



UNIVERZITA KARLOVA  
Farmaceutická fakulta  
v Hradci Králové

Tuhé disperze s aciklovirem  
plastifikované methyl-salicylátem

*Rigorózní práce*

Hradec Králové 2018

Mgr. Karolína Vodičková

„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. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu“.

Děkuji PharmDr. Evě Šnejdrové, Ph.D. za odborné vedení při vypracování rigorózní práce. Dále bych chtěla poděkovat PharmDr. Petru Kastnerovi, Ph.D. za spolupráci při stanovení acikloviru HPLC metodou.

V Hradci Králové

Mgr. Karolína Vodičková

# 1 OBSAH

1	OBSAH.....	3
2	ABSTRAKT .....	5
3	ABSTRACT.....	6
4	ZADÁNÍ PRÁCE .....	7
5	ÚVOD.....	8
6	TEORETICKÁ ČÁST .....	9
6.1	Plastifikace ve farmacii .....	9
6.1.1	Klasifikace plastifikátorů.....	11
6.1.2	Vybrané plastifikátory využívané ve farmacii.....	12
6.2	Polyestery odvozené od $\alpha$ -hydroxykyselin.....	16
6.2.1	Kyselina polymléčná (PLA) .....	17
6.2.2	Kyselina polyglykolová (PGA) .....	18
6.2.3	Kopolymer kyseliny mléčné a glykolové (PLGA) .....	19
6.2.4	Faktory ovlivňující degradaci .....	20
6.3	Větvící monomery.....	21
6.4	Aciklovir .....	24
7	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	26
7.1	Použité přístroje .....	26
7.2	Použité suroviny.....	26
7.3	Příprava tuhých disperzí.....	27
7.4	Příprava fosfátcitrátového pufru pH 7,4.....	27
7.5	Příprava substrátu pro disoluční test .....	28
7.6	Kalibrační přímka acikloviru .....	28
7.7	Disoluční test.....	29
7.8	Měření reologických charakteristik.....	30

7.9	Termická analýza tuhých disperzí.....	30
8	VÝSLEDKY .....	32
8.1	Termická analýza .....	32
8.2	Reologické vlastnosti tuhých disperzí.....	35
8.3	Liberace acikloviru z tuhých disperzí .....	42
9	DISKUZE .....	44
9.1	Termické charakteristiky.....	44
9.2	Reologické charakteristiky.....	45
9.3	Disoluční charakteristiky .....	46
10	ZÁVĚRY .....	47
11	SEZNAM LITERATURY .....	48

## 2 ABSTRAKT

UNIVERZITA KARLOVA

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické technologie

Jméno a příjmení: **Mgr. Karolína Vodičková**

Název rigorózní práce: Tuhé disperze s aciklovirem plastifikované methyl-salicylátem

Školitel: PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.

Rigorózní práce se zabývá studiem reologických, termických a disolučních vlastností biodegradabilních nosičů léčiv. V teoretické části jsou popsány vlastnosti plastifikátorů, větvicích monomerů a polyesterů odvozených od  $\alpha$ -hydroxykyselin. V experimentální části byly připraveny tuhé disperze tvořené polyesterem kyseliny mléčné a glykolové, větveným na pentaerythritolu, plastifikované methyl-salicylátem (MS) v koncentracích 20 %, 30 % a 40 %. Jako léčivo byl inkorporován aciklovir (ACV). Byla provedena termická analýza tuhých disperzí na DSC. Bylo potvrzeno, že methyl-salicylát je účinným plastifikátorem větveného polyesteru již v koncentraci 20 %. Byla měřena viskozita plastifikovaných soustav v rozmezí rychlostního spádu  $0,1 - 10 \text{ s}^{-1}$  při třech teplotách a data byla analyzována pomocí Newtonova modelu. Plastifikované soustavy vykazují newtonský tok s hodnotou viskozity ovlivněnou typem a koncentrací plastifikátoru. Viskozita umožňující snadné zpracování, inkorporaci léčiva a aplikaci přípravku je při teplotě  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  dosažena až přidavkem 40 % MS. Byl proveden disoluční test acikloviru ve vodní lázni s integrovanou třepací platformou při  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ . Množství uvolněného acikloviru bylo stanoveno metodou HPLC. Byl zjištěn významný rozdíl v průběhu liberace ACV při použití 20 % MS a 30 % MS. Doba liberace acikloviru při plastifikaci 20 % MS byla 7 dnů. Při použití 30 % MS byla doba liberace 24 hod. Další zvýšení koncentrace MS na 40 % dobu liberace ACV neovlivnilo.

### 3 ABSTRACT

CHARLES UNIVERSITY

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmaceutical Technology

Name of the student: **Mgr. Karolína Vodičková**

Title of rigorous thesis:

Aciclovir loaded solid dispersions plasticized with methyl salicylate

Consultant: PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.

Rigorous thesis deals with the study of rheological, thermal and dissolution properties of biodegradable drug carriers. The theoretical part describes the properties of plasticizers, branching monomers and polymers derived from  $\alpha$ -hydroxy acids. In the experimental part, solid dispersions made from star-like polyester of lactic and glycolic acids, branched on pentaerythritol, plasticized with methyl salicylate (MS) in concentrations of 20 %, 30 % and 40 %, were prepared. Aciclovir (ACV) was incorporated as the drug. Thermal analysis of solid dispersions was performed by DSC. It has been confirmed that MS is efficient plasticizer of star-like polyester already in concentration of 20 %. The viscosity was measured at the shear rate range from 0,1 to 10 s<sup>-1</sup> at three temperatures, and the data were analysed by Newtonian model. The viscosity for easy processing, drug incorporation, and application is achieved at 25 °C with the addition of 40 % MS. The dissolution test of aciclovir was performed in a water bath with an integrated shaking platform at 37 °C. The amount of aciclovir released was determined by HPLC. A significant difference in aciclovir release from polymeric system plasticized with 20 % MS and 30 % MS was found. ACV was released 7 days for the plasticization with 20 % MS. Using 30 % MS, the release time was shortened to 24 hours. A further increase in MS concentration to 40 % ACV did not affect the release time.

## 4 ZADÁNÍ PRÁCE

Cílem rigorózní práce je studium reologických, termických a disolučních vlastností polyesterových nosičů léčiv. Jako nosič léčiva použít kopolymer kyseliny glykolové a kyseliny mléčné větvený na tripentaerythritolu (5T), který byl plastifikován methyl-salicylátem.

Experimentální část lze rozdělit do několika kroků:

1. Připravit tuhé disperze tvořené polyesterem 5T a plastifikované methyl-salicylátem v koncentracích 20 %, 30 % a 40 %, obsahující aciklovir v koncentraci 5 %.
2. Hodnotit reologické vlastnosti polyesteru 5T plastifikovaného methyl-salicylátem na rotačním reometru Kinexus Pro<sup>+</sup> a výsledky vyhodnotit pomocí softwaru *r-Space for Kinexus 1.72*.
3. Provést termickou analýzu polyesteru 5T plastifikovaného methyl-salicylátem na DSC.
4. Provést disoluční test acikloviru ve vodní lázni s integrovanou třepací platformou při 37 °C. Jako disoluční medium použít fosfátcitrátový pufr pH 7,4 a jako podklad hydratovaný mucin z prasečích žaludků.
3. Stanovit množství uvolněného acikloviru spektrofotometricky a metodou HPLC.

## 5 ÚVOD

Plastifikátory jsou látky, které se přidávají k polymeru, aby zlepšily jejich vlastnosti pro zpracování a výsledný terapeutický efekt. Existuje mnoho plastifikátorů, avšak jen zlomek se může využívat v oblasti farmacie a medicíny. Velký potenciál mají látky, které působí jako plastifikátory a ještě mají účinek terapeutický, stabilizující nebo korigující. Nazýváme je multifukčními či netradičními plastifikátory. Methyl-salicylát, který byl použit v této rigorózní práci, je monografován v Českém lékopisu a má z farmakologického hlediska prokazatelné protizánětlivé a analgetické účinky.

V rigorózní práci, navazující metodikou na práci Hrubantové<sup>1</sup> a Líbenkové,<sup>2</sup> jsou studovány disoluční, termické a reologické vlastnosti větveného polyesteru 5T, plastifikovaného methyl-salicylátem. Studium těchto vlastností má význam pro další vývoj terapeutického systému s cílem najít vhodný polymer se správným typem a koncentrací plastifikátoru podle konkrétních požadavků. Je to složitý proces, na který má vliv hodně faktorů. Z hlediska výběru plastifikátorů pro farmaceutický průmysl je jedna z nejdůležitějších vlastností biokompatibilita, biokompatibilita s daným polymerem a v neposlední řadě i cena a vliv na životní prostředí.



## 6 TEORETICKÁ ČÁST

### 6.1 Plastifikace ve farmacii

Plastifikátory používané ve farmacii jsou obecně netěkavé, nízkomolekulární sloučeniny, s vysokým bodem varu. Přidáním plastifikátoru k polymeru dochází ke snížení viskozity a skelného přechodu, aniž by se změnil chemický charakter měkčeného materiálu.<sup>3</sup> Se snižující se viskozitou se u polymeru zlepšuje zpracovatelnost, pružnost a tvárnost. Viskozita má vliv na reaktivitu, při nižší viskozitě jsou molekuly více pohyblivé a zvyšuje se chemická reaktivita. Plastifikátor snižuje teplotu skelného přechodu amorfních polymerů a zvyšuje rychlost disoluce léčiva z matricových systémů.<sup>4</sup> Plastifikátory ve farmaceutické technologii mají velký význam při potahování tablet, tobolek, pelet, a granulátů, kde zabezpečují kvalitu vzniklého filmu.<sup>5</sup> Plastifikátory jsou součástí membránových systémů, kde je plastifikace důležitá pro lepší pružnost a pevnost membrány a modifikuje její propustnost pro léčivé látky, plyny a rozpouštědla. V matricových systémech se plastifikátory používají pro zlepšení mechanických, adhezivních a termických vlastností. Plastifikátory mohou mít i negativní účinky na funkci membrán, a to zvýšení propustnosti plynů rozpuštěných látek a vodních par.<sup>6,7</sup> Účinná plastifikace závisí na několika faktorech: chemická struktura polymeru, kompatibilita a mísitelnost s polymerem, molekulová hmotnost a koncentrace plastifikátoru, rychlost difuze plastifikátoru do polymerní matrice.<sup>8</sup>

Funkční skupiny plastifikátoru mohou silně interagovat s polymerem a výsledkem může být zvýšení teploty skelného přechodu polymeru a tzv. antiplastický efekt, kdy jsou termické a mechanické vlastnosti přesně opačné než jsou vlastnosti plastifikátoru.<sup>9</sup> Výhodou antiplastického efektu je, že zvyšuje pevnost v tahu, tak i pružnost (Youngův modul). Antiplastifikační efekt mohou mít nízké koncentrace plastifikátoru. V soustavě škrob-sorbitol-voda působí sorbitol do koncentrace 27 % jako antiplastifikátor a až po překročení této koncentrace působí jako plastifikátor.<sup>10</sup> Antiplastifikace je výsledkem působení více faktorů - zmenšení volného prostoru polymerů, interakcí polárních skupin mezi polymerem a antiplastifikátorem.<sup>9</sup>

Plastifikátory pro farmaceutické účely jsou vybírány podle kritérií v následujícím pořadí podle důležitosti:<sup>11</sup>

- biokompatibilita
- kompatibilita plastifikátoru s daným polymerem
- vliv plastifikátoru na uvolňování léčiva
- účinek plastifikátoru na mechanické vlastnosti
- vlastnosti pro zpracování
- ekonomická stránka

Pro použití plastifikátoru v živém organismu je nutno zohlednit kritérium toxicity a biokompatibility s ohledem na způsob aplikace, velikost dávky a frekvenci dávkování plastifikovaného polymerního systému. Např. v tabletách, potahované tenkým filmem plastifikovaného polymeru, je plastifikátor obsažen řádově v setinách procent. V implantátech *in situ*, kde plastifikátor snižuje viskozitu, aby soustava mohla být aplikována injekční jehlou, je obsah plastifikátoru v desítkách procent a přejímá funkci rozpouštědla polymeru. Rozdíl mezi plastifikátorem a rozpouštědlem není jednoznačně definován. Vhodná koncentrace plastifikátoru se může pohybovat v rozmezí 5 až 30 %, ale i více, zejména v závislosti na stupni krystalinity polymeru.<sup>12</sup>

Mechanismus plastifikačního procesu je složitý děj a v současné době se přikláníme k několika teoriím, jak plastifikace probíhá:

- *Lubrikační teorie* plastifikace, podle které plastifikátor působí jako lubrikant, který umožňuje pohyb polymerního řetězce při síle působící na plast. Při zahřívání a míchání plastifikátor difunduje do polymeru, oslabuje intermolekulární a Van der Waalovy vazby polymeru a předchází tvoření pevné struktury. Toto oslabování vazeb vede ke zvýšení flexibility a měkkosti polymeru.
- *Gelová teorie* předpokládá, že polymer se nachází v trojrozměrné struktuře se slabými vazebnými silami. A právě tyto vazby plastifikátor snadno oslabuje a tím je polymer pružnější.
- *Teorie volného objemu* vychází z obou předchozích teorií.<sup>13</sup> Plastifikátory v polymerní soustavě zvyšují volný objem mezi polymerními řetězci, který umožňuje, aby se segmenty řetězce otáčely volněji, a tím se zvýší pohyb polymerních řetězců vzhledem k sobě, v důsledku toho se sníží viskozita a skelný přechod taveniny.<sup>14</sup> Volný objem může být zvětšen přidáním vedlejších

řetězců, koncových skupin nebo přidáním malých molekul s flexibilní koncovou skupinou.<sup>13</sup>

- *Teorie solvatační a desolvatační rovnováhy* doplňuje výše uvedené teorie a je nejvíce podobná gelové teorii, kde se předpokládá, že je plastifikátor připojen k řetězci polymeru. Rozdíl u této teorie je, že se plastifikátor může volně pohybovat z jednoho místa na druhé.<sup>15</sup>

### 6.1.1 *Klasifikace plastifikátorů*

Podle molekulové hmotnosti dělíme plastifikátory na *nízkomolekulární* a *vysokomolekulární*. Nízkomolekulární plastifikátory jsou obecně kapaliny s vysokým bodem varu, nízkou viskozitou, chemicky stabilní a molekulovou hmotností 300 až 600 g/mol. Většina nízkomolekulárních plastifikátorů jsou estery. Vysokomolekulární plastifikátory obsahují mnoho opakujících se jednotek, s molekulovou hmotností od 1 000 do 10 000 g/mol. Jsou méně těkavé a jsou stálější. Do této skupiny patří např. polyestery a polyethylenglykoly.<sup>16</sup> V praxi se používají polyestery kyseliny adipové, sebakové, ftalové. Využívají se často v kombinaci s monomerním plastifikátorem, aby se zredukovala těkavost směsi rozpouštědel.<sup>3</sup>

