	74,56		
	5	95,63		
	6	81,29		
	7	91,22		
	8	73,81		
	9	83,01		
	10	73,50		
5D	1	104,59	104,62	5,05
	2	104,37		
	3	104,37		
	4	111,46		
	5	97,41		
	6	96,61		
	7	103,16		
	8	108,20		
	9	111,76		
	10	104,58		
8D	1	96,59	104,71	7,02
	2	112,38		
	3	98,49		
	4	111,25		
	5	104,56		
	6	95,04		
	7	100,02		
	8	104,76		
	9	114,80		
	10	109,19		

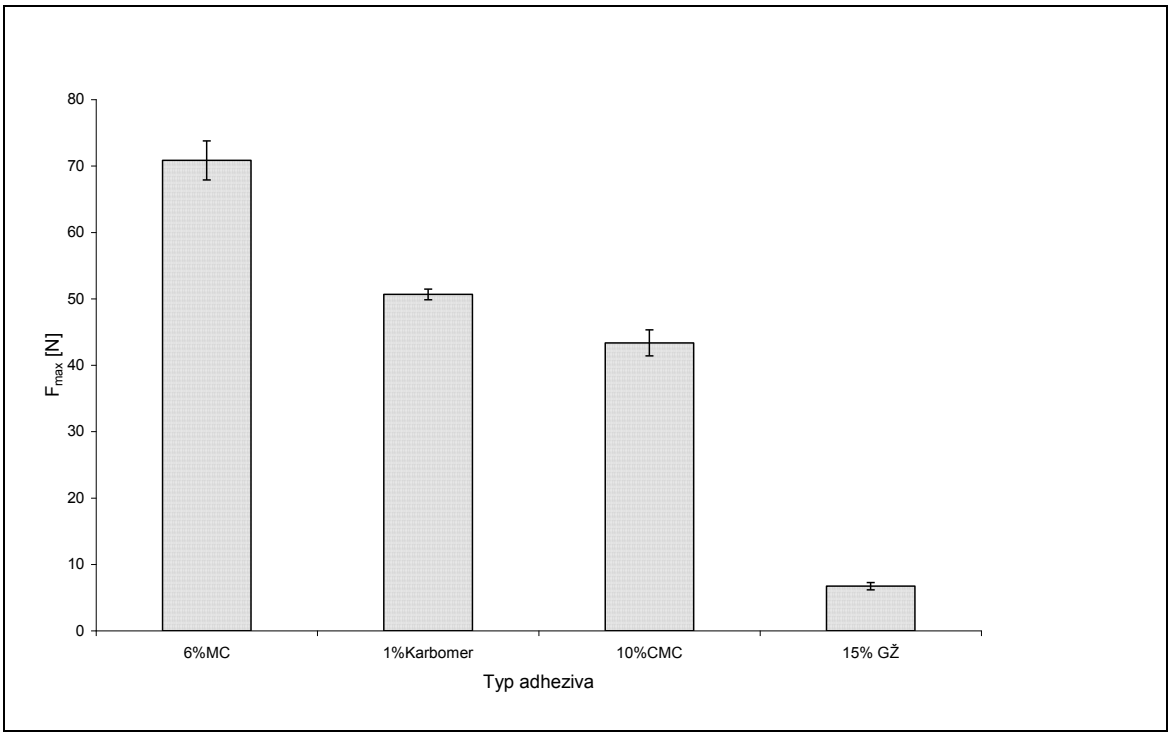
*Tab. 15: Hodnoty F_{max} oligoesterů plastifikovaných **20% EP***

*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **100 mm/min,** kontaktní síla **20 N***

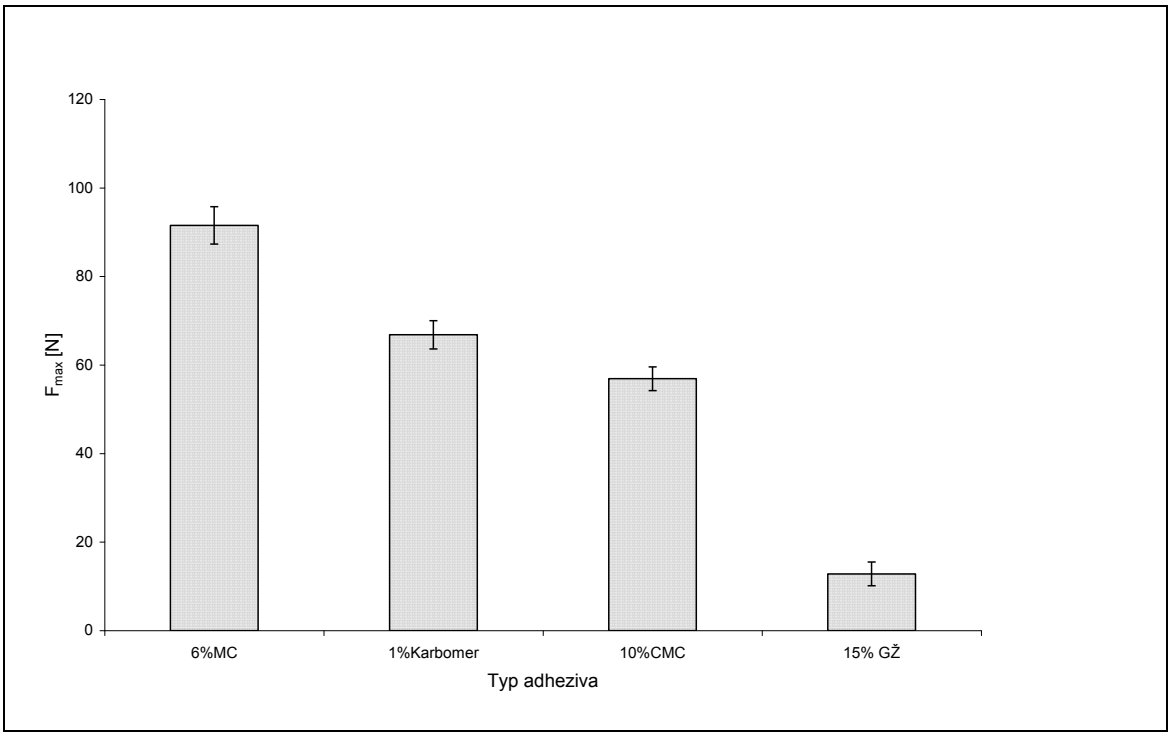
Adhezivum	Měření č.	F_{max} [N]	∅ F_{max} [N]	s
3M	1	129,86	126,50	4,96
	2	120,04		
	3	132,65		
	4	126,14		
	5	123,80		
5M	1	127,13	129,65	5,35
	2	128,29		
	3	136,12		
	4	133,86		
	5	122,83		
8M	1	131,50	133,24	2,25
	2	135,11		
	3	135,01		
	4	134,42		
	5	130,19		
3D	1	134,73	139,78	12,27
	2	121,24		
	3	153,24		
	4	145,33		
	5	144,38		
5D	1	130,67	128,20	3,82
	2	122,52		
	3	131,72		
	4	129,99		
	5	126,11		
8D	1	128,81	129,42	1,27
	2	131,35		
	3	129,95		
	4	128,87		
	5	128,09		

6.2. Grafy

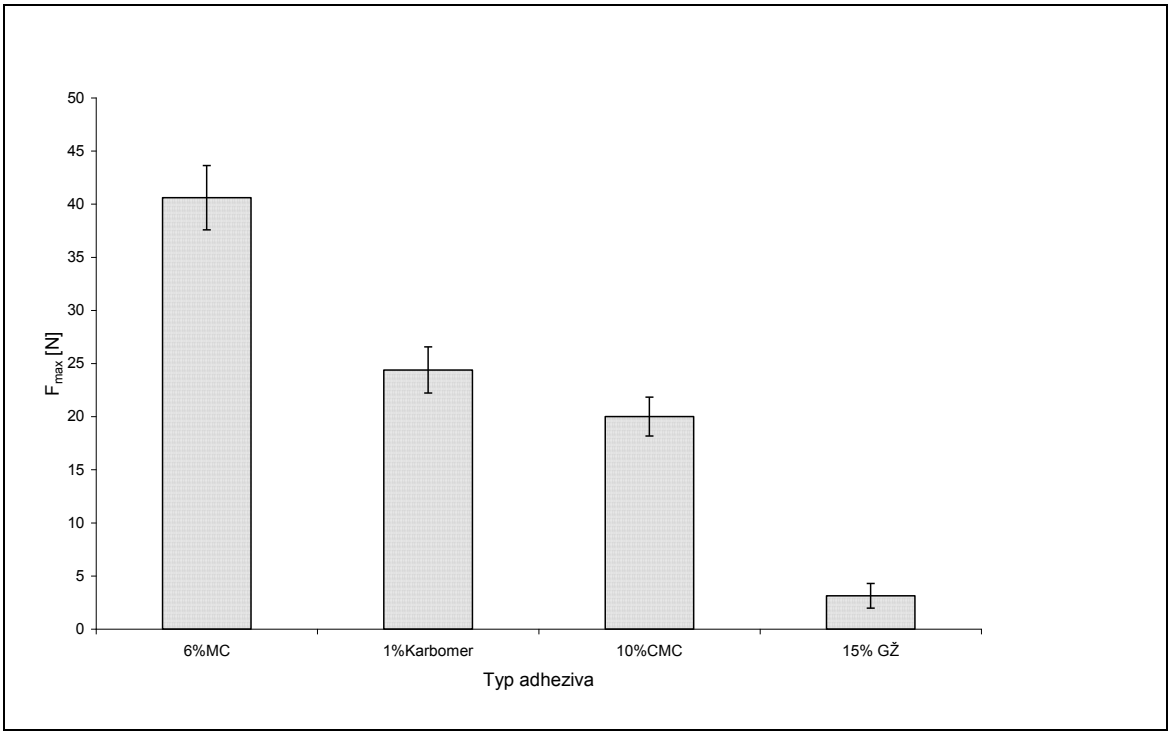
Graf 1: Adhezivní vlastnosti vodných disperzí polymerů
*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **10 mm/min**, kontaktní síla **20N***