Dělení na *hydrofilní* a *hydrofobní* plastifikátory nám určuje, zda plastifikátor urychluje nebo brání vstup vody do polymerní matrice, a tím ovlivňuje liberaci léku z polymerní soustavy. Hydrofilní plastifikátor urychluje difuzi, a tím uvolnění aktivní léčivé látky. Hydrofobní plastifikátor redukuje permeabilitu matrice, a tím zpomalí uvolnění léčivé látky. Mezi nejčastěji používané hydrofilní plastifikátory patří triethyl-citrát, triacetin, nízkomolekulární polyethylenglykol, propylenglykol a glycerol. Mezi hydrofobní patří acetyl-triethylcitrát, dibutyl-ftalát, dibutyl-sebakát, diethyl-ftalát a tributyl-citrát.<sup>17</sup>

Plastifikaci polymeru dále dělíme na *vnitřní* a *vnější*, podle toho, jak plastifikátor začleníme do polymeru. Vnitřní plastifikace zahrnuje kopolymeraci monomeru požadovaného polymeru a plastifikátoru, plastifikátor je tedy součástí polymerního řetězce. V tomto případě se používá jako plastifikátor polymer s nízkou teplotou skelného přechodu, např. vinyl-acetát a vinylidenchlorid. Vnější plastifikátor se používá jako přidaná látka, která není začleněna do polymeru.<sup>18</sup> Vnější plastifikátory přidané k farmaceuticky používaným polymerům interagují s jejich řetězci, ale nejsou chemicky navázány kovalentními vazbami. Nevýhodou je, že může dojít k jejich evaporaci, migraci a extrakci plastifikátoru. Výhodou použití vnějších plastifikátorů je možnost

vybrat správný typ plastifikátoru a koncentraci v závislosti na požadovaných vlastnostech terapeutického systému, zejména uvolňování inkorporovaného léčiva. Používají se diestery odvozené od dikarboxylových kyselin (např. kyselina sebaková, kyselina azelaová), ethylenglykol a propylenglykol, kyselina citrónová (tributyl-citrát, triethyl-citrát), nebo glycerol (triacetin, tributyrin).<sup>11</sup>

Podle koncentrace dělíme plastifikátory na *primární* a *sekundární*. Pokud je polymer rozpustný v plastifikátoru i ve vysoké koncentraci, označujeme tento typ plastifikátoru jako primární. Primární plastifikátor plastifikuje polymer rychle při normálních podmínkách a neměl by se uvolňovat z plastifikovaného materiálu. Zatímco sekundární plastifikátor není kompatibilní s polymerem a má nižší schopnost tvořit gel. Nepoužívají se samostatně, ale v kombinaci s primárními plastifikátory.<sup>3</sup>

### 6.1.2 *Vybrané plastifikátory využívané ve farmacii*

Ve farmaceutické technologii se jako plastifikátory používají málo těkavé estery s molární hmotností 200 až 400 g/mol a teplotou varu 300 až 400 °C, diestery odvozené buď od dikarboxylových kyselin (např. kyseliny sebakové, kyseliny azealové), nebo od ethylenglykolu či propylenglykolu, triestry odvozené od kyseliny fosforečné, citronové (tributyl-citrát, triethyl-citrát) nebo glycerolu (triacetin, tributyrin). Funkci plastifikátoru má rovněž strukturální voda ve zbobtnalém polymeru.<sup>19</sup>

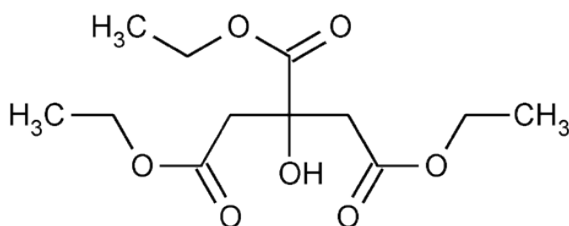
Další skupinou plastifikátorů, které mají potenciální užití ve farmacii, jsou tzv. netradiční či multifunkční plastifikátory. Některé pomocné látky a léčivé látky vykazují plastifikační efekt. Látky během aplikace mohou migrovat z tenké vrstvy filmu a ovlivňovat uvolňování léčiva. Jde např. o látku lidokain (antiarytmikum, lokální anestetikum), která se chovala jako plastifikátor v polymerním systému Eudragit E 100.<sup>9,20</sup> V další studii byl zkoumán vliv methylparabenu, ibuprofenu, chlorfeniramin maleátu a theofylinu na tepelné a mechanické vlastnosti polymerních filmů Eudragit RS 30 D. Výsledky ukázaly, že teplota skelného přechodu se u polymerního filmu Eudragit RS 30 D snižuje vlivem methylparabenu, ibuprofenu nebo chlorfeniramin maleátu. Theofylin neměl žádný vliv na termické vlastnosti polymeru.<sup>21</sup>

Estery kyseliny citronové jsou netoxické, schválené FDA. Tyto plastifikátory jsou výhodné zejména díky tepelné a světelné stabilitě a výborné flexibilitě při nízkých teplotách. Využívají se k plastifikaci např. polyvinylchloridu, polypropylenu, chloraci kaučuku, ethylcelulosy a nitrátcelulosy.<sup>22</sup> Estery kyseliny citronové byly zkoumány jako

plastifikátory u kyseliny polymléčné (PLA). Všechny estery snižovaly teplotu skelného přechodu a zlepšovaly elasticitu.<sup>23</sup>

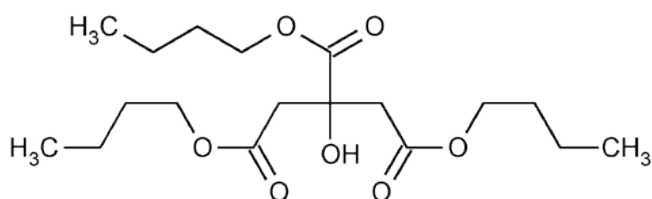
Triethyl-citrát je bezbarvá, olejovitá kapalina, málo rozpustná ve vodě, ale mísitelná s alkoholy a ethery. Bod varu je 294 °C, bod tání -55 °C. Používá se v kosmetice, farmacii, potravinách, je obsažen v cigaretových filtrech a lacích.<sup>24</sup> Ve farmacii má velké užití: plastifikuje polymerní filmy (Eudragit) s řízeným uvolňováním léčiva, plastifikuje ethylcelulosu, využívá se při výrobě pevných lékových forem, je obsažen v enterosolventních lékových formách.<sup>25</sup>

Obr 1: Triethyl-citrát<sup>26</sup>



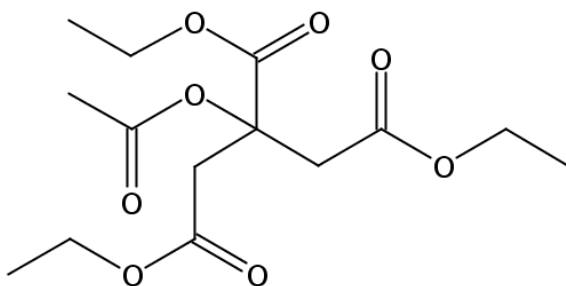
Tributyl-citrát je žlutá kapalina s teplotou varu 234 °C a bodem tání -80 °C. Je nerozpustný ve vodě. Tributyl-citrát se používá jako rozpouštědlo a plastifikátor zejména pro PVC a jeho kopolymery, které jsou následně použity jako balicí fólie pro potraviny. Využívá se ve farmacii, medicíně, kosmetice a potravinářském průmyslu. Je také obsažen v lepidlech.<sup>27</sup>

Obr. 2: Tributyl-citrát<sup>28</sup>



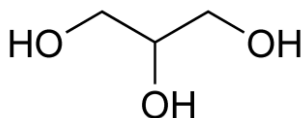
Acetyl-triethylcitrát je čirá viskózní kapalina, s teplotou varu 132 °C. Používá se v potravinářství jako aroma, ale i jako obalový materiál pro potraviny, ve farmacii se používá jako rozpouštědlo a plastifikátor celulosy. Využití nachází také v kosmetice, přidává se do vlasových sprejů.<sup>24</sup>

Obr. 3: Acetyl-triethylcitrát<sup>29</sup>



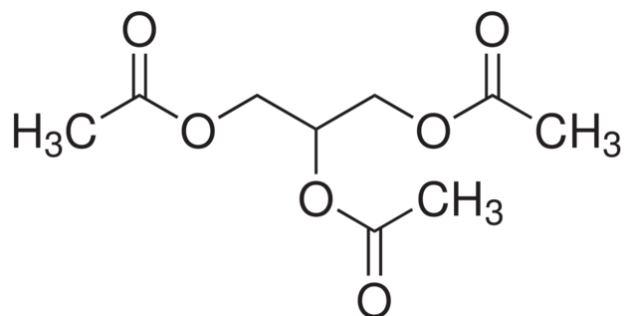
Glycerol je viskózní bezbarvá kapalina s mírně nasládlou chutí. Vyrábí se z propylenu a sacharosy nebo jako vedlejší produkt při výrobě mýdla. Teplota varu je 290 °C a bod tání 17 °C. Používá se při výrobě celofánu a alkydových pryskyřic, v kosmetice a potravinářském průmyslu.<sup>30</sup> Glycerol je velmi používaný plastifikátor pravděpodobně díky malé molekulové hmotnosti, která se inkorporuje do polymerní matrice velice snadno.<sup>31</sup>

Obr. 4: Glycerol<sup>32</sup>



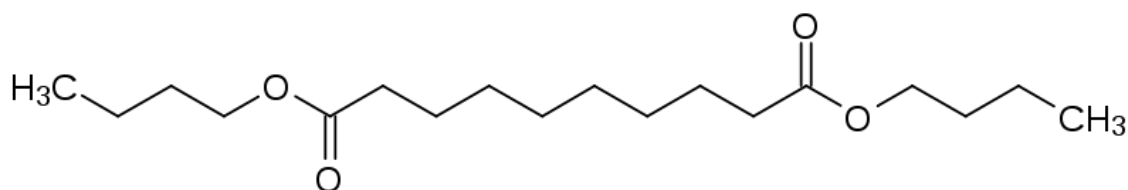
Estery glycerolu používané ve farmacii jsou triacetin a tributyrin. Triacetin je biologicky rozložitelná netoxická látka, schválená FDA jako bezpečná pro využití v potravinářském průmyslu. Triacetin je kapalina s mírně nahořklou chutí, s octovým zápachem, ve vodě je málo rozpustná. Teplota varu je 258 °C a bod tání -78 °C. Je hlavním plastifikátorem při výrobě žvýkaček.<sup>33</sup> Ve farmacii se používá jako rozpouštědlo a plastifikátor, plastifikuje ethylcelulosu a hydroxypropylmethylcelulosu. Používá se při řízeném uvolňování léčiv z tablet, je obsažen v obalující vrstvě vitaminových tablet a je součástí lékových forem obsahující hydrofilní léčiva.<sup>25</sup>

Obr. 5: Triacetin<sup>34</sup>



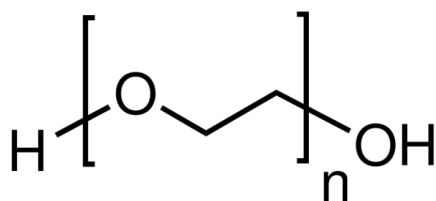
Dibutyl-sebakát je čirá až slabě žlutá kapalina, s teplotou varu 178-179 °C a bodem tání -10 °C. Je nerozpustný ve vodě, rozpustný v ethanolu a acetonu. Využívá se jako plastifikátor polymerů a syntetických kaučuků. Schválený je v potravinářství pro balení potravin. Ve farmacii se používá ve filmech na bázi ethylcelulosity pro řízené uvolňování léčiva.<sup>25</sup>

Obr. 6: Dibutyl-sebakát<sup>35</sup>



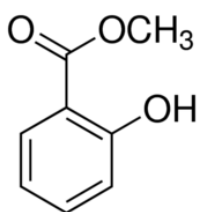
Polyethylenglykol (PEG) je polykondenzační produkt ethylenoxidu a vody. Fyzikálně chemické vlastnosti se liší podle délky řetězce. Je rozpustný ve vodě a v mnoha organických rozpouštědlech. Používá se jako emulgační činidlo, plastifikátor, zvlhčovač, nebo jako ve vodě rozpustný lubrikant v textilním průmyslu. Ve farmacii se používá jako pomocná látka při výrobě tablet, je obsažena v krycí vrstvě pro maskování zápachu a dodání lesku, užívá se pro řízené uvolňování léčiv, je součástí enterosolventních lékových forem a přidává se do mast'ových základů.<sup>25</sup>

Obr 7: Polyethylenglykol <sup>36</sup>



Methyl-salicylát (olej z libavky, z rodu *Gualtheria*) se v přírodě vyskytuje v mnoha rostlinných druzích, ve stromech (myrta, bříza), travách (pšenice, žito, cukrová třtina), luštěninách (hrách, fazole), ale i exotických rostlinách (lékořice, kávovník). Je to čirá, až nažloutlá olejovitá kapalina s teplotou varu 222 °C a teplotou tání -8,3 °C, málo rozpustná ve vodě, ale rozpustná v etheru a kyselině octové. Methyl-salicylát se přidává jako aroma do potravin a uplatnění našel i v kosmetice a parfumerii. Z farmakologického hlediska má methyl-salicylát protizánětlivé a analgetické účinky. Používá se především v topických lékových formách.<sup>37</sup> V studii byl methyl-salicylát začleněn jako plastifikátor do oligoesterových matric v koncentraci 20 % a byly zkoumány reologické, termické a adhezivní vlastnosti. Bylo prokázáno, že methyl-salicylát snižoval teplotu skelného přechodu o 25,5 °C. Adhezivita se zvyšovala se snižující viskozitou.<sup>38</sup>

Obr. 8: Methyl-salicylát <sup>39</sup>



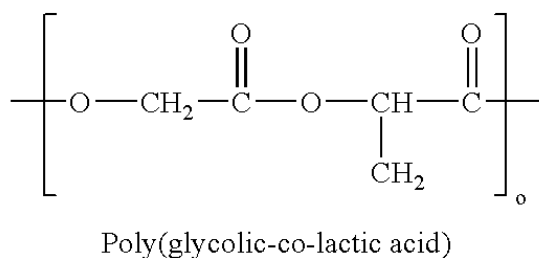
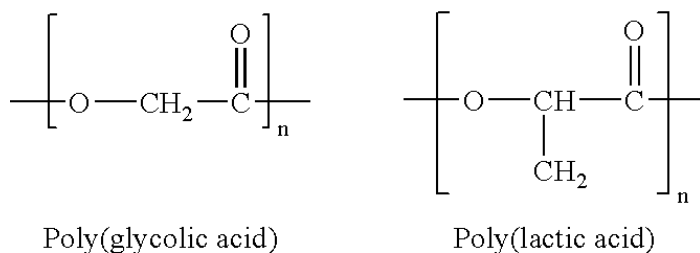
## 6.2 Polyestery odvozené od $\alpha$ -hydroxykyselin

Polyestery odvozené od  $\alpha$ -hydroxykyselin jsou jedny z nejvýznamnějších skupin polyesterů. Patří do ní kyselina polyglykolová (PGA), kyselina polymléčná (PLA) a jejich kopolymery PLGA (Obr. 9). Jedná se o termoplastické polymery, které se vyznačují hydrolyticky nestabilní alifatickou esterovou vazbou.<sup>40</sup> Výhodou těchto



polyesterů je jejich kompatibilita v lidském těle a jejich biodegradace. Používají se ve farmaceutickém průmyslu hlavně jako nosiči léčiv pro řízené uvolňování, dále se využívají v ortopedii a tkáňovém inženýrství. Nicméně předtím, než je vybrán biologicky odbouratelný polymer pro každou biomedicínskou aplikaci, vyžaduje pečlivé zkoumání interakcí a kompatibilitu v lidském těle.<sup>41</sup>