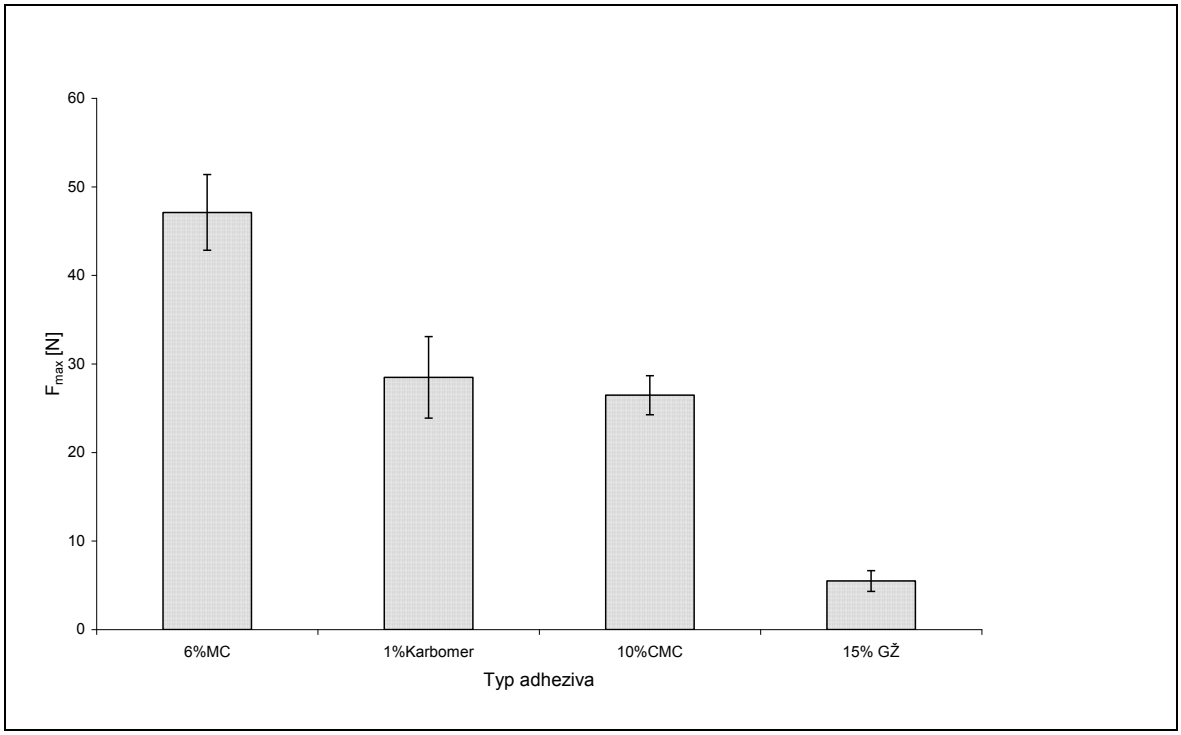
Graf 2: Adhezivní vlastnosti vodných disperzí polymerů
*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **100 mm/min**, kontaktní síla **20N***



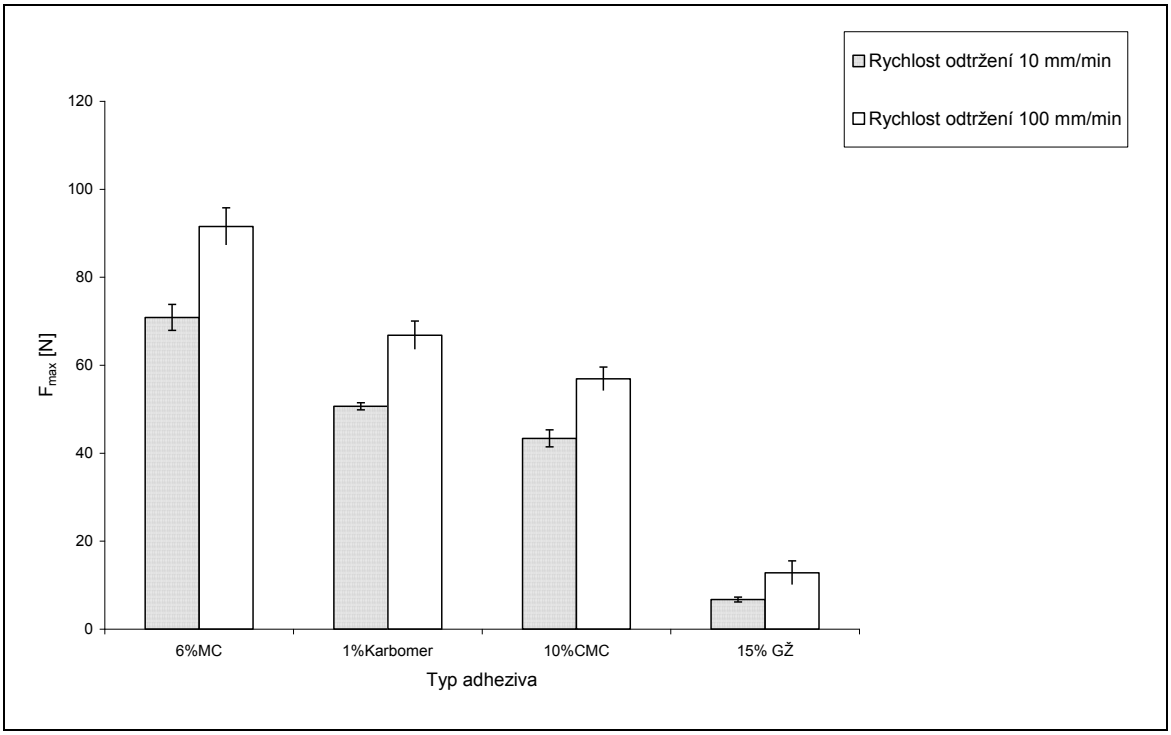
Graf 3: Adhezivní vlastnosti vodných disperzí polymerů
*- doba kontaktu **5 s**, rychlost odtržení **200 mm/min**, kontaktní síla **10N***



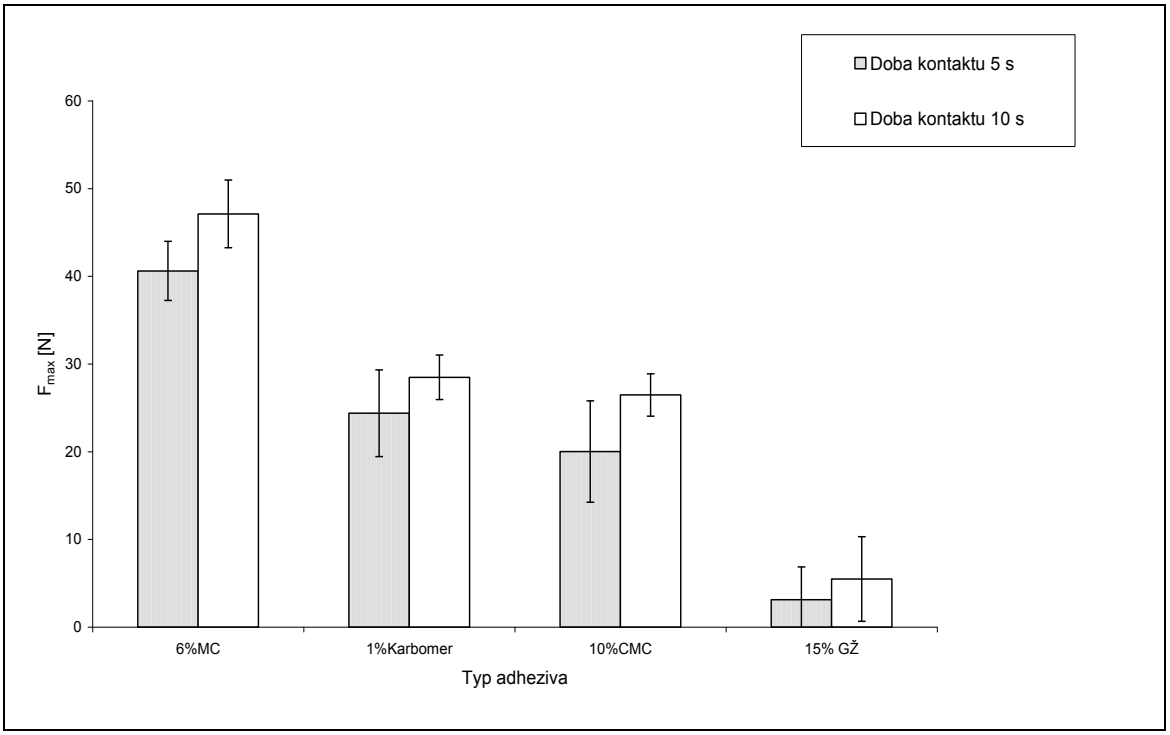
Graf 4: Adhezivní vlastnosti vodných disperzí polymerů
*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **200 mm/min**, kontaktní síla **10N***