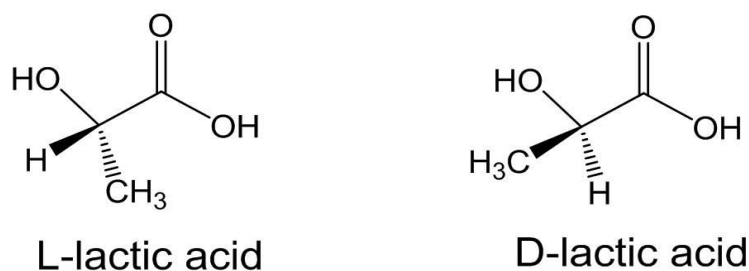
Obr. 9: Kyselina polyglykolová, kyselina polymléčná a jejich kopolymer<sup>42</sup>



### 6.2.1 *Kyselina polymléčná (PLA)*

Kyselina polymléčná je alifatický biodegradabilní polyester, je velmi zkoumán a komerčně využíván. Kyselina mléčná obsahuje chirální uhlík, a proto existuje ve dvou stereoizomerech: přirozeně se vyskytující L-kyselina mléčná a D-kyselina mléčná (Obr. 10). Při výrobě PLA můžeme jednoduše měnit poměry jednotlivých stereoizomerů a tím ovlivňovat finální vlastnosti polymeru. Polymerizací jednotlivých enantiomerů vznikají semikrystalické polymery (PLLA a PDLA), zatímco amorfní PDLLA se získává z racemické směsi monomerů a tento rozdíl v krystalinitě ovlivňuje zásadně vlastnosti PLA.<sup>43</sup> PLLA má krystalinitu okolo 37 %, teplotu skelného přechodu mezi 50-80 °C a teplotu tání mezi 173-178 °C. Teplota tání roste s přidáním PDLA a maximální stabilita je dosažena v poměru 50:50 směsi.<sup>44</sup>

Obr. 10: Stereoizomery kyseliny mléčné<sup>45</sup>



Syntéza PLA polymerů probíhá třemi způsoby: přímou polykondenzací kyseliny mléčné (nejlevnější metoda, avšak je těžké vyrobit vysokomolekulární PLA), ring-opening polymerizací - ROP (získáváme čistou vysokomolekulární PLA) a azeotropickou kondenzací (nevhodná díky hydrolýze a degradaci během výroby a toxicitě katalyzátoru).<sup>46</sup>

Hydrolýza je hlavní způsob degradace PLA *in vivo*. Stereoizomerní struktura ovlivňuje rychlost degradace, vysoce krystalická PLLA v lidském těle zůstává 5-7 let, zatímco amorfni PDLA ztrácí svojí hmotnost za 12 až 16 měsíců. Do té doby tyto polymery podléhají bulk degradaci (v celém svém objemu) a ztrácí mechanickou pevnost (PDLA 1-2 měsíce a PLLA 6 měsíců) bez pozorovatelné ztráty hmoty. Hydrolytickou reakcí vznikají monomery kyseliny mléčné, které vstupují do citrátového cyklu a jsou rozkládány na vodu a oxid uhličitý.<sup>43</sup>

Zatímco L-kyselina mléčná je metabolizována enzymaticky v lidském těle, D-kyselina mléčná enzymaticky odbouratelná není. Přijímané malé množství kyseliny D-mléčné je považováno za bezpečné, díky vysoké rozpustnosti a hydrolýze.<sup>47</sup>

### 6.2.2 **Kyselina polyglykolová (PGA)**

Polyglykolová kyselina je biodegradabilní, termoplastický polyester, s vysokým stupněm krystalinity a vysokým modulem pružnosti v tahu. Teplota skelného přechodu je okolo 35-40 °C a teplota tání je vysoká pro alifatický polyester (200-225 °C).<sup>43</sup> PGA je připravována polykondenzací kyseliny glykolové nebo polymerizací za otevření kruhu glykolidu (cyklický diester kyseliny glykolové). Syntéza PGA z glykolidů vede k vyšší molekulové hmotnosti. Kyselina glykolová je nejmenší  $\alpha$ -hydroxy kyselina a je nejčastěji získávána z cukrové třtiny a cukrové řepy. PGA je charakterizována vysokou hydrolytickou nestabilitou díky esterové vazbě. Ve fyziologických podmínkách je PGA vystavena náhodné hydrolýze a štěpena esterázami. Degradací produkt je samotná kyselina glykolová, která je netoxická a vstupuje do citrátového cyklu, kde je

vyučována jako voda a oxid uhličitý. Část kyseliny glykolové je vylučována ledvinami.<sup>44</sup> Po 1-2 měsících PGA ztrácí svoji pevnost a po 6-12 měsících je kompletně degradována. PGA se od roku 1961 využívala jako první syntetický biodegradabilní šicí materiál Dexon<sup>®</sup>. PGA je považována za kompletně kompatibilní polyester, avšak vysoká koncentrace uvolněné kyseliny glykolové, která se rychle hydrolyticky degraduje, může poškozovat tkáň.<sup>43</sup>

### 6.2.3 *Kopolymer kyseliny mléčné a glykolové (PLGA)*

PLGA je kopolymer kyseliny mléčné a glykolové. Díky chirálnímu uhlíku v PLA existuje kopolymer kyseliny mléčné ve dvou opticky aktivních formách D-PLA a L-PLA a v opticky neaktivní směsi D-PLA a L-PLA. Díky methylové skupině PLA je více hydrofobní než PGA. Fyzikální vlastnosti PLGA jsou dány molekulovou hmotností, krystalinitou, takticitou a poměrem PLA a PGA. Z poměru PLA a PGA a molekulové hmotností lze usuzovat a modulovat rychlost degradace, a tím i uvolňování léčiva řádově od dnů do měsíců. Kopolymer obsahující více PLA je méně hydrofilní, absorbuje méně vody a degraduje pomaleji než kopolymer s vyšším obsahem PGA.<sup>48</sup>

Kopolymery kyseliny mléčné a glykolové se využívají v celé řadě medicínských aplikací, příkladem je polymer PuraSorb<sup>®</sup> (80L:20G) a vstřebatelné šicí materiál Vicryls<sup>®</sup> (90G:10L).<sup>49</sup> Syntéza PLGA probíhá zpravidla dvěma způsoby. První je přímá polykondenzace kyseliny mléčné a glykolové, avšak tato metoda vede k nižší molekulové hmotnosti polymeru než syntéza druhá, kdy PLGA vzniká za otevření kruhu cyklických dimerů laktidu a glykolidu a následnou kondenzací.<sup>50</sup>

PLGA podléhá náhodné hydrolyze esterových vazeb. Mechanismus hydrolyzy zahrnuje povrchovou degradaci, proniknutí vody do polymeru a homogenní degradaci tzv. bulk degradaci (degradace v celém objemu). V prvním kroku nastává hydrolyza na povrchu, štěpí se esterové vazby polymeru, a tím se usnadní průnik vody do polymeru. V další fázi pronikne voda do PLGA, Van der Waalsovy síly a vodíkové můstky, které drží primární a sekundární tvar matrice, jsou oslabeny a tím ztrácí matrice mechanickou sílu. Hydrolyzou vnikají oligomery s koncovými karboxyly. Vznikající oligomery uvnitř matrice snižují vnitřní pH, a tím se katalyzuje objemová degradace. Tedy se zvyšující rychlostí hydrolyzy v celém objemu matrice, nazývanou též autokatalýza, se zrychluje degradace a polymer rychle snižuje molekulovou hmotnost. Rychlost autokatalýzy je přímo úměrná rychlosti penetrace vody do matrice, morfologii

a amorfního podílu v kopolymeru, teplotě, iontové síle a pH prostředí. Finálním produktem hydrolytického štěpení je kyselina mléčná a glykolová.<sup>51</sup>

#### 6.2.4 *Faktory ovlivňující degradaci*

Složení polymerní soustavy je nejdůležitějším faktorem pro stanovení hydrofility, a tím i její degradace. PLGA 50:50 (PLA:PGA) film degraduje rychleji než PLGA 75:25 film vzhledem k vyššímu obsahu hydrofilních glykolových jednotek. Rychlost degradace se zvyšuje s vyšším podílem kyseliny glykolové.<sup>52</sup> Složení kopolymeru ovlivňuje i další důležité vlastnosti jako je teplota skelného přechodu a krystalinita, které mají nepřímé účinky na rychlosti degradace.<sup>53</sup>

Molekulová hmotnost polymeru souvisí s velikostí polymerního řetězce. Polymery, které mají vyšší molekulovou hmotnost, mají delší polymerní řetězce, a proto degradují pomaleji, než je tomu u krátkých polymerních řetězců.<sup>54</sup> Rychlost degradace je rovněž ovlivněna inkorporovaným léčivem. Chemická struktura léčiva (OH skupiny, hydrofilita) určuje povahu interakcí s polymerem, což ovlivní degradaci medikovaného polymerního systému.<sup>55</sup> Významnou roli pro rychlost uvolňování léčiva a tím i jeho biodegradaci hraje poměr obsahu účinné látky k polymeru. Matrice, které mají vyšší obsah léčiva, mají rychlejší počáteční uvolňování než ty, které mají nižší obsah. Nicméně když léčivá látka dosáhne určité úrovně (záleží na typu léčivé látky), tak je tento vliv potlačen.<sup>56, 57</sup>

Významný je vliv velikosti a tvar polymerního tělesa. Poměr povrch/objem se ukázal jako další významný faktor pro degradaci vysokomolekulárních polymerů. Vyšší poměr plochy vede k rychlejší degradaci matrice. Bylo také zjištěno, že degradace v celém svém objemu je rychlejší než degradace povrchová u PLGA.<sup>58</sup>

Méně významný je vliv enzymů. Bylo sice zjištěno, že PLGA degraduje především prostřednictvím hydrolytické degradace, ale také enzymatická degradace může hrát roli v tomto procesu. Výsledky jsou v rozporu s publikovaným působením enzymů na degradační mechanismy (hydrolytické štěpení, naproti enzymatickému štěpení), protože degradace *in vivo* nelze zcela korelovat s *in vitro* hodnocením.<sup>59</sup> Na biodegradaci polymeru má vliv i pH. *In vitro* biodegradace ukazuje, že v silně kyselém prostředí je urychlena degradace polymeru.<sup>60</sup>

### 6.3 Větvící monomery

Větvení struktury polymerů je účinná metoda pro modifikování fyzikálních vlastností polymerů jako je změna krystalinity, hydrodynamického průměru a větvení řetězců. Větvené polymery mají nižší viskozitu v tavenině, lépe se zpracovávají a vykazují rychlejší degradaci a ztrátu hmotnosti ve srovnání s lineárním polymerem.<sup>61</sup> U větvených sloučenin je eroze plynulejší, než u lineárních sloučenin a to je výhodné v případě medikovaných systémů. Při stejné molární hmotnosti mají větvené polyestery nižší hodnoty stupně bobtnání než polyestery lineární. Mají vyšší hydrofilitu a adhezivitu.

Jako větvící monomery pro PLA, PGA a jejich kopolymery se využívají vícesytné alkoholy a cukry jako je mannitol, pentaerythritol, glukosa nebo polyvinylalkohol.<sup>19</sup> Na katedře farmaceutické technologie, Farmaceutické fakulty v Hradci Králové, byly syntetizovány polyestery kyseliny mléčné a glykolové, větvící složkou byly použity mannitol, pentaerythritol, dipentaerythritol, tripentaerythritol a kyselina polyakrylová (Obr. 12-16). Jejich analýza proběhla v Synpo a.s., Pardubice (Tab. 1). Polyestery mají různý stupeň větvení a různou molární hmotnost. Pro charakteristiku větveného polyesteru se stanovuje číselně střední molární hmotnost  $M_n$ , hmotnostně střední molární hmotnost  $M_w$ , stupeň větvení a teplota skelného přechodu. Molární hmotnost se stanovuje pomocí gelové permeační chromatografie s víceúhlovým rozptylovým fotometrem (SEC-MALS), větvící poměr je stanovený z vnitřní viskozity lineárního a větveného polymeru při shodné molární hmotnosti, teplota skelného přechodu se stanovuje metodou DSC.<sup>62</sup>

Tab. 1: Charakteristika větvených polyesterů <sup>62</sup>

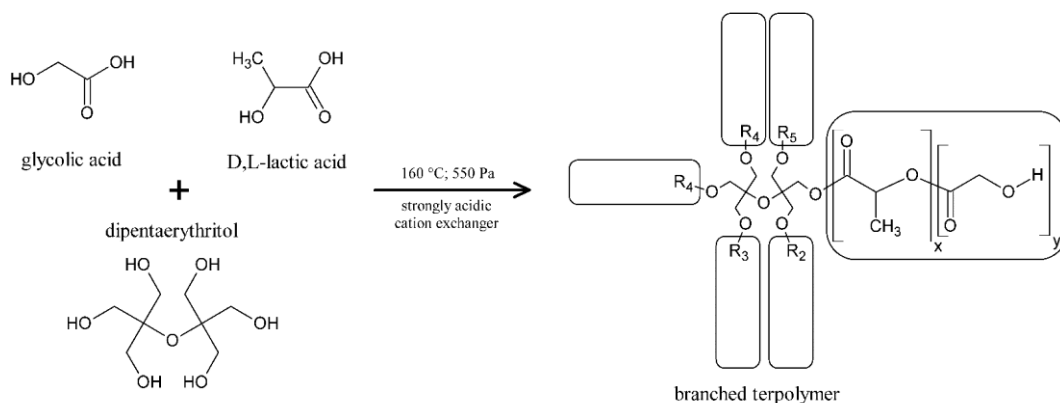
Označení nosiče	Poměr LA/GA/větvící monomer [%]	M <sub>n</sub> [g/mol]	M <sub>w</sub> [g/mol]	g'
PLGA	50/50/0	4600	7100	1,0
3M	48,5/48,5/3,0	3100	3800	0,63
5M	47,5/47,5/5,0	1800	2200	0,72
8M	46,0/46,6/8,0	1500	1600	0,70
0,5D	49,75/49,75/0,5	1900	4000	0,78
1D	49,5/49,5/1,0	2200	5700	0,63
2D	49,0/49,0/2	1700	6600	0,65
3D	48,5/48,5/3,0	3 700	5 300	0,60
5D	48,5/48,5/3,0	2300	2 300	0,49
8D	47,5/47,5/5,0	1 600	1 700	0,45
1P	49,5/49,5/1,0	3700	8 400	0,72
3P	48,5/48,5/3,0	5200	12 700	0,50
5P	47,5/47,5/5,0	2 000	2 700	0,67
1T	49,5/49,5/1,0	3 600	15 200	0,56
3T	48,5/48,5/3,0	5300	20 600	0,43
5T	47,5/47,5/5,0	5 400	11 900	0,42
2A	49,0/49,0/2,0	8600	20 600	0,54
4A	49,0/49,0/4,0	10900	20 600	0,42

GA - kyselina glykolová, LA - kyselina DL-mléčná, M - mannitol, D - dipentaerythritol, P - pentaerythritol, T - tripentaerythritol, A - kyselina polyakrylová, M<sub>n</sub> - číselně střední molární hmotnost, M<sub>w</sub> - hmotnostně střední molární hmotnost, g' - větvící poměr stanovený z vnitřní viskozity (lin) a větveného (br) polymeru při shodné molární hmotnosti (lineární PLGA má g'=1,0)

K syntéze větvených polyesterů se používá stupňová kopolymerace, kde reakční směs je tvořena ekvimolárním množstvím kyseliny glykolové a kyseliny DL-mléčné, s větvící složkou v koncentraci 0,5 % až 8 %. Syntéza probíhá při vyšší teplotě, nižším tlaku a bez přítomnosti katalyzátoru. Při těchto podmínkách se získávají produkty bez monomerů a nízkomolekulárních oligomerů. Výsledkem syntézy jsou star-like

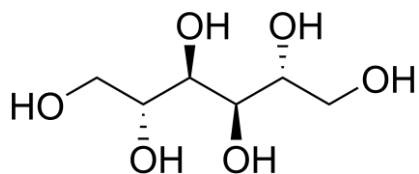
terpolymery (Obr. 11).<sup>38</sup> Pokud je větvičí složkou vícesytný alkohol, vznikají větvené polymery s koncovými hydroxyly, pokud je větvičí složkou kyselina, vznikají polymery s koncovými karboxyly. Koncové skupiny jsou důležité pro vazbu s léčivem.<sup>63</sup>

Obr. 11: Syntéza větveného polyesteru<sup>38</sup>

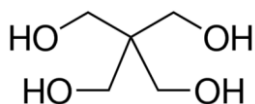


Při stejné reaktivitě všech hydroxylů větvičího monomeru se předpokládá přímá závislost mezi koncentrací větvičí složky a stupněm větvení nosičů. Analýza polymerních nosičů léčivých látek gelovou permeační chromatografií (SEC) s on-line rozptylovým detektorem a viskozimetrem ukázala, že při použití 3 %, 5 % nebo 8 % mannitolu nebo dipentaerythritolu molární hmotnost nosičů s rostoucí koncentrací větvičí složky u mannitolu klesá a u dipentaerythritolu naopak stoupá. To je dáno vzrůstajícím přebytkem hydroxylů. Vysvětlením může být vyšší reaktivita primárních hydroxylů mannitolu vedoucí ke dvěma delším řetězcům. V molekule dipentaerythritolu vzniká s vyšší pravděpodobností pravidelnější šestiramenná hvězdicová molekula s polyolem jako větvičím bodem.<sup>19</sup>

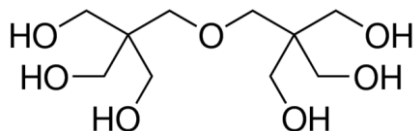
Obr. 12: Mannitol<sup>64</sup>



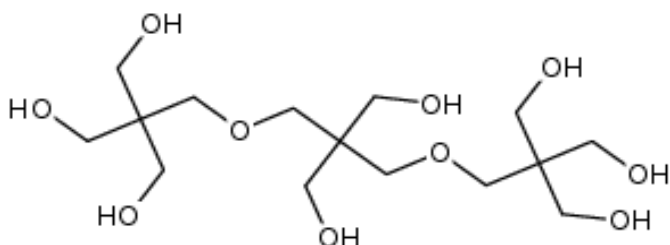
Obr. 13: Pentaerythritol <sup>65</sup>



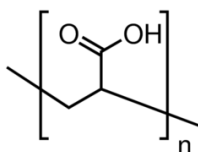
Obr. 14: Dipentaerythritol <sup>66</sup>



Obr. 15: Tripentaerythritol <sup>67</sup>



Obr. 16: Kyselina polyakrylová <sup>68</sup>

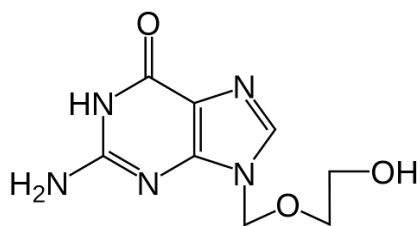


## 6.4 Aciklovir

Aciklovir se využívá jako virostatikum. Je to derivát guaninu, který má v molekule místo (deoxy)ribózy neobvyklý alifatický zbytek, proto nese také označení „acykloguanosin“. Aciklovir vykazuje vysokou selektivitu a má málo nežádoucích účinků. Připojením prvního fosfátového zbytku k acikloviru se může uskutečnit jedině za spoluúčasti tymidinkinázy kódované herpetickým virem. Z toho vyplývá selektivita pro virem napadené buňky. V nich pak vzniká aciklovir-monofosfát, který je buněčnými kinázami přeměňován na trifosfát. Zavedení zbytků kyseliny fosforečné, které jsou v buněčném pH negativně nabité, ruší propustnost membrány, takže se aciklovir kumuluje v buňkách napadených herpetickými viry. Tam přednostně inhibuje virem kódovanou DNA-polymerázu, což jeho selektivitu ještě dále zvyšuje. Proto infikovaný organismus snáší aciklovir tak dobře.<sup>20</sup>



Obr. 17: Aciklovir<sup>69</sup>



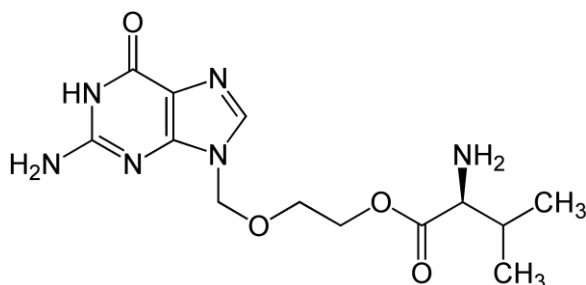
Aciklovir je účinný proti herpetickým virům HSV-1 (virus herpes simplex 1, např. herpes labialis), HSV-2 (virus herpes simplex - 2, např. genitální herpes) a zčásti také VZV (varicella-zoster, např. varicela a herpes zoster), CMV (cytomageovirus, např. pneumonie, retinitida, encefalitida) a EBV (virus Epstein-Baarové, např. infekční mononukleóza).

Aciklovir se podává topicky, perorálně nebo v intravenózních injekcích. Je variabilně a nekompletně absorbován z gastrointestinálního traktu a vylučuje se převážně nezměněn močí. Jeho plazmatický poločas je 3-4 hodiny u pacientů s normální funkcí ledvin. Přípravky pro topické nebo perorální podání jsou prakticky bez nežádoucích účinků.<sup>70</sup> V České republice jsou registrované přípravky s účinnou látkou aciklovir: v topické formě (Hesperin, Zovirax, Zovirax Duo, Aciclovir AL, Acyclostad Galmed), perorálních tabletách (Herpesin 200, Herpesin 400, Zovirax 200, Zovirax 400, Zovirax 800, Provirsan) nebo intravenózních infuzích (Herpesin 250).<sup>71</sup>

### Valaciklovir

Valaciklovir je prekurzorem acikloviru. Má na hydroxyskupině acikloviru navázanou aminokyselinu (kyselinu valerovou). Využívá střevního transportéru dipeptidů a tím se jeho enterální resorpce oproti acikloviru zdvojnásobí. V organismu se valerát esterázami odštěpí a vzniká aciklovir.<sup>72</sup> V současné době je u nás valaciklovir registrovaný k léčení infekcí vyvolaných herpes zoster a herpes genitalis. Výhodou valacikloviru je, že se užívá jednou denně a to zlepšuje compliance přípravku.<sup>20</sup>

Obr. 18: Valaciklovir<sup>73</sup>



## **7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

### **7.1 Použité přístroje**

Analytické digitální váhy CAHN 26, Cahn Instruments

Analytické digitální váhy KERN ABS 220-4, max. 220 g, d = 0,1 mg

Centrifuga, EBA 20 Hettich

Digitální stolní pH metr, Hanna HI 221

Digitální váhy KERN 572, max. 421 g, d=0,001 g

DSC 200 F3, Maia, Netzsch

Horkovzdušná sušárna, Memmert

Rotační reometr Kinexus, Malvern Instruments

Spektrofotometr Specord 205 UV VIS, Analytik Jena

Vodní lázeň s integrovanou třepací platformou GFL 1083, Analytik Jena

### **7.2 Použité suroviny**

5T polyester větvený 5% tripentaerythritolu v reakční směsi (Faf UK HK)

Aceton (Zentiva)

Aciklovir (Zentiva)

Čištěná voda (Faf UK HK)

Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát (Lach - ner)

Kyselina citronová monohydrát (Lach - ner)

Methyl-salicylát (Fluka)

Mucin z prasečího žaludku typ III. (Sigma - Aldrich)

### 7.3 Příprava tuhých disperzí

Polyester 5T (Tab. 2) byl plastifikován methyl-salicylátem o různých koncentracích (Tab. 3). Požadované množství 5T bylo roztaveno v horkovzdušné sušárně při 80 °C. K roztavenému polyesteru byl za stálého míchání po částech přidáván methyl-salicylát zahřátý na 40 °C. Do plastifikovaného polyesteru byl inkorporován aciklovir v koncentraci 5 % a opět důkladně zhomogenizováno.

Tab. 2: Charakteristika polyesteru 5T

Označení	Poměr LA/GA/T [%]	$M_n$ [g/mol]	$M_w$ [g/mol]	$g'$	$T_g$ [°C]
5T	47,5/47,5/5,0	5800	11900	0,34	26,7

$M_n$  [g/mol] je číselně střední molární hmotnost

$M_w$  [g/mol] je hmotnostně střední molární hmotnost

$g' = (\eta_{br}/\eta_{lin})$  je větvící poměr stanovený z vnitřní viskozity lineárního (lin) a větveného (br) polymeru při shodné molární hmotnosti (lineární PLGA má  $g'=1,0$ )

Tab. 3: Složení tuhých disperzí

Množství polyesteru (g)	Koncentrace methyl-salicylátu (%)	Množství methyl-salicylátu (g)
8,0	20 %	2,0
7,0	30 %	3,0
6,0	40 %	4,0

### 7.4 Příprava fosfátcitrátového pufru pH 7,4

Fosfátcitrátový pufr byl připraven smísením 0,1M roztoku kyseliny citronové monohydrátu (roztok A) a 0,2M roztoku B hydrogenfosforečnanu disodného dodekahydrátu (roztok B). Roztok A byl připraven z 4,12 g kyseliny citronové a doplněn čištěnou vodou na objem 196 ml. Roztok B se skládal z 129,16 g hydrogenfosforečnanu disodného dodekahydrátu a byl doplněn čištěnou vodou na objem 1804 ml. Po smísení roztoků A a B bylo zkontrolováno pH na digitálním pH metru. Celkový objem připravovaného pufru byl 2000 ml. Pufr byl skladován za snížené teploty.

## 7.5 Příprava substrátu pro disoluční test

Při disolučním testu byly tuhé disperze aplikovány na modelový substrát tvořený hydratovaným mucinem z prasečích žaludků. Do třenky bylo naváženo 3,0 g mucinu a za stálého míchání bylo přidáno 15,0 g fosfátcitrátového pufru pH 7,4.

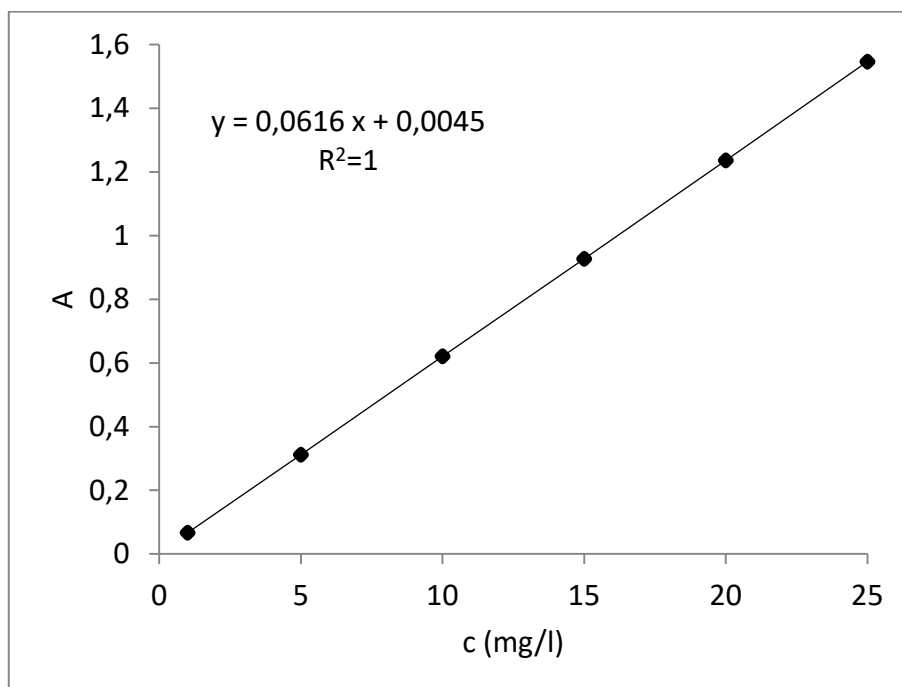
## 7.6 Kalibrační přímka acikloviru

Pro stanovení množství uvolněného acikloviru byla sestrojena kalibrační přímka acikloviru. Byly připraveny roztoky rozpuštěním acikloviru v čištěné vodě v koncentracích 1, 5, 10, 15, 25 mg/l a následně jejich měřena absorbance při vlnové délce 256 nm proti čištěné vodě (Tab. 4). Z hodnot absorbancí byla sestrojena kalibrační přímka a stanovena rovnice kalibrační přímky acikloviru (Obr. 19), která byla použita pro výpočet množství uvolněného acikloviru z tuhých disperzí.

Tab. 4: Naměřené hodnoty absorbance roztoků acikloviru

Koncentrace acikloviru [mg/l]	A
1	0,067
5	0,312
10	0,621
15	0,927
20	1,236
25	1,546

Obr. 19: Kalibrační přímka acikloviru



## 7.7 Disoluční test

Na podložku z plastu byl přilepen savý materiál a v tenké rovnoměrné vrstvě kopistkou nanášeno přibližně 0,5 g hydratovaného mucinu. Takto připravený podklad byl vytárován a bylo nanášeno 5,0 g plastifikovaného polyesteru s inkorporovaným aciklovirem. Z důvodu vysoké viskozity tuhé disperze byla před nanášením zahřívána přibližně 10 min v horkovzdušné sušárně nastavené na 80 °C, aby se lépe a rovnoměrněji nanášela na podklad. Podložka s mucinovým podkladem a testovanou tuhou disperzí byla opatrně vložena pomocí pinzety do připravené kádinky a zalita 20,0 ml fosfátcitrátovým pufrem. Kádinka byla vložena do vodní lázně s integrovanou třepací platformou o teplotě 37 °C, pohybující se frekvencí 50 kmitů/min s amplitudou 22 mm. Disoluční test byl proved vždy se třemi vzorky daného složení tuhé disperze. V časových intervalech 15 min; 30 min; 1 h; 1,5 h; 4 h; 18 h; 1 den; 2 dny; 4 dny; 7 dnů; 11 dnů byla odebrána disoluční kapalina a tuhé disperze opět zality 20,0 ml fosfátcitrátového pufru. Vzorky disoluční tekutiny byly centrifugovány při 600 ot/min po dobu 15 min. V odebrané disoluční tekutině bylo stanoveno množství uvolněného acikloviru metodou HPLC ve spolupráci s Katedrou farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy.