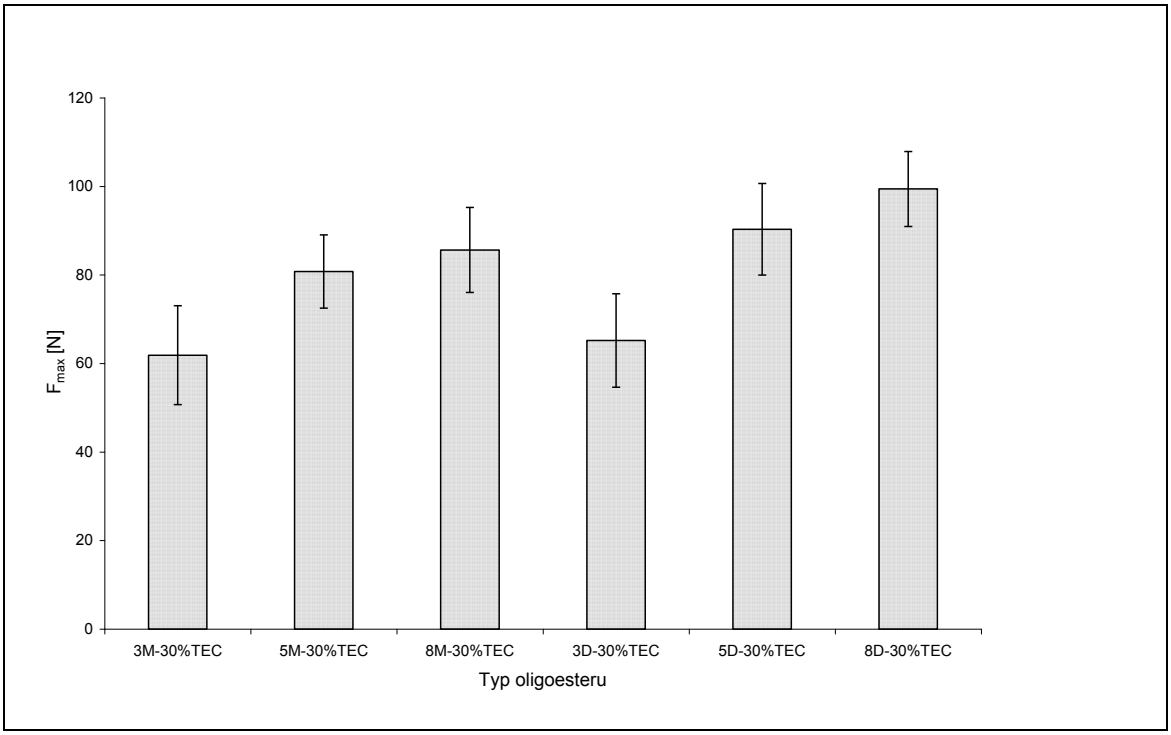
*Graf 5: Vliv rychlosti odtržení adheziva od substrátu na adhezivní vlastnosti vodných disperzí polymerů - doba kontaktu **10 s**, kontaktní síla **20N***



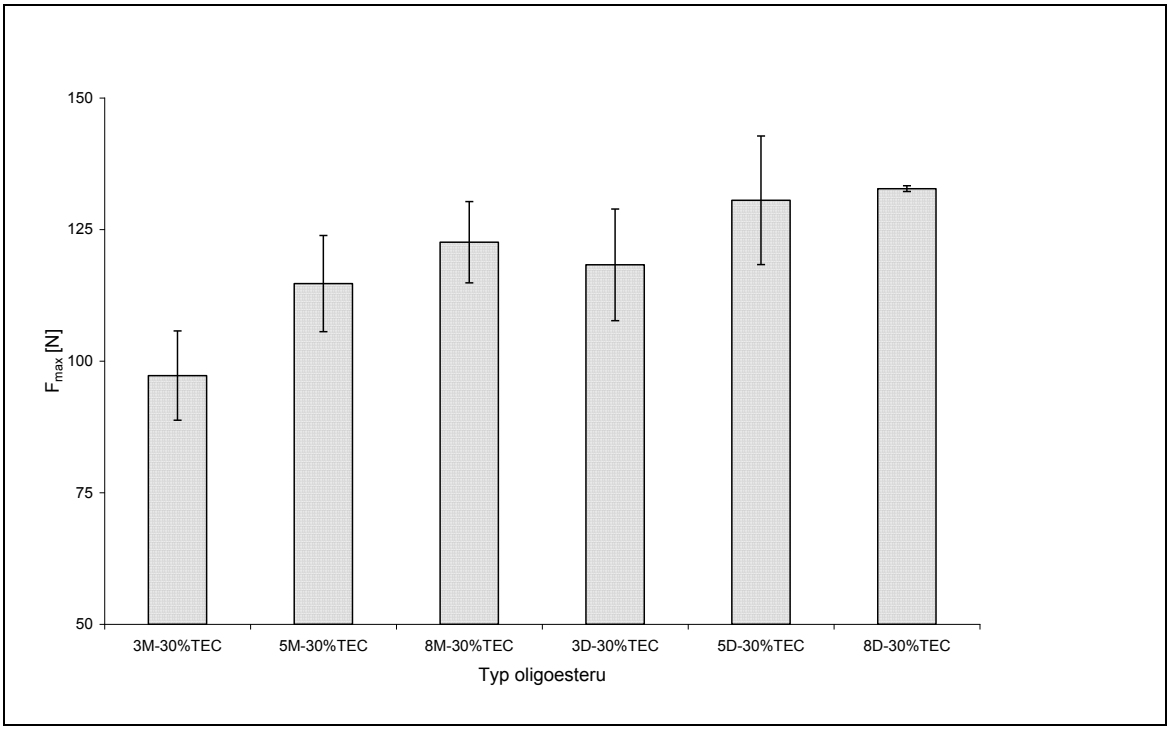
*Graf 6: Vliv doby kontaktu adheziva a substrátu na adhezivní vlastnosti vodných disperzí polymerů - rychlost odtržení **200 mm/min**, kontaktní síla **10N***



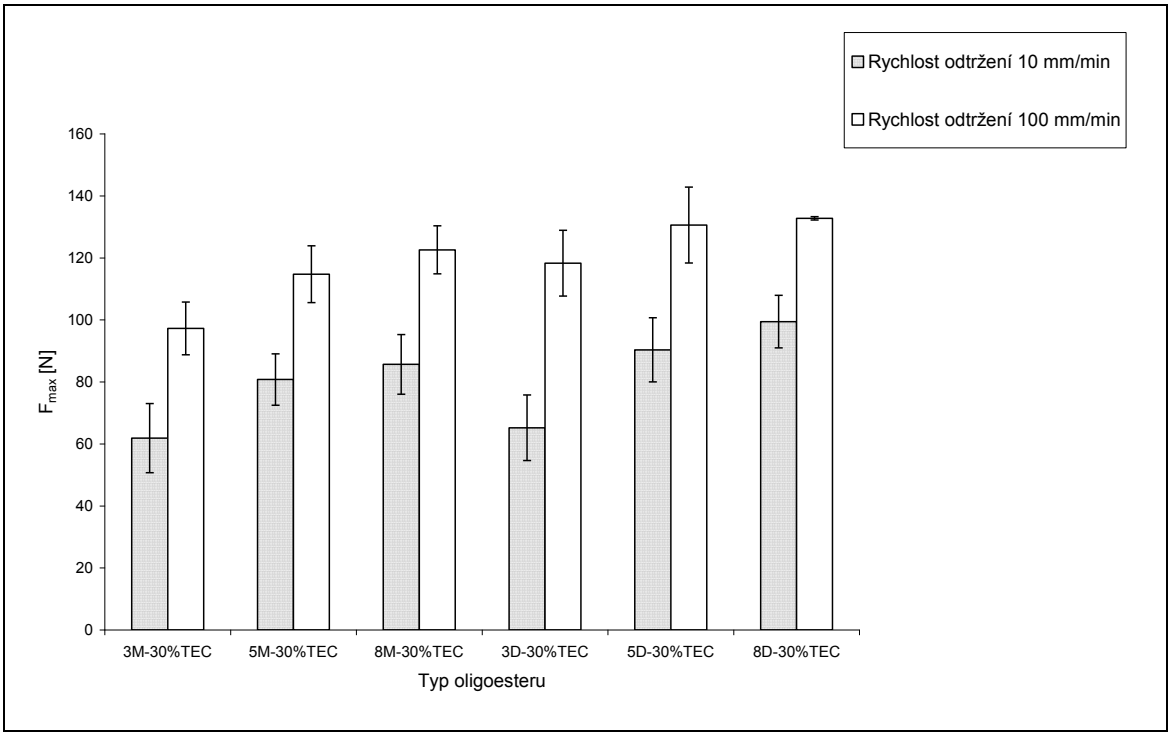
Graf 7: Adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 30% TEC
*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **10 mm/min**, kontaktní síla **20N***