## 7.8 Měření reologických charakteristik

Reologické vlastnosti plastifikovaného polyesteru byly měřeny na rotačním reometru Kinexus ovládaným softwarem *rSpace for Kinexus 1.72*. Nejdříve byl zkontrolován přívod stlačeného vzduchu, na levém tlakoměru musí být hodnota 4 bary, na pravém 3 bary. Byl zapnut přístroj a nechal se stabilizovat. Byl spuštěn počítač a software *rSpace for Kinexus 1.72*, a bylo zkontrolováno, zda komunikuje reometr se softwarem. Poté byl odstraněn kryt vzduchového ložiska a kryt dolní geometrie. Byla zvolena horní geometrie CP 2/20 (tj. kužel s úhlem  $2^\circ$  o průměru 20 mm). Dolní geometrie byla deska o průměru 60 mm.

Pro nanesení vzorku byla vybrána ikona *Load sample* a vzorek byl pojmenován. Podle pokynů softwaru se nanasí vzorek na střed dolní geometrie plastovou kopistkou. Když horní geometrie stlačila vzorek, bylo nutné přebytečné množství vzorku plastovou kopistkou setřít. Správně nanesený vzorek byl zakryt kryty a nechal se 15 min stabilizovat.

Pro reologickou charakterizaci testovaných soustav byla nejprve zvolena sekvence *Table of Shear rates with Newtonian model fit*. Byl nastaven rozsah rychlostního spádu  $0,01 \text{ s}^{-1}$  až  $10 \text{ s}^{-1}$  a teplota ( $25^\circ\text{C}$ ,  $37^\circ\text{C}$  a  $50^\circ\text{C}$ ). Každý vzorek byl proměřen pět krát. Při samotném měření byly zaznamenávány hodnoty viskozity a posuvného napětí v závislosti na postupně se zvyšujícím rychlostním spádu.

Po ukončení měření byla sekvence ukončena kliknutím na ikonu *Close* a poté na kliknutí na ikony *Unload sample* byl odstraněn vzorek. Použitá geometrie byla očištěna a naměřené hodnoty uloženy a vyhodnoceny.

## 7.9 Termická analýza tuhých disperzí

Analytické váhy byly nejdříve zapnuty a zkalibrovány. Veškerá manipulace se vzorky byla prováděna výhradně pinzetou, aby se zabránilo znečištění vzorků. U prázdného kelímku s víčkem byla nejdříve zjištěna hmotnost a hodnota zaznamenána. Poté byl opatrně nanasí vzorek do kelímku, přikryt víčkem a zalisován. Hmotnost vzorku byla zaznamenána a pohybovala se do 10 mg. Rozdílem hmotnosti kelímku s léčivem a prázdného kelímku byla zjištěna přesná hmotnost vzorku.

Přístroj musel být asi hodinu před měřením zapnut. Poté byla odstraněna tři ochranná víka, pod kterými se nachází dvě místa pro vzorky. Levé je určeno pro referenční prázdný kelímek, u kterého je známá přesná hmotnost, pravé místo je

určeno pro měřený vzorek. Po umístění kelímků byla vrácena všechna víka a spuštěn program *Netzsch Proteus Software* v počítači. V programu byla nastavena hmotnost prázdného kelímku a hmotnost vzorku (v mg). Byl zvolen teplotní režim dle předpokládaného skelného přechodu (Obr. 20). Vzorky byly chlazeny na  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  rychlostí  $5\text{ K/min}$ , po 5 min izotermně byly zahřívány na  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$  rychlostí  $10\text{ K/min}$ . Po 2 min izotermně byly vzorky chlazeny na  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  rychlostí  $10\text{ K/min}$  a po 5 min izotermně opět zahřívány na  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$  rychlostí  $10\text{ K/min}$  a následně chlazeny na  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  rychlostí  $10\text{ K/min}$ .

Záznamy DSC byly vyhodnoceny pomocí programu *Proteus*. Byla vybrána křivka druhého ohřevu a následně byl stanoven pravý a levý limit v termogramu. Limity jsou nastavené tak, aby obsahovaly největší lineární rozpětí základní linie před a za skelným bodem. Byly odečteny teploty skelného přechodu v inflexním bodě na křivce druhého ohřevu. Byly provedeny tři měření, vypočten průměr a směrodatná odchylka.

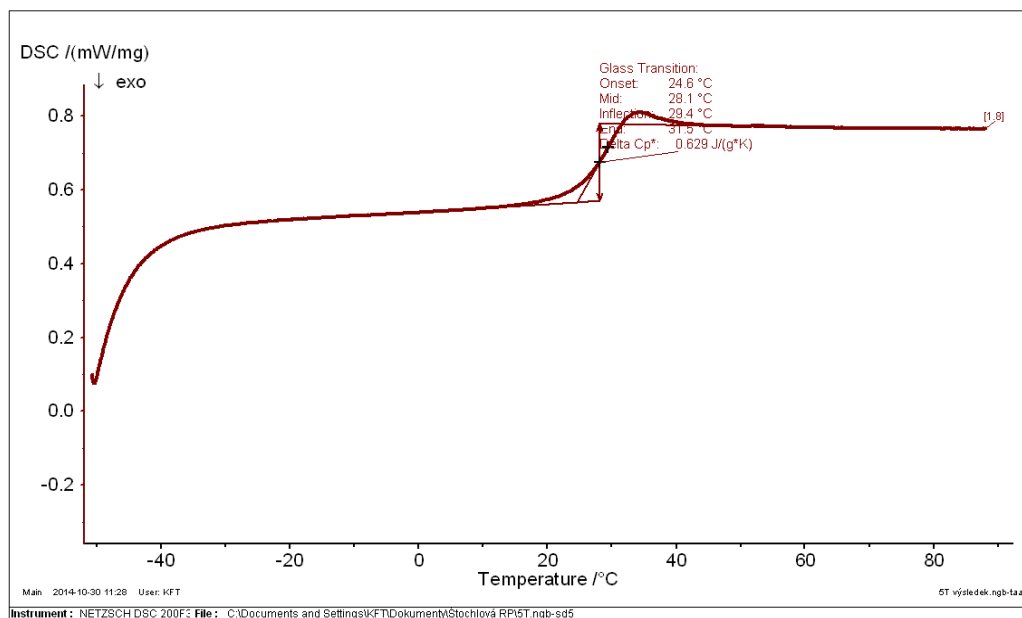
Obr. 20: Teplotní režim

Num	Mode	$^{\circ}\text{C}$	K/min	pts/min	hh:mm	STC	Co
---	Initial	15.0				1	1
1	Isothermal	15.0		50.00	00:05	1	1
2	Dynamic	-20.0	5.000	150.00	00:07	1	1
3	Isothermal	-20.0		50.00	00:05	1	1
4	Dynamic	90.0	10.000	300.00	00:11	1	1
5	Isothermal	90.0		150.00	00:02	1	1
6	Dynamic	-50.0	10.000	300.00	00:14	1	1
7	Isothermal	-50.0		50.00	00:05	1	1
8	Dynamic	90.0	10.000	600.00	00:07	1	1
9	Dynamic	25.0	10.000	600.00	00:07	1	1
10	Emergency	100.0					0
---	StdBy Heat.	25.0	40.000		00:00	1	1
---	StdBy Iso	25.0			00:20	1	0

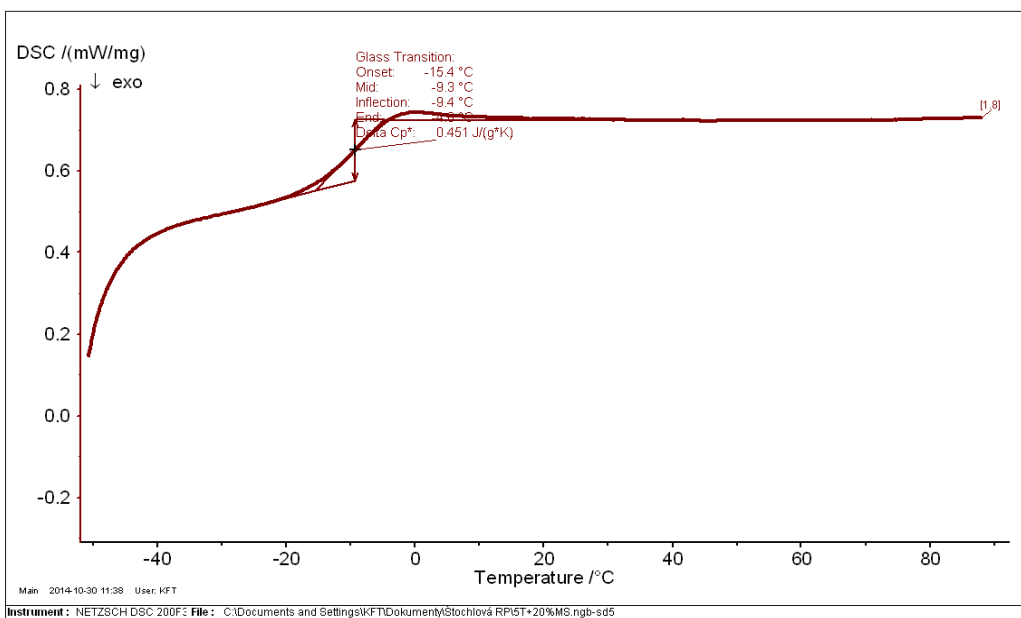
## 8 VÝSLEDKY

### 8.1 Termická analýza

Obr. 21: Skelný přechod polyesteru 5T

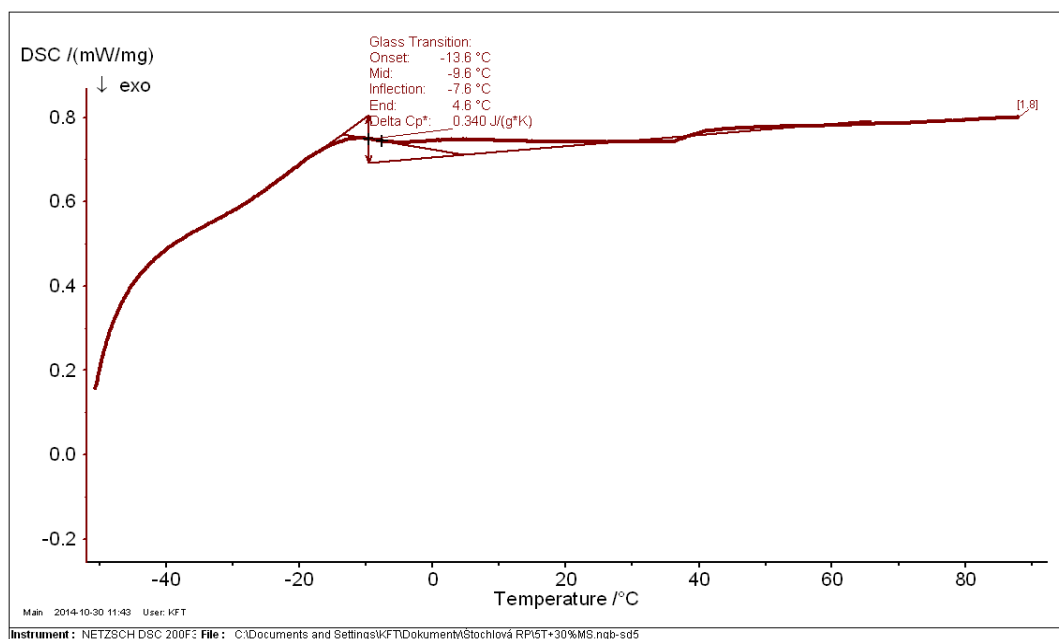


Obr. 22: Skelný přechod polyesteru 5T plastifikovaného 20 % methyl-salicylátu

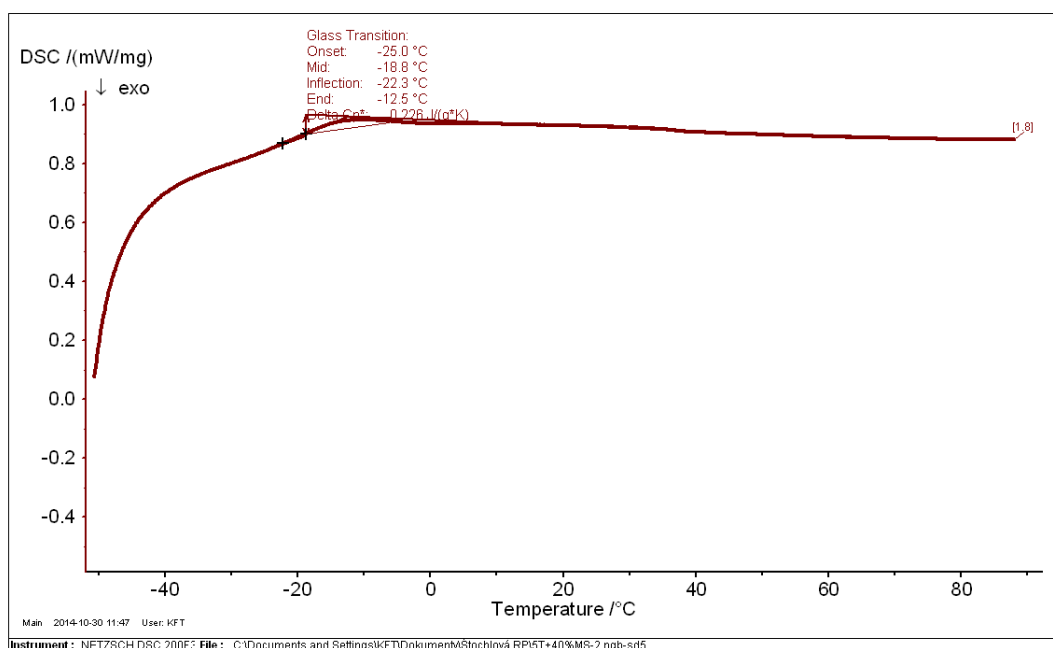




Obr. 23: Skelný přechod polyesteru 5T plastifikovaného 30 % methyl-salicylátu



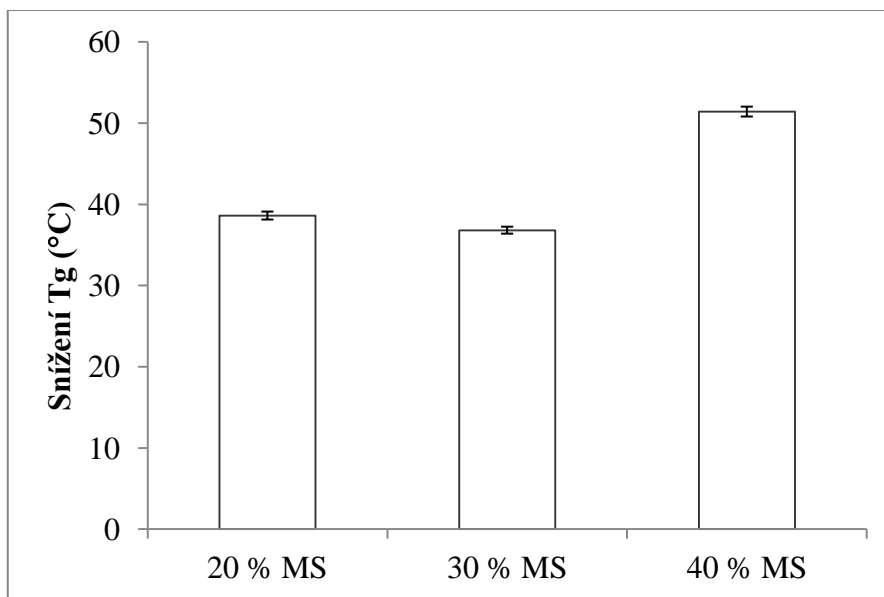
Obr. 24: Skelný přechod polyesteru 5T plastifikovaného 40 % methyl-salicylátu