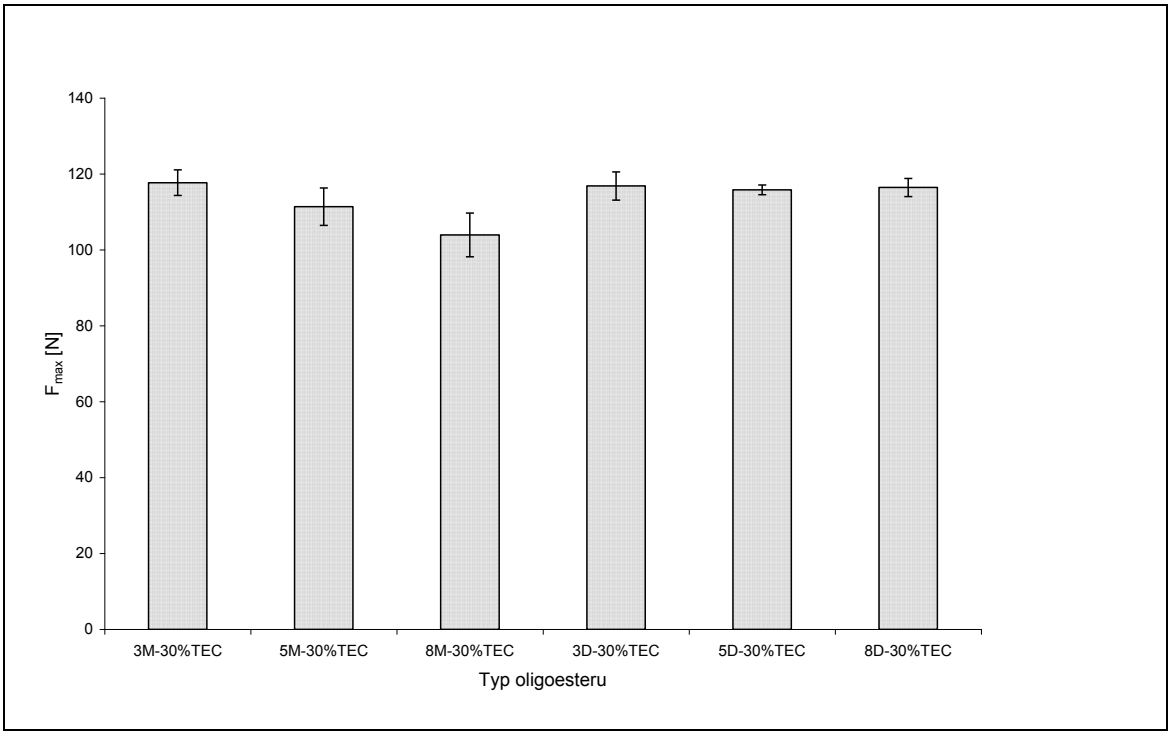
Graf 8: Adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 30% TEC
*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **100 mm/min**, kontaktní síla **20N***



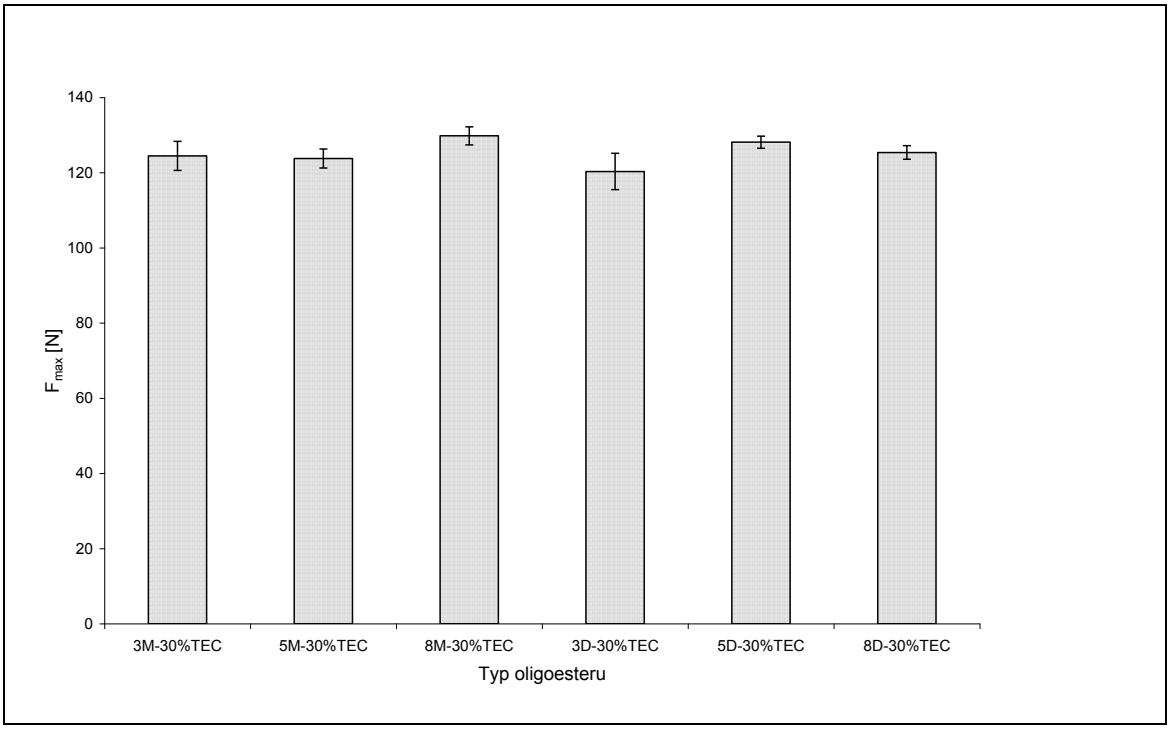
Graf 9: Vliv rychlosti odtržení adheziva od substrátu na adhezivním vlastnosti oligoesterů plastikovaných 30% TEC
*- doba kontaktu **10 s**, kontaktní síla **20 N***



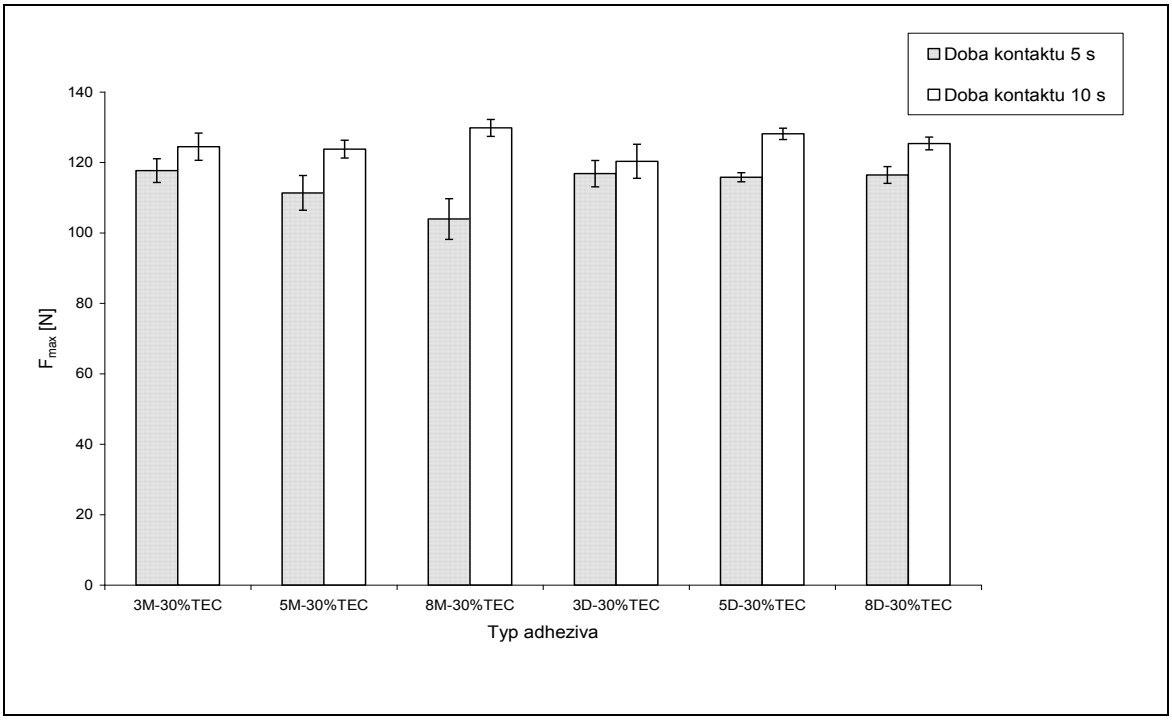
Graf 10: Adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 30% TEC
*- doba kontaktu **5 s**, rychlost odtržení **200 mm/min**, kontaktní síla **10N***