Tab. 5: Naměřené hodnoty skelného přechodu

Koncentrace MS	0 %	20 %	30 %	40 %
$T_g$	29,4	-9,4	-7,6	-22,3
	29,1	-8,9	-7,2	-21,8
	29,6	-9,3	-7,5	-22,5
Průměr	29,4	-9,2	-7,4	-22,2
SD	0,3	0,3	0,3	0,4

Obr. 25: Vliv koncentrace MS na snížení teploty skelného přechodu



## 8.2 Reologické vlastnosti tuhých disperzí

Tab. 6: Reologické charakteristiky polymeru 5T plastifikovaného 20 % MS

25 °C			37 °C			50 °C		
$\tau$ (Pa)	$D$ (s <sup>-1</sup> )	$\eta$ (Pa s)	$\tau$ (Pa)	$D$ (s <sup>-1</sup> )	$\eta$ (Pa s)	$\tau$ (Pa)	$D$ (s <sup>-1</sup> )	$\eta$ (Pa s)
319,7	0,03	12740	25,79	0,03	1017,00	3,14	0,03	124,20
505,5	0,04	12680	40,10	0,04	1015,00	4,91	0,04	123,60
794,3	0,06	12570	63,80	0,06	1000,00	7,71	0,06	121,90
1247	0,1	12490	100,00	0,10	1005,00	12,19	0,10	121,80
1957	0,16	12330	157,10	0,16	991,50	19,17	0,16	120,70
3080	0,25	12280	248,30	0,25	988,30	30,24	0,25	120,40
4856	0,4	12180	390,50	0,40	980,80	47,55	0,40	119,40
7670	0,63	12170	613,00	0,63	971,50	74,87	0,63	118,70
12150	1	12130	966,10	1,00	966,00	118,10	1,00	118,10
19150	1,58	12100	1518,00	1,59	957,50	186,30	1,59	117,50
30400	2,52	12090	2388,00	2,51	950,70	293,40	2,51	116,80
47990	3,99	12040	3769,00	3,98	946,60	463,10	3,98	116,30
75240	6,32	11910	5955,00	6,31	943,70	730,60	6,31	115,80
95490	8,06	11840	9424,00	10,00	942,40	1154,0	10,00	115,40

Tab. 7: Reologické charakteristiky polymeru 5T plastifikovaného 30 % MS

25 °C			37 °C			50 °C		
$\tau$ (Pa)	D (s <sup>-1</sup> )	$\eta$ (Pa s)	$\tau$ (Pa)	D (s <sup>-1</sup> )	$\eta$ (Pa s)	$\tau$ (Pa)	D (s <sup>-1</sup> )	$\eta$ (Pa s)
8,03*	0,03*	320,30*	1,35	0,03	53,73	0,46	0,03	18,15
12,65*	0,04*	317,40*	2,09	0,04	52,49	0,61*	0,04*	15,42*
19,94*	0,06*	317,10*	3,25	0,06	51,44	0,89	0,06	14,04
31,37*	0,10*	313,50*	5,00	0,10	50,03	1,29	0,10	12,91
49,48	0,16	311,90	7,90	0,16	49,80	1,95	0,16	12,32
78,29	0,25	311,70	12,40	0,25	49,36	2,97	0,25	11,84
123,40	0,40	310,10	19,50	0,40	48,98	4,54	0,40	11,41
194,50	0,63	308,20	30,75	0,63	48,73	7,50*	0,63*	11,89*
306,00	1,00	306,00	48,55	1,00	48,55	11,50	1,00	11,50
481,30	1,59	303,70	76,74	1,59	48,42	16,94	1,59	10,69
757,40	2,51	301,50	120,80	2,51	48,09	26,78	2,51	10,66
1197,00	3,98	300,60	190,60	3,98	47,88	42,32*	3,98*	10,63*
1893,00	6,31	300,00	301,40	6,31	47,77	65,73	6,31	10,42
2995,00	10,00	299,50	478,20	10,00	47,82	66,18*	6,99*	10,71*

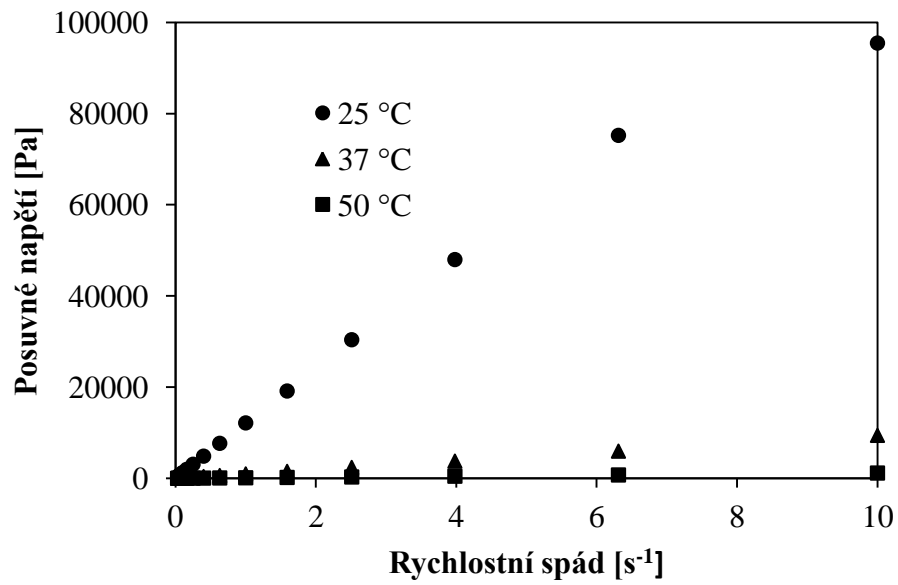
\*hodnoty získané v neustáleném stavu, nezahrnuté v grafu

Tab. 8: Reologické charakteristiky polymeru 5T plastifikovaného 40 % MS

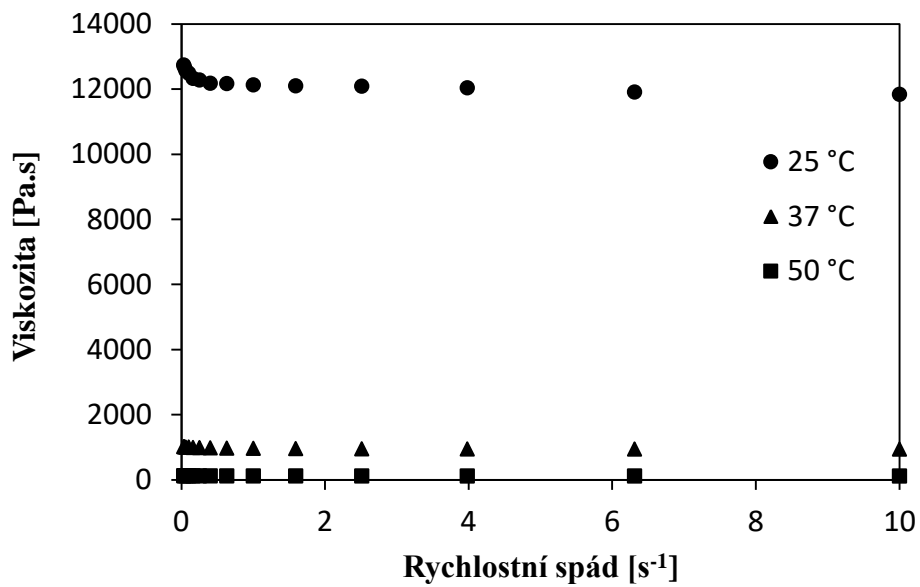
25 °C			37 °C			50 °C		
$\tau$ (Pa)	$D$ (s <sup>-1</sup> )	$\eta$ (Pa s)	$\tau$ (Pa)	$D$ (s <sup>-1</sup> )	$\eta$ (Pa s)	$\tau$ (Pa)	$D$ (s <sup>-1</sup> )	$\eta$ (Pa s)
0,89	0,02	56,31	0,17*	0,02*	10,55*	0,07*	0,02*	4,48*
1,39	0,03	55,43	0,24*	0,03*	9,57*	0,09*	0,03*	3,61*
2,19	0,04	54,88	0,34	0,04	8,63	0,12*	0,04*	2,99*
3,45	0,06	54,66	0,51	0,06	8,01	0,15	0,06	2,32
5,44	0,10	54,40	0,76	0,10	7,60	0,21	0,10	2,07
8,59	0,16	54,21	1,16	0,16	7,32	0,30	0,16	1,90
13,49	0,25	53,73	1,78	0,25	7,09	0,45*	0,25*	1,79*
20,85	0,40	52,37	2,80	0,40	7,03	0,69*	0,40*	1,73*
31,80	0,63	50,40	4,28	0,63	6,78	1,06*	0,63*	1,68*
47,85	1,00	47,85	6,59	1,00	6,59	1,65*	1,00	1,65
72,49	1,59	45,74	10,29	1,59	6,49	2,56	1,59	1,61
110,60	2,51	44,04	16,09	2,51	6,40	4,04	2,51	1,61
170,30	3,98	42,77	25,28	3,98	6,35	6,36	3,98	1,60
260,90	6,31	41,35	39,77	6,31	6,30	10,06	6,31	1,60
408,50	10,00	40,85	62,58	10,00	6,26	15,88	10,00	1,59

\*hodnoty získané v neustáleném stavu, nezahrnuté v grafu

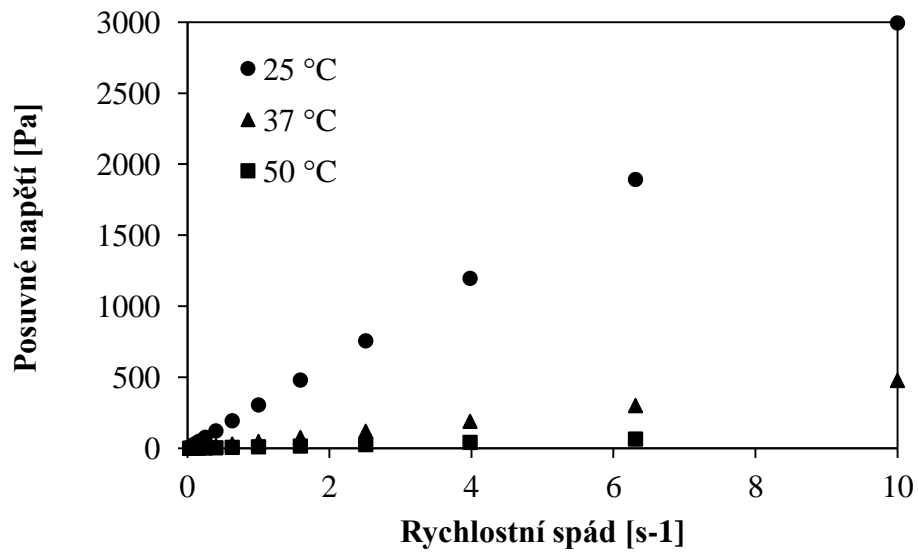
Obr. 26: Reogram polyesteru 5T plastifikovaného 20 % MS



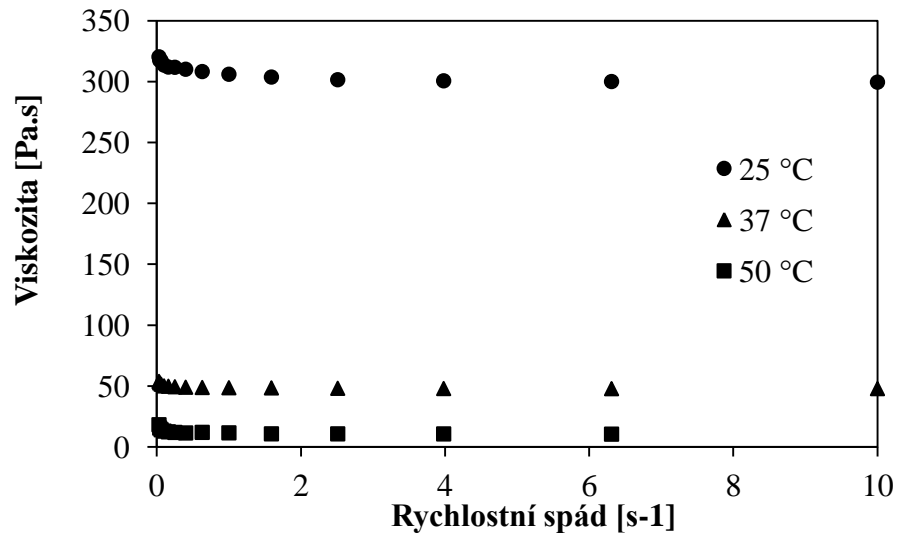
Obr. 27: Viskozitní křivky polyesteru 5T plastifikovaného 20 % MS



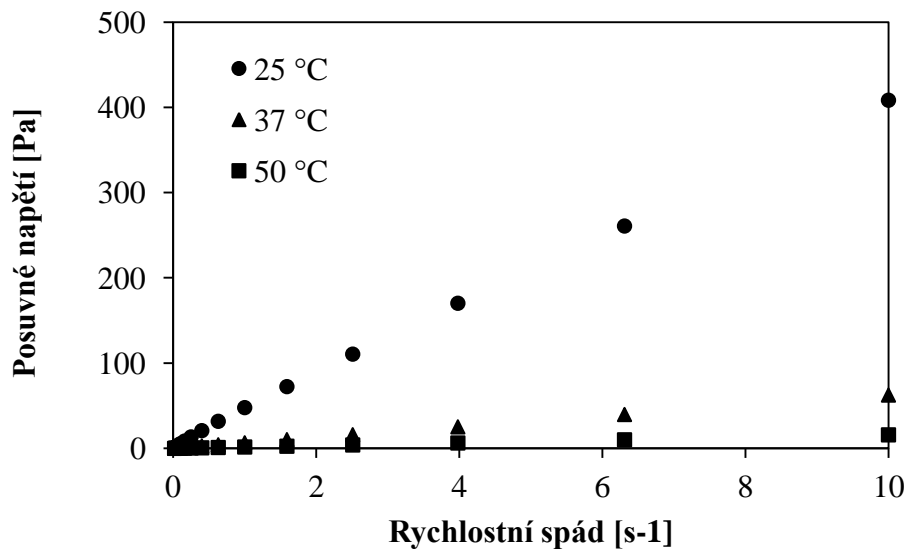
Obr. 28: Reogram polyesteru 5T plastifikovaného 30 % MS