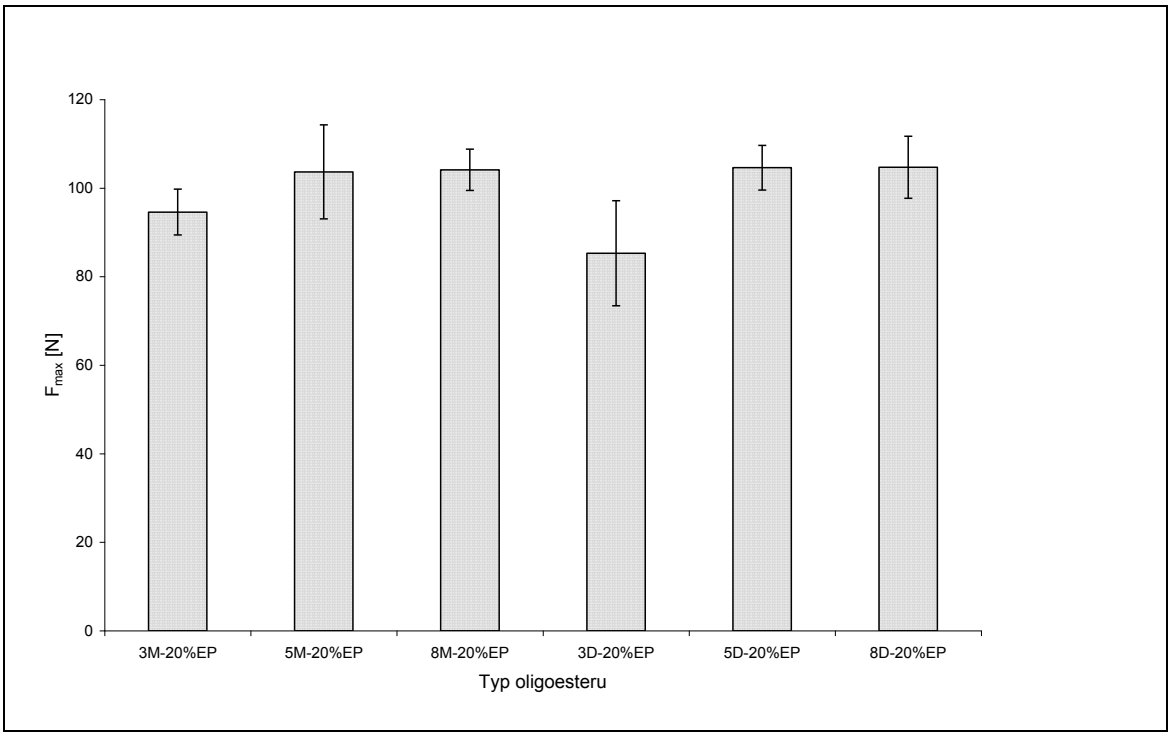
Graf 11: Adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 30% TEC
- doba kontaktu 10 s**, rychlost odtržení **200 mm/min**, kontaktní síla **10N



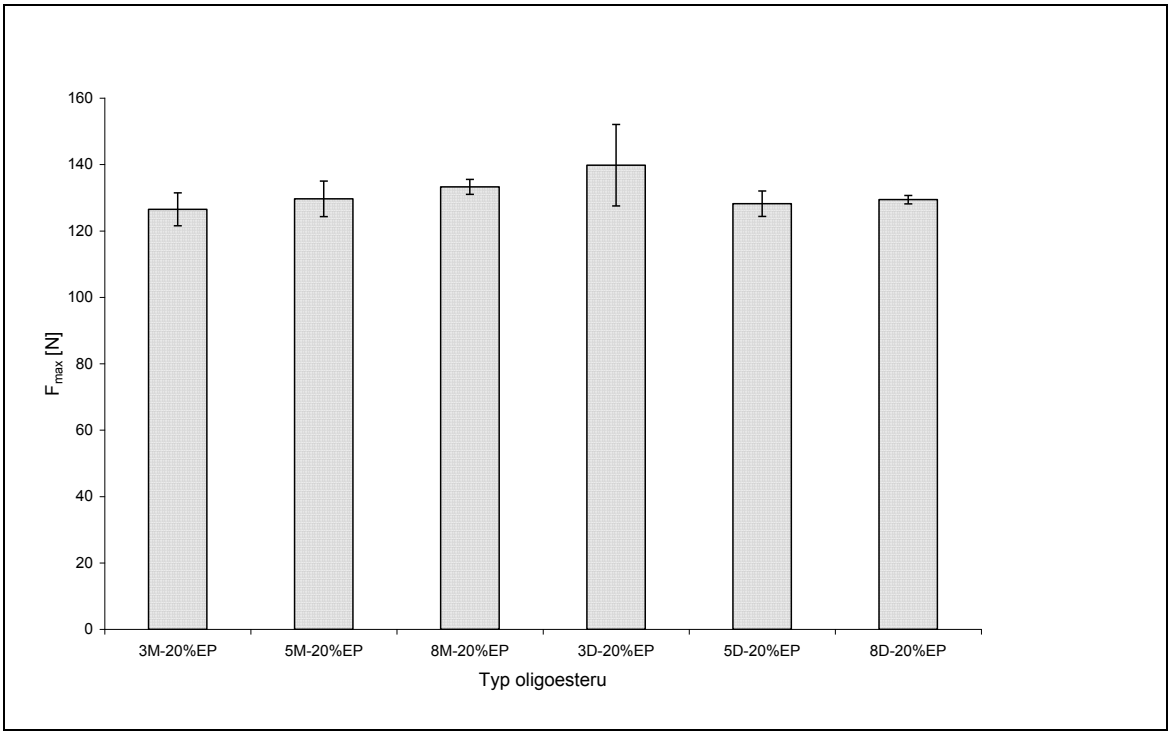
*Graf 12: Vliv doby kontaktu na adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 30% TEC - rychlost odtržení **200 mm/min**, kontaktní síla **10N***



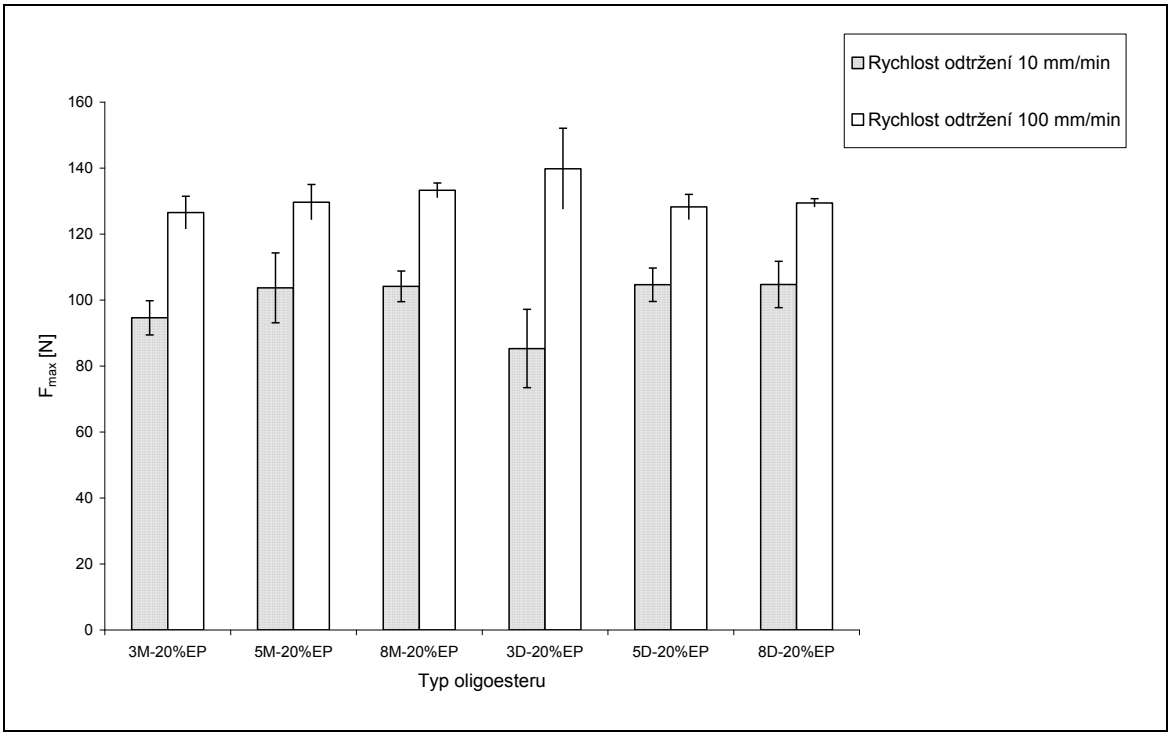
Graf 13: Adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 20% EP
*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **10 mm/min**, kontaktní síla **20N***