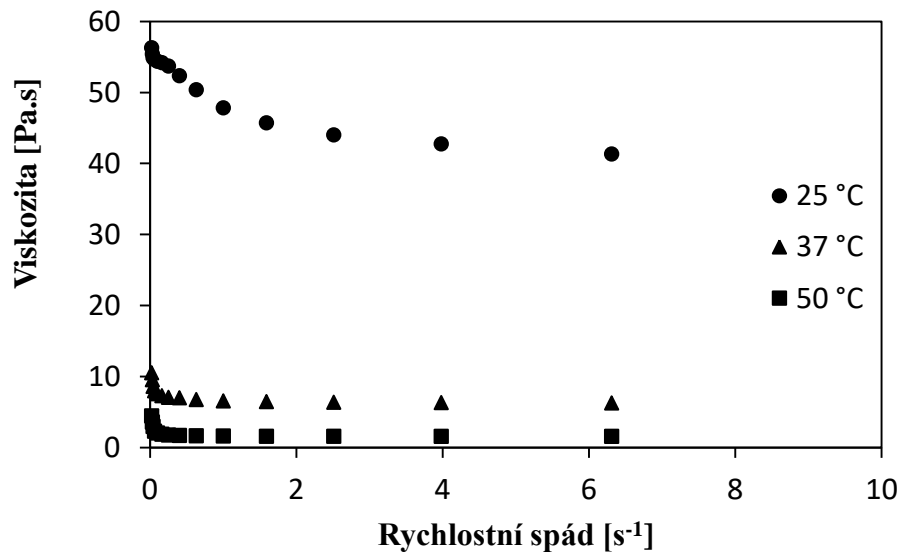
Obr. 29: Viskozitní křivka polyesteru 5T plastifikovaného 30 % MS



Obr. 30: Reogram polyestru 5T plastifikovaného 40 % MS



Obr. 31: Viskozitní křivka polyestru 5T plastifikovaného 40 % MS





Tab. 9 : Lineární regrese tokových křivek

MS [%]	Teplota [°C]	Rovnice	Koeficient korelace
20	25	$y = 10243x + 1690,4$	0,9828
	37	$y = 942,01x + 11,984$	1
	50	$y = 115,45x + 1,5103$	1
30	25	$y = 299,43x + 3,1972$	1
	37	$y = 47,774x + 0,4125$	1
	50	$y = 10,418x + 0,442$	0,9997
40	25	$y = 40,866x + 3,471$	0,9993
	37	$y = 6,2563x + 0,2145$	0,9999
	50	$y = 1,5839x + 0,0533$	1

Tab. 10: Vliv teploty a koncentrace methyl-salicylátu na viskozitu polyesteru 5T

	Viskozita polyesteru 5T [Pa·s]		
	20 % MS	30 % MS	40 % MS
25 °C	12 253,6	305,3	49,9
37 °C	976,9	49,5	7,0
50 °C	119,3	12,4	1,8

### 8.3 Liberace acikloviru z tuhých disperzí

Tab. 11: Množství uvolněného ACV z polyesteru plastifikovaného 20 % MS

Čas odběru (hod)	ACV (µg/ml)	ACV (mg/20ml)	Množství ACV (%)	Kumulativní množství ACV (%)
0,25	36	0,720	3,84	3,84
0,5	23	0,460	2,45	6,29
1	27	0,540	2,88	9,17
1,5	28	0,560	2,98	12,15
4	95	1,900	10,13	22,28
18	334	6,680	35,60	57,87
24	100	2,000	10,66	68,53
48	112	2,240	11,94	80,47
96	66	1,320	7,03	87,50
168	49	0,980	5,22	97,73

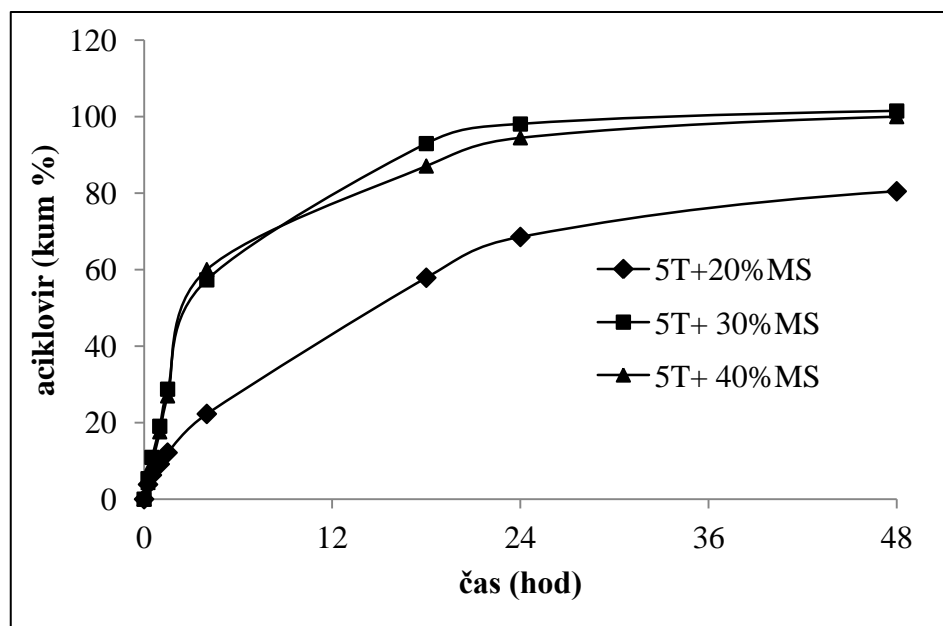
Tab. 12: Množství uvolněného ACV z polyesteru plastifikovaného 30 % MS

Čas odběru (hod)	ACV (µg/ml)	ACV (mg/20ml)	Množství ACV (%)	Kumulativní množství ACV (%)
0,25	69	1,380	5,34	5,34
0,5	72	1,440	5,58	10,92
1	105	2,100	8,13	19,05
1,5	125	2,500	9,68	28,73
4	369	7,380	28,58	57,31
18	460	9,200	35,62	92,93
24	66	1,320	5,11	98,04
48	44	0,880	3,41	101,45
96	27	0,540	2,09	103,54
168	16	0,320	1,24	104,78

Tab. 13: Množství uvolněného ACV z polyesteru plastifikovaného 40 % MS

Čas odběru (hod)	ACV (µg/ml)	ACV (mg/20ml)	Množství ACV (%)	Kumulativní množství ACV (%)
0,25	52	1,040	4,36	4,36
0,5	58	1,160	4,86	9,22
1	100	2,000	8,38	17,60
1,5	112	2,240	9,39	26,99
4	394	7,880	33,02	60,00
18	323	6,460	27,07	87,07
24	88	1,760	7,37	94,45
48	66	1,320	5,53	99,98
96	35	0,700	2,93	102,91
168	12	0,240	1,01	103,92

Obr. 32: Vliv koncentrace methyl-salicylátu na průběh disoluce ACV z polyesteru 5T



## 9 DISKUZE

V předložené rigorózní práci byly studovány termické, reologické a disoluční vlastnosti větveného polyesteru 5T, plastifikovaného methyl-salicylátem. Polyester 5T byl syntetizován na Katedře farmaceutické technologie v Hradci Králové polykondenzační reakcí kyseliny D,L-mléčné a kyseliny glykolové v poměru 1:1. Větvicí složkou byl použit tripentaerythritol v koncentraci 5 %. V době syntézy polyesteru 5T byla číselně střední molární hmotnost 5800 g/mol, hmotnostně střední molární hmotnost 11900 g/mol a větvicí poměr 0,34.<sup>74</sup> Jako plastifikátor byl zvolen methyl-salicylát, který byl přidáván k polyesteru 5T v koncentracích 20 %, 30 % a 40 %. Následně bylo inkorporováno léčivo aciklovir v koncentraci 5 %. Tuhé disperze byly připraveny metodou tavení při 80 °C.

### 9.1 Termické charakteristiky

Byla provedena termická analýza polyesteru 5T a polyesteru 5T plastifikovaného methyl-salicylátem v koncentracích 20 %, 30 % a 40 %. V teplotním rozsahu -20 °C až 90 °C. Rychlost prvního i druhého ohřevu byla 10 K/min. Teplota skelného přechodu byla odečtena v inflexním bodě z křivky druhého ohřevu. Byly měřeny vždy tři vzorky. Bylo vypočítáno snížení hodnoty  $T_g$  vlivem MS jako míra jeho plastifikační účinnosti.

V době syntézy polyesteru byla stanovena teplota skelného přechodu 26,7 °C (Tab. 2). Byla naměřena vyšší hodnota  $T_g$  29,4 °C, což lze vysvětlit změnou molární hmotnosti polyesteru v průběhu jeho uchovávání. Snížení molární hmotnosti polyesteru přibližně o 10 % se projevilo mírným zvýšením teploty skelného přechodu o 2,7 °C (Tab. 5).<sup>62</sup> Methyl-salicylát významně snižuje  $T_g$  (Obr. 25), je tedy účinným plastifikátorem polymeru 5T. Při použití 20 % a 30 % MS byla  $T_g$  snížena přibližně o 40 °C, při použití 40 % MS o 50 °C.

Plastifikovaný polymer s  $T_g$  nižší než laboratorní teplota se za normálních podmínek nachází ve stavu kaučukovitém, čímž se teoreticky zlepšuje jeho mechanické vlastnosti, zpracovatelnost, inkorporace léčiva aj. Nízká teplota skelného přechodu je výhodná při přípravě tuhých disperzí metodou tavení. Naopak nevýhodná je z důvodu možné krystalizace léčiva v průběhu přípravy nebo skladování tuhé disperze, a tím snížení jeho biodostupnosti.

## 9.2 Reologické charakteristiky

Pro charakterizaci tokových vlastností tuhých disperzí byl využit absolutní rotační reometr Kinexus. Byla zvolena měřící sekvence *Table of shear rates with Newtonian model fit*. V *CR modu* byl zvolen rozsah rychlostního spádu  $0,01 \text{ s}^{-1}$  až  $10 \text{ s}^{-1}$ . Viskozitu neplastifikovaného polyesteru za obvyčejné teploty je obtížné měřit z důvodu vysoce tuhé konzistence. Byly naměřeny hodnoty posuvného napětí a viskozity polyesteru 5T plastifikovaného methyl-salicylátem v koncentraci 20 %, 30 % a 40 %. Byla zvolena teplota  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  jako nejvyšší teplota akceptovatelná při aplikaci do živého organismu, fyziologická teplota  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  a teplota  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  používaná při testování reologických vlastností, zpracování a uchovávání za obvyčejné teploty. Byly zhotoveny reogramy a viskozitní křivky a data analyzována pomocí Newtonova modelu. Z této analýzy je patrné, že se jedná o newtonské soustavy vykazující lineární vztah mezi rychlostním spádem a posuvným napětím a konstantní hodnotu viskozity (Obr. 26 - 31). Viskozita se mění s koncentrací plastifikátoru a teplotou, nikoli s rychlostním spádem (Tab. 9).

Polyester 5T vykazuje za normálních podmínek vysoké hodnoty viskozity, což znesnadňuje zpracování, inkorporaci léčiva a aplikaci léčivého přípravku. Snížení viskozity je možno docílit zahřátím nebo plastifikací. Methyl-salicylát se osvědčil jako plastifikátor při snížení  $T_g$  (Tab. 5). Vliv teploty a koncentrace methyl-salicylátu na tokové vlastnosti polyesteru 5T je shrnut v tabulce 10. Z uvedených hodnot viskozity lze pozorovat, že viskozita tuhých disperzí klesá výrazně jak s rostoucí teplotou, tak s rostoucí koncentrací plastifikátoru. Nejvyšší hodnota viskozity, jak se předpokládalo, byla zaznamenána u polyesteru 5T plastifikovaného 20 % MS při teplotě  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , a to  $12\,254 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ . Zvýšením teploty na  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  klesla hodnota viskozity téměř třináctkrát a zvýšením koncentrace plastifikátoru na 30 % klesla hodnota čtyřicetkrát. Dalším zvýšením teploty na  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  klesla hodnota už jen šestkrát a zvýšením koncentrace plastifikátoru na 40 % klesla hodnota jen osmkrát. Z toho lze odvodit, že viskozita klesá rychleji vlivem zvyšujícího podílu plastifikátoru než vlivem zvyšující se teploty.

Snížení viskozity je z farmaceutického hlediska velmi důležité pro lepší zpracovatelnost, zvýší se pružnost a difuzivita polymeru, což ovlivňuje aplikaci přípravku a průběh liberace léčiva, tedy výsledný terapeutický účinek přípravku. Na druhou stranu vysoká viskozita polymeru může bránit rekrystalizaci léčiva během přípravy, skladování a při rozpouštění.

### 9.3 Disoluční charakteristiky

Byl proveden disoluční test acikloviru z tuhých disperzí tvořených polyesterem 5T plastifikovaným methyl-salicylátem ve třech koncentracích. Tuhá disperze byla nanášena na vrstvu hydratovaného mucinu z prasečích žaludků. Disolučním médiem byl fosfátcitrátový pufr pH 7,4 a teplota vodní lázně s integrovanou třepací platformou 37 °C. Časové intervaly odběrů vzorků byly zvoleny tak, aby se zaznamenal celý průběh liberace léčiva.

Množství uvolněného acikloviru bylo stanoveno spektrofotometricky a metodou HPLC ve spolupráci s Katedrou farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy. Spektrofotometrické stanovení množství uvolněného acikloviru poskytlo zkreslené výsledky, které nemohly být použity do této práce. V disolučním roztoku se i přes odstředění (600 ot/min po dobu 15 min) a důkladnou filtraci nacházel mucin, který způsobil zakalení vzorků, což prokázaly až vysoké hodnoty absorbance.

Degradace plastifikovaného polyesteru 5T probíhá hydrolyticky a aciklovir se z něho uvolňuje difúzí a erozí. Vliv na degradaci alifatických polyesterů má především molární hmotnost polyesteru a stupeň větvení. Na základě provedených termických analýz tuhých disperzí s aciklovirem se předpokládá, že aciklovir je v tuhé disperzi rozpuštěn, popř. dispergován v amorfnní formě.<sup>75</sup>

Z výsledků vyplývá, že nejpomalejší disoluce acikloviru z tuhé disperze byla při použití plastifikátoru v koncentraci 20 %. Po zvýšení koncentrace methyl-salicylátu na 30 % bylo zaznamenáno významné zrychlení disoluce, ale další zvýšení koncentrace MS na 40 % již vliv na průběh liberace acikloviru nemělo. Z polyesteru 5T plastifikovaného s 20 % MS se za dobu 1 hod uvolnilo pouze 9 % ACV a za 24 hod 68 % ACV inkorporovaného do polyesteru. Celková doba liberace byla jeden týden. Při plastifikaci 30 % a 40 % MS se za 1 hod uvolnilo téměř 20 % inkorporovaného ACV a celková doba liberace byla 24 hod.

## 10 ZÁVĚRY

Na základě výsledků z předložené rigorózní práce lze vyvodit tyto závěry:

1. Teplota skelného přechodu polyesteru 5T se v průběhu skladování mírně zvýšila v porovnání s hodnotou stanovenou bezprostředně po syntéze.
2. Methyl-salicylát je účinným plastifikátorem polyesteru 5T. V koncentraci 20 % dojde ke snížení  $T_g$  přibližně o 40 °C. Další zvyšování koncentrace MS již takový vliv nemá.
3. Polyester 5T plastifikovaný methyl-salicylátem v koncentracích 20 %, 30 % a 40 % vykazuje newtonské tokové chování.
4. Plastifikace polyesteru 5T přídatkem 20 % methyl-salicylátu nevede k požadovanému snížení viskozity ani při současném zahřátí na 50 °C.
5. Viskozita umožňující snadné zpracování, inkorporaci léčiva a aplikaci přípravku je při teplotě 25 °C dosažena až přídatkem 40 % methyl-salicylátu. Při fyziologické teplotě je dostačující přídatek 30 % methyl-salicylátu.
6. Byl zjištěn významný rozdíl v liberaci acikloviru ze systému plastifikovaného 20 % methyl-salicylátu a 30 % methyl-salicylátu. Dalším zvýšením koncentrace methyl-salicylátu na 40 % již ke změně liberačního profilu nedošlo.
7. Aciklovir se z polyesteru plastifikovaného 20 % methyl-salicylátu uvolňoval po dobu 7 dnů. Při plastifikaci 30 % a 40 % methyl-salicylátu se doba liberace acikloviru zkrátila na 1 den.

## 11 SEZNAM LITERATURY

---

- <sup>1</sup> Hrubantová K.: Liberace léčiv z větvených polyesterů, Diplomová práce, Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2012
- <sup>2</sup> Líbenková, M.: Mukoadhezivní polymerní systémy s aciklovirem, Rigorózní práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2014
- <sup>3</sup> Chanda M., Roy S. K.: *Plastics Technology Handbook*, Fourth Edition, Boca Raton, CRC Press, 2006, ISBN 9780849370397
- <sup>4</sup> Wypych G.: *Handbook of Plasticizer*, Ontario, Wiliam Andrew, 2013, ISBN 1455730025
- <sup>5</sup> Malá R., Jirásková J., Rabišková M.: Vodné disperze polymerů v obalech řídících uvolňování léčiv, *Chem. listy*, 2014, Vol. 108, Str. 1046-1052
- <sup>6</sup> Sengel-Turk C. T., Hascicek C. Gonul N.: Ethylcellulose-Based Matrix-Type Microspheres: Influence of Plasticizer RATIO as Pore-Forming Agent, *AAPS PharmSciTech*, 2011, Vol. 12, No. 4, Str. 1127-1135
- <sup>7</sup> Vieira M., Altenhofen da Silva, Santos L.: Natural-based plasticizers and biopolymer films, *European Polymer Journal*, 2011, Vol. 47, No. 3, Str. 254-263
- <sup>8</sup> Jung H. Han: *Innovations in Food Packaging*, Oxford, Academic Press, 2005, ISBN 0080455174
- <sup>9</sup> Felton L. A., McGinity J. W.: *Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms*, Boca Raton, CRC Press, 2008, ISBN 0849387884
- <sup>10</sup> Halley P., Averous L.: *Starch Polymers: From Genetic Engineering to Green Application*, Newnes, 2014, ISBN 0444537317
- <sup>11</sup> Šnejdrová E., Dittrich M.: Pharmaceutically Used Plasticizers, *Recent Advances in Plasticizers*, Luqman M. (Ed.), InTech, 2012
- <sup>12</sup> Šnejdrová E., Drastík M., Dittrich M.: Výběr plastifikátoru pro větvené oligoestery používané jako nosiče léčiv, *Chem. Listy*, 2013, Vol. 107, Str. 178-181
- <sup>13</sup> Craver C., Carraher C.: *Applied Polymer Science: 21st Centur*, Amsterdam, Elsevier, 2000, ISBN 0080527353
- <sup>14</sup> Lim H., Hoag S. W.: Plasticizer Effects on Physical–Mechanical Properties of Solvent Cast Soluplus® Films, *AAPS PharmSciTech*, 2013, Vol 14, No. 3, Str. 903-910
- <sup>15</sup> Hallstar: The Function and Selection of Ester Plasticizers, dostupné: <https://www.hallstar.com/webfoo/wp-content/uploads/The-Function-Selection-Ester-Plasticizers.pdf>, datum náhledu 20.10.2017



- 
- <sup>16</sup> Myer K.: Applied Plastics Engineering Handbook, Oxford, William Andrew, 2011, ISBN 1437735150
- <sup>17</sup> Augsburger L. L., Hoag S. W.: Pharmaceutical Dosage Forms - Tablets, Third Edition, Boca Raton, CRC Press, 2008, ISBN 9781420063868
- <sup>18</sup> Ebewe R., O.: Polymer Science and Technology, Boca Raton, CRC Press, 2010, ISBN 1420057804
- <sup>19</sup> Šnejdrová E., Dittrich M.: Poly ( $\alpha$ -hydroxykyseliny) jako nosiče léčiv, Chem. Listy, 2011, Vol. 105, Str. 27-33
- <sup>20</sup> Lüllmann H., Mohr K., Wehling M.: Farmakologie a toxikologie, Praha, Grada Publishing a.s., 2004, ISBN 8024708361
- <sup>21</sup> Wu C., McGinity J.W.: Non-traditional plasticization of polymeric films, Int J Pharm, 1999, Vol. 177, No. 1, Str. 15-27
- <sup>22</sup> Wiley: Kirk-Othmer Food and Feed Technology, John Wiley & Sons, 2007, ISBN 9780470174487
- <sup>23</sup> Labrecque L.V., Kumar R.A., Davé V.: Citrate esters as plasticizers for poly(lactic acid), J Appl Polym Sci, 1997, Vol. 66, Str. 1507-1513
- <sup>24</sup> Wypych A.: Plasticizers Databook, Toronto, Elsevier, 2013, ISBN 0323221335
- <sup>25</sup> Wypych G.: Handbook of Plasticizers, Ontario, William Andrew, 2013, ISBN 1455730025
- <sup>26</sup> Dostupné z: [http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0\\_m85235.html](http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m85235.html), datum náhledu 20.10.2017
- <sup>27</sup> Lewis R. A: Hawley's Condensed Chemical Dictionary, John Wiley & Sons, 2016, ISBN 1119267846
- <sup>28</sup> Dostupné z: [http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0\\_m84970.html](http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m84970.html), datum náhledu 20. 10. 2017
- <sup>29</sup> Dostupné z: <https://www.chemservice.com/acetyl-triethyl-citrate-ng-11022-1g.html>, datum náhledu 20. 10. 2017
- <sup>30</sup> Gooch W. J.: Encyclopedic Dictionary of Polymers, New York, Springer-Verlag, 2011, ISBN 978-1-4419-6246-1
- <sup>31</sup> Hui Y. H.: Handbook of Food Science, Technology, and Engineering, Boca Raton, CRC Press, 2006, ISBN 9780849398476

- 
- <sup>32</sup> Dostupné z: [http://www.wikidoc.org/index.php/File:Glycerine\\_chemical\\_structure.png](http://www.wikidoc.org/index.php/File:Glycerine_chemical_structure.png), datum náhledu 20. 10. 2017
- <sup>33</sup> Taylor A. J., Linforth R.: Food Flavour Technology, Chichester, John Wiley & Sons, 2009, ISBN 1444317784
- <sup>34</sup> Dostupné z: <http://www.mpbio.com/product.php?pid=02103098&country=56>, datum náhledu 20. 10. 2017
- <sup>35</sup> Dostupné z: <http://www.worldofchemicals.com/chemicals/chemical-properties/dibutyl-sebacate.html>, datum náhledu 20. 10. 2017
- <sup>36</sup> Dostupné z: <https://www.mpbio.com/product.php?pid=02151910>, datum náhledu 20. 10. 2017
- <sup>37</sup> A. Kar: Pharmacognosy And Pharmacobiotechnology, New Age International, 2003, ISBN 8122415016
- <sup>38</sup> Šnejdrová E., Dittrich M., Drastík M.: Plasticized branched aliphatic oligoesters as potential mucoadhesive drug carriers, *Int J Pharm*, 2013, Vol. 458, No. 2, Str. 282-6
- <sup>39</sup> Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/240826?lang=en&region=CZ>, datum náhledu 20. 10. 2017
- <sup>40</sup> Domb A. J., Kumar N.: Biodegradable Polymers in Clinical Use and Clinical Development, Hoboken, John Wiley & Sons, 2011, ISBN 1118015800
- <sup>41</sup> Coulembier O., Degée P., Hedrick J. L., Dubois P.: From controlled ring-opening polymerization to biodegradable aliphatic polyester: Especially poly( $\beta$ -malic acid) derivatives, *Prog Polym Sci*, 2006, Vol. 31, No. 8, Str. 723–747
- <sup>42</sup> Dostupné z: <http://www.google.com/patents/US20080249633#forward-citations>, datum náhledu 20. 10. 2017
- <sup>43</sup> Sharma S. K., Mudhoo A., Clark J. H.: A Handbook of Applied Biopolymer Technology: Synthesis, Degradation and Applications, Royal Society of Chemistry, 2011, ISBN 1849731519
- <sup>44</sup> Clark J. H., Deswarte F.: Introduction to Chemicals from Biomass, Hoboken, John Wiley & Sons, 2011, ISBN 119964431
- <sup>45</sup> Dostupné z: <http://www.nptel.ac.in/courses/116102006/module6/chapter%206.1.html>, datum náhledu 20.10.2017
- <sup>46</sup> Belgacem M. N., Gandini A.: Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources, Amsterdam, Elsevier, 2011, ISBN 0080560512

- 
- <sup>47</sup> Sin L. T., Rahmat A. R., Rahman W.A W.A.: Poly(lactic Acid): PLA Biopolymer Technology and Applications, Elsevier Inc., 2012, ISBN 9781437744590
- <sup>48</sup> Sattler K. D.: Handbook of Nanophysics: Nanomedicine and Nanorobotics, Boca Raton, CRC Press, 2010, ISBN 9781420075496
- <sup>49</sup> Domb A. J., Khan W.: Focal Controlled Drug Delivery, Springer Science & Business Media, 2014, ISBN 1461494346
- <sup>50</sup> Flower D.R., Perrie Y.: Immunomic Discovery of Adjuvants and Candidate Subunit Vaccines, New York, Springer Science & Business Media, 2012, ISBN 1461450705
- <sup>51</sup> Chakravarthi S.S.: Effect of Size of PLGA and Chitosan-PLGA Particles on the Cellular Association, Cytotoxicity, and Anti-tumor Efficacy of Paclitaxel, Nebraska, ProQuest, 2008, ISBN 0549636943
- <sup>52</sup> Lu L., Garcia C.A., Mikos A.G.: In vitro degradation of thin poly(DL-lactic-co-glycolic acid) films. J Biomed Mater Res, 1999, Vol. 46, Iss. 2, Str. 236-44
- <sup>53</sup> Loo S.C., Ooi C.P., Wee S.H., Boey Y.C.: Effect of isothermal annealing on the hydrolytic degradation rate of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA). Biomaterials, 2005, Vol. 26, No. 16, Str. 2827-33
- <sup>54</sup> Park T. G.: Degradation of poly(D,L-lactic acid) microspheres: effect of molecular weight, J Control Release, 1994, Vol. 30, No. 2, Str. 161-173
- <sup>55</sup> Liu H., Venkatraman S.S.: Solid/Hollow depots for drug delivery, part 1: effect of drug characteristics and polymer molecular weight on the phase-inversion dynamics, depot morphology, and drug release, J Pharm Sci, 2014, Vol. 103, No. 2, Str. 485-95
- <sup>56</sup> Makadia H. K., Siegel S. J.: Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier, Polymers, 2011, Vol. 3, No. 3, Str. 1377-1397
- <sup>57</sup> Siegela Steven J., Kahna Jonathan B., Metzgera K.: Effect of drug type on the degradation rate of PLGA matrices, Eur J Pharm Biopharm, 2006, Vol. 64, No. 3, Str. 287-293
- <sup>58</sup> Grizzi I., Garreau H., Vert M., Li S.: Hydrolytic degradation of devices based on poly(DL-lactic acid) size-dependence, Biomaterials, 1995, Vol 16, No. 4, Str. 305-311
- <sup>59</sup> Zolnik B.S., Burgess D. J.: Evaluation of in vivo–in vitro release of dexamethasone from PLGA microspheres, J Control Release, 2008, Vol. 127, No. 2, Str. 137-145
- <sup>60</sup> Zolnik B. S., Burgess D. J.: Effect of acidic pH on PLGA microsphere degradation and release, J Control Release, 2007, Vol. 122, No. 3, Str. 338-344

- 
- <sup>61</sup> Siepman J., Siegel R.A., Rathbone M.J.: Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery, London, Springer Science & Business Media, 2011, ISBN 1461408806
- <sup>62</sup> Podzimek, Š.: Charakterizace větvených a lineárních oligoesterů gelovou permeační chromatografií s on-line rozptylovým fotometrem a viskozimetrem. Výzkumná zpráva Synpo a.s. Pardubice, 2017, 7.
- <sup>63</sup> Stijn C., Smet M.: PLA architectures: the role of branching, Polym Chem, 2015, Vol. 6, Str. 850-867
- <sup>64</sup> Dostupné z: <https://sites.google.com/a/umn.edu/phar6157s13/home/mannitol>, datum náhledu 29. 10. 2017
- <sup>65</sup> Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/236241?lang=en&region=CZ>, datum náhledu 29. 10. 2017
- <sup>66</sup> Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/d203203?lang=en&region=CZ>, datum náhledu 29. 10. 2017
- <sup>67</sup> Dostupné z: <https://www.mpbio.com/product.php?pid=05219526&country=56>, datum náhledu 29. 10. 2017
- <sup>68</sup> Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/323667?lang=en&region=CZ>, datum náhledu 29. 10. 2017
- <sup>69</sup> Dostupné z: <http://medicalcheatsheets.blogspot.cz/2011/10/zovirax-tablets-acyclovir-dosage-uses.html>, datum náhledu 23. 9. 2017
- <sup>70</sup> Lincová D., Farghali H.: Základní a aplikovaná farmakologie, Praha, Galen, 2007, ISBN 9788072623730
- <sup>71</sup> Dostupné z: [http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data\[search\\_for\]=&data\[code\]=&data\[atc\\_group\]=&data\[material\]=aciclovir&data\[path\]=&data\[reg\]=&data\[radio\]=none&data\[rc\]=&data\[chbox\]\[braille\]=braille-yes&data\[chbox\]\[braille\]=braille-no&data\[chbox\]\[braille\]=braille-def&data\[with\\_\]](http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data[search_for]=&data[code]=&data[atc_group]=&data[material]=aciclovir&data[path]=&data[reg]=&data[radio]=none&data[rc]=&data[chbox][braille]=braille-yes&data[chbox][braille]=braille-no&data[chbox][braille]=braille-def&data[with_]), datum náhledu 29.10.2017
- <sup>72</sup> Lüllmann H., Mohr K., Hein L.: Barevný atlas farmakologie - Překlad 4. anglického, zcela přepracovaného a rozšířeného vydání, Praha, Grada Publishing a.s., 2012, ISBN 8024739089
- <sup>73</sup> Dostupné z: <http://it.wikipedia.org/wiki/Valaciclovir>, datum náhledu 27. 9. 2017

---

<sup>74</sup> Podzimek, Š.: Charakterizace větvených oligoesterů gelovou permeační chromatografií s on-line rozptylovým fotometrem a viskozimetrem. Výzkumná zpráva Synpo a.s. Pardubice, 2006, 3.

<sup>75</sup> Šnejdrová E., Drastík M., Dittrich M., Kastner P., Nguyenová J.: Mucoadhesive plasticized system of branched poly(lactic-co-glycolic acid) with aciclovir, Drug Dev Ind Pharm, 2016, Vol. 42, Iss. 10, Str. 1653-1659