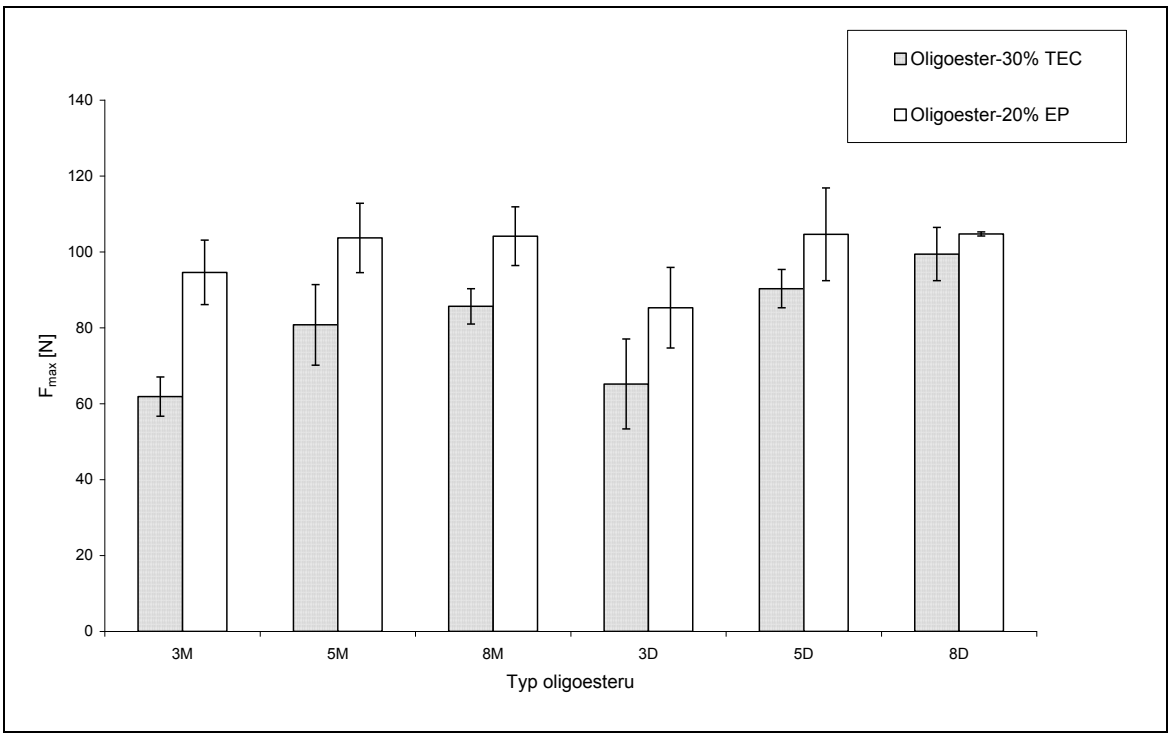
Graf 14: Adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 20% EP
*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **100 mm/min**, kontaktní síla **20N***



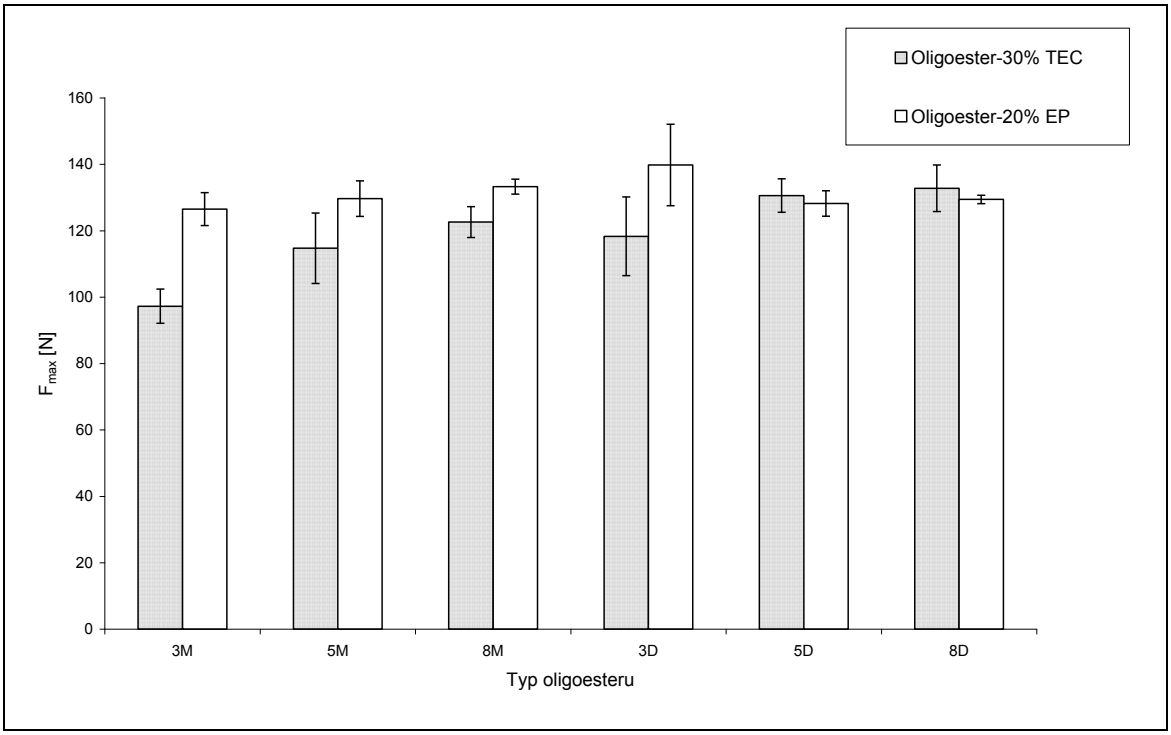
Graf 15: Vliv rychlosti odtržení adheziva od substrátu na adhezivní vlastnosti oligoesterů plastikovaných 20% EP
*- doba kontaktu **10 s**, kontaktní síla **20 N***

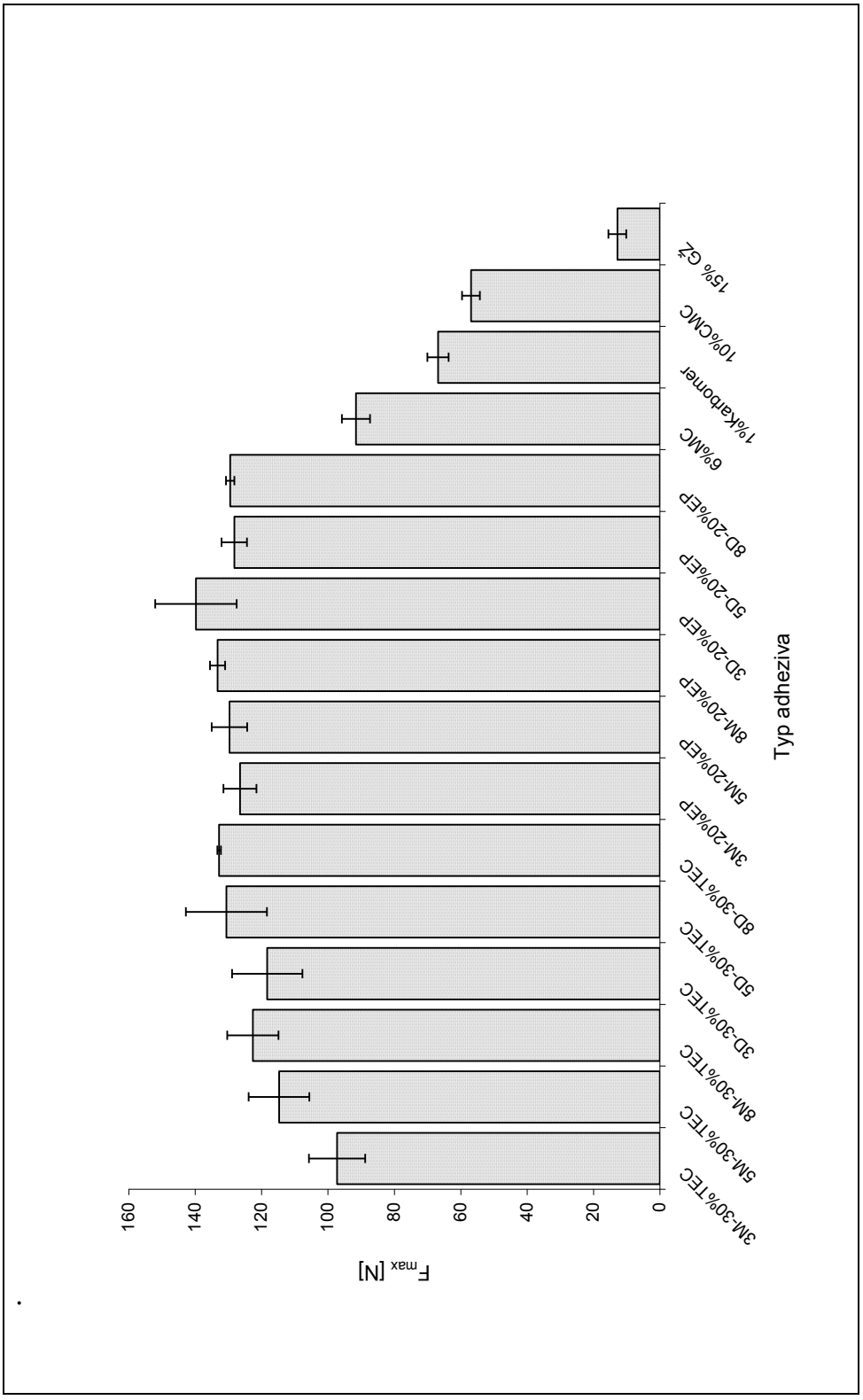


Graf 16: Vliv plastifikátoru na adhezivní vlastnosti oligoesterů
*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **10 mm/min**, kontaktní síla **20N***



Graf 17: Vliv plastifikátoru na adhezivní vlastnosti oligoesterů
*- doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **100 mm/min**, kontaktní síla **20N***





*Graf 18: Porovnání adhezivních vlastností oligoesterů plastifikovaných 30% TEC, 20% EP a vodných disperzí polymerů -doba kontaktu **10 s**, rychlost odtržení **100 mm/min**, kontaktní síla **20 N***

7. DISKUZE

Na katedře farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty UK v Hradci Králové byly v roce 2004 syntetizovány terpolymery kyseliny D,L-mléčné, glykolové a mannitolu resp. dipentaerythritolu ve funkci větvící složky. V reakční směsi bylo použito 3%, 5% nebo 8% mannitolu nebo dipentaerythritolu. Jednotlivé oligoestery se liší stupněm větvení, molekulovou hmotností a teplotou skelného přechodu (tab.5).

Oligoestery jsou určeny jako nosiče pro řízené uvolňování a cílenou distribuci léčiv. Doposud byla testována liberace acikloviru[24] terbinafinu, flukonazolu[25] a kyseliny listové[26] jako modelové látky léčiv s poměrně velkou molekulou a amfolytickou strukturou. Tyto polymerní systémy mohou být aplikovány topicky (na kůži nebo do dutiny ústní) nebo parenterálně (implantáty in situ), a to ve formě malých matric, mikročástic nebo nanočástic.

Předpokládané adhezivní vlastnosti těchto oligoesterů byly testovány na materiálovém zkušebním stroji T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell. Adhezivní vlastnosti oligoesterových nosičů byly měřeny jako maximální síla F_{max} v [N] potřebná k odtržení testovaného materiálu od podkladu. Při testování adheze nebyl použit biologický materiál jako podklad pro nanesení testovaných vzorků. Vzorky byly naneseny na plochu dolní čelisti testovacího stroje (obr.6), která je vyrobena z Novoduru. Naměřené hodnoty F_{max} nelze brát jako absolutní vyjádření adheze testovaných materiálů k biologickému povrchu, ale jako hodnoty relativní, použitelné (při uvedení testovacích parametrů) k porovnání adhezivity různých vzorků.

Dalším důvodem, proč nebyl použit biologický substrát, je skutečnost, že se jedná o první testy adheze provedené na katedře farmaceutické technologie a bylo potřeba zjistit zejména vhodné podmínky měření. Z literatury je známo, že právě příprava biologického podkladu pro měření adheze je nejnáročnější fází zkoušek, a to jak časově, tak i z hlediska pracnosti. Vlastní měření F_{max} je v porovnání s tím relativně snadné a rychlé.

Naměřená maximální síla potřebná k odtržení (F_{max}) vzorků plastifikovaných oligoesterů byla porovnáván s F_{max} běžně používaných adheziv jako jsou deriváty celulosy, akryláty nebo želatina. Byla měřena adhezivita při různých testovacích parametrech. Rychlost odtržení vzorku od podkladu byla zvolena 10 mm/min, 100 mm/min a 200 mm/min. Doba kontaktu vzorku a podkladu byla nastavena 5 s nebo

10 s a kontaktní síla 10 N nebo 20 N. Za těchto testovacích podmínek byla rovněž měřena F_{max} plastifikovaných oligoesterů.

Pro zlepšení zpracovatelnosti, aplikovatelnosti i ovlivnění liberace inkorporovaného léčiva se oligoestery plastifikují. Byly testovány adhezivní vlastnosti oligoesterových nosičů plastifikovaných triethylcitrátem v koncentraci 30% a ethylpyruvátem v koncentraci 20%. Tyto látky byly ve funkci plastifikátorů použity při formulaci matric s protimikrobními léčivy a zvolená koncentrace se jevila jako nejvhodnější jak z hlediska konzistence matric, tak z hlediska liberace inkorporovaných léčiv.[25, 27] Adhezivitu neplastifikovaných oligoesterů měřit nelze, protože se jedná o tvrdé, pouze za tepla tvarovatelné materiály.

7.1. Adhezivní vlastnosti vodných disperzí vybraných polymerů

Byly připraveny vodné disperze vybraných polymerů (methycelulosa, sodná sůl karmelosy, karbomer, želatina) (kap.5.3.2., str.28-30), měřena F_{max} při různých testovacích parametrech a naměřené hodnoty byly použity pro porovnání s adhezivními vlastnostmi plastifikovaných oligoesterů. (graf 18).

Pro první sérii testů adheze byla zvolena doba kontaktu vzorku a podkladu 10 s, kontaktní síla 20 N a 2 různé rychlosti odtržení vzorku od podkladu: 10 mm/min a 100 mm/min. Nejvyšší hodnota F_{max} byla naměřena u vzorku 6% vodné disperze methylcelulosy, nejnižší u vzorku 15% disperze želatiny, a to při obou rychlostech odtržení adheziva od podkladu (grafy 1 a 2). U všech testovaných vzorků byla větší síla pro odtržení adheziva od podkladu naměřena při vyšší rychlosti odtržení (graf 5).

Byla měřena maximální síla pro odtržení adheziva od substrátu při dvou různých dobách kontaktu: 5s a 10s. Rychlost odtržení při těchto testech byla 200 mm/min a kontaktní síla 10 N. Nejvyšší síla byla naměřena opět u vzorku methylcelulosy a nejnižší u vzorku želatiny, a to jak při době kontaktu 5 s, tak při době kontaktu 10 s (grafy 3 a 4). Při delší době kontaktu byly naměřeny vyšší hodnoty F_{max} (graf 6).

7.2. Adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 30% triethylcitrátu

Byla měřena F_{max} oligoesterů s mannitolem (3M, 5M, 8M) a dipentaerythritolem (3D, 5D, 8D) plastifikovaných 30% triethylcitrátu (TEC). Největší rozdíly v adhezivních vlastnostech testovaných oligoesterů se projevily při rychlosti odtržení 10 mm/min (graf 7). Nejmenší hodnota F_{max} byla zjištěna u vzorků s nejnižší 3% koncentrací větvící složky (3M - *62 N*, 3D - *65 N*). Vyšší hodnoty F_{max} byly zjištěny u vzorků s 5% větvící složky (5M – *81 N*, 5D – *90 N*) a nejvyšší u vzorku 8D – *99 N* (tab.10). Nosiče obsahující jako větvící složku dipentaerythritol vykazují vyšší adhezivitu než nosiče větvené mannitolem.

Testované oligoestery plastifikované 30% TEC vykazovaly vyšší adhezivitu v porovnání s vodnými disperzemi vybraných polymerů (graf 18).

7.2.1. Vliv rychlosti odtržení

Při konstantní době kontaktu vzorku a podkladu *10 s* a konstantní kontaktní síle *20 N* byl testován vliv rychlosti odtržení vzorku od podkladu na hodnotu síly potřebné k odtržení vzorku od podkladu (F_{max}). Rychlost odtržení byla *10 mm/min* nebo *100 mm/min*. Vyšší hodnoty F_{max} byly zjištěny při rychlosti odtržení adheziva od substrátu *100 mm/min*. Rozdíly v adhezivitě jednotlivých oligoesterů byly při *10mm/min* i *100 mm/min* stejné (graf 7 a 8). Vliv rychlosti odtržení na velikost síly potřebné k odtržení adheziva od substrátu při době kontaktu 10 s a kontaktní síle 20 N uvádí graf 9.

7.2.2. Vliv doby kontaktu

Byly měřeny adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 30% triethylcitrátu při různé době kontaktu vzorku a podkladu: *5 s* nebo *10 s* Kontaktní síla byla zvolena *10N* a rychlost odtržení vzorku od podkladu *200 mm/min*. Mezi jednotlivými testovanými oligoestery byly zjištěny pouze minimální, nevýznamné rozdíly v hodnotách F_{max} (graf 10 a graf 11). Vyšší hodnoty F_{max} byly naměřeny při delší době kontaktu (graf 12).

7.3. Adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 20% ethylpyruvátu

Ethylester kyseliny pyrohroznové (EP) je vedle triethylcitrátu (TEC) další látkou, která byla testována ve funkci plastifikátoru terpolymerů kyseliny mléčné, glykolové a mannitolu resp. dipentaerythritolu. Byly připraveny vzorky s 20% EP, což byla optimální koncentrace EP z hlediska zpracovatelnosti vzorků.

Na základě výsledků měření vzorků s 30% triethylcitrátu byla pro testování vzorků s EP zvolena kontaktní síla *20 N*, kontaktní doba *10 s* a byla testována rychlost odtržení adheziva od substrátu *10 mm/min* a *100 mm/min*.

Při rychlosti odtržení *10 mm/min* byly nejnižší hodnoty F_{max} naměřeny u vzorků 3D (*85 N*) a 3M (*95 N*), tedy u vzorků s nejnižší koncentrací větvící složky. Vzorky s 5% nebo 8% větvící složky vykazovaly prakticky stejné hodnoty F_{max} (graf 13). Zvýšením rychlosti odtržení vzorku od podkladu z *10 mm/min* na *100 mm/min* došlo ke zvýšení hodnot F_{max} (graf 15). Největší vzrůst F_{max} byl zjištěn u vzorku 3D. Zatímco při rychlosti *10 mm/min* byla u tohoto vzorku naměřena nejnižší hodnota F_{max}, při rychlosti *100 mm/min* byla naměřena nejvyšší hodnota F_{max}. Při pomalém odtrhávání adheziva od podkladu (*10 mm/min*) je výsledná hodnota F_{max} ovlivněna reologickými vlastnostmi vzorku.

Testované oligoestery plastifikované 20% EP vykazovaly vyšší adhezivitu v porovnání s vodnými disperzemi vybraných polymerů (graf 18).

7.4. Vliv typu plastifikátoru na adhezivní vlastnosti oligoesterových nosičů

Byly porovnány adhezivní vlastnosti oligoesterů plastifikovaných 30% triethylcitrátu a oligoesterů plastifikovaných 20% ethylpyruvátu při době kontaktu vzorku s podkladem *10 s*, kontaktní síle *20 N* a dvou různých rychlostech odtržení vzorku od podkladu. Vyšší hodnoty F_{max} byly naměřeny u oligoesterů plastifikovaných 20% EP při obou rychlostech odtržení vzorku od substrátu. Při rychlosti *10 mm/min* byly rozdíly mezi oligoestery s 30% TEC a oligoestery s 20% EP vyšší (graf 16) než při rychlosti odtržení *100 mm/min* (graf 17).

8. ZÁVĚRY

Z výsledků předložené diplomové práce lze vyvodit tyto závěry:

1. Adhezivita plastifikovaných oligoesterů kyseliny D,L-mléčné, kyseliny glykolové a mannitolu resp. dipentaerythritolu je vyšší v porovníní s adhezivitou gelů vybraných polymerů.

2. Adhezivita oligoesterů se zvyšuje s rostoucí koncentrací větvící složky, přičemž u oligoesterů větvených dipetaerytrhritolem byly naměřeny vyšší hodnoty adhezní síly než oligoesterů větvených mannitolem. U gelů vybraných polymerů klesá adhezivita od 6% methylcelulosy, přes 1% karbomeru a 10% sodné soli karmelosy, k 15% glycerogelu želatiny.

3. Naměřená síla adheze u testovaných oligoesterů kyseliny D,L-mléčné, kyseliny glykolové a mannitolu resp. dipentaerythritolu je ovlivněna typem plastifikátoru. Vyšší síla adheze byla zjištěna u oligoesterů plastifikovaných 20% ethylpyruvátu než v porovnání s oligoestery plastifikovanými 30% triethylcitrátu.

4. Z testovacích parametrů byla adhezivita ovlivněna především rychlostí odtržení vzorku adheziva od podkladu, méně dobou kontaktu adheziva a podkladu. Vyšší hodnoty síly adheze byly zjištěny vyšší rychlosti odtržení a delší době kontaktu.

9. SOUHRN

V teoretické části diplomové práce jsou shrnuty základní teorie a mechanizmy bioadheze, vlastnosti bioadhezivních polymerů, faktory ovlivňující stupeň adheze a nejběžnější metody testování bioadheze in vitro.

V experimentální části předkládané práce byly studovány adhezní vlastnosti terpolymerů kyseliny D,L-mléčné, kyseliny glykolové a mannitolu resp. dipentaerythritolu plastifikované 20% ethylpyruvátu nebo 30% triethylcitrátu. Byl použit materiálový zkušební stroj T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell. Mírou adhezivity byla maximální síla F_{max} v [N] potřebná pro odtržení vzorku od podkladu. Naměřená síla potřebná k odtržení (F_{max}) vzorků plastifikovaných oligoesterů byla porovnáván s F_{max} běžně používaných adheziv jako jsou deriváty celulosy, akryláty nebo želatina. Byla měřena adhezivita při různých testovacích parametrech. Rychlost odtržení vzorku od podkladu byla zvolena 10 mm/min, 100 mm/min a 200 mm/min. Doba kontaktu vzorku a podkladu byla nastavena 5 s nebo 10 s a kontaktní síla 10 N nebo 20 N.

Byly zjištěny adhezivní vlastnosti plastifikovaných terpolymerů kyseliny D,L-mléčné, kyseliny glykolové a mannitolu resp. dipentaerythritolu. Stupeň adhezivity byl vyšší než u gelů methylcelulosy, karbomeru, karmelosy a želatiny. Adhezivita oligoesterů se zvyšuje s rostoucí koncentrací větvící složky, přičemž u oligoesterů větvených dipetaerytrhritolem byly naměřeny vyšší hodnoty adhezní síly než oligoesterů větvených mannitolem.

Hodnota maximální síly potřebné pro odtržení adheziva od podkladu byla ovlivněna především rychlostí odtržení vzorku od podkladu, méně dobou kontaktu adheziva a podkladu. Vyšší hodnoty síly adheze byly zjištěny vyšší rychlosti odtržení a delší době kontaktu.

.

10. LITERATURA

[1] Robinson, J. R.: in Bioadhesion-Possibilities and Future Trends, R.Gurny and H. E. Junginger, Eds. Wissenschaftliche Verlagsgesselschaft mbH Stuttgart, Germany, 1999.

[2] Vasir, J. K., Tambwekar, K., Garg, s.: Bioadhesive microspheres as controlled drug delivery systems. Int.J.Pharm., 255, 2003, 13 - 32.

[3] Peppas, N. A., Mikos, A.G.: Kinetics of Mucus-Polymer interaction, Bioadhesion Possibilities and Future Trends, Gurny, R., Junginger, H., E., Wiss. Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1990.

[4] Junginger, H. E.:Mucoadhesive hydrogels. Pharm.Ind., 53, 1991, 1056 - 1065.

[5] Derjaguin, B. V., Smilga, V. P.: Adhesion: Fundamentals and Practise. McLaren, London, 1969.

[6] Park, H.,Robinson, J. R..: Int. J. Pharm. 19, 1984, 107.

[7] Langer, M. A., Robinson, J. R.: Pharm. Int. 7, 1987, 114.

[8] Leung, S. S., Robinson, J. R., J.: Control. Rel.12, 1990, 187.

[9] Nefee, N. A., Ismail, F.A., Boraie, N. A., Mortada, L. M.:Mucoadhesive delivery systems. I. Evaluation of mucoadhesive polymers for buccal tablet formulation. Drug Dev. Ind. Pharm., 30, 2004, 985 - 993.

[10] Yang, X., Robinson, J. R.: Biorelated Polymers and Gels, Chapter 5, Academic Press, Visconsin, 1998.

[11] Chen, J. L., Cyr, G. N.: Compositions producing adhesions through hydravion, in: Adhesive Biological Systems, Manly, R. S., Chapter 10, Academic Press, Oxford-New York,1970.

[12] Park, K., Robinson, J. R.: Int. Pharm., 19, 1984, 107.

[13] Smart, J. D., Kellaway, I. W., Worthington, H. E. C.: J. Pharm. Pharmacol. 36, 1984, 295.

[14] Kerss, S., Allen,. A.: Clin. Ski. 63, 1982.

[15] Lehr, C. M.: Int. J. Pharm. 70, 1991, 235.

[16] Verdugo, P., Deyrup-Olsen, I., Aitken, M., Villalon,.M., Johnson, D.: J. Dent. Res. 66, 1987, 506 - 508.

[17] Hook, M.: Ann.Rev. Biochem. 53, 1984, 847 - 869.

[18] Goldstein, I. J.: Nature 285, 1980, 66.

[19] Hass, J., Lehr, C. M.: Development in area of bioadhesive drug delivery systems. Expert Opin. 2, 2002, 187 - 298.

[20] Mortazavi S. A, Smart J. D., An in-vitro method for assesing duration of mucoadhesion, Int. J. Pharm., 180, 1999, 47-57.

[21] Wong, C. F.,Yuen, K. H., Peh K. K., An in-vitro method for buccal adhesion studies: importace of instrument variables, Int. J. Pharm., 180, 1991, 69-74.

[22]Smart J. D.: An in vitro assesment of some mucosa-adhesive dosage forms, Int. J. Pharm., 73, 1991, 69-74

[23]Prokelová, I.:Adhezivní vlastnosti větvených oligoesterů, Rigorózní práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2005, 90s.

[24] Trčková, K.: Studium degradabilních systémů s aciklovirem II, Diplomová práce, Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové, 2005, 69 s

[25] Mrázek,D.: Biodegradabilní systémy s protimikrobními léčivy, Diplomová práce, Farmaceutická fakulty UK v Hradci Králové, 2005, 79 s.

[26] Leníčková, M.: Biodegradabilní matrice s prolongovanou liberací léčiva, Rigorózní práce, Farmaceutická fakulta UK, 2005, 58 s

[27] Tichopádová, O.: Liberace léčiv z oligoesterových nosičů, Rigorózní práce, Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové, 2006, 74 s