

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE

**IMPLANTABILNÍ BIODEGRADABILNÍ  
OLIGOESTEROVÉ SYSTÉMY  
S KYSELINOU LISTOVOU**

**Disertační práce**

**2007**

**Mgr. Tomáš Klein**

# Poděkování

## **DOVOLUJI SI PODĚKOVAT**

Svému školiteli Doc. RNDr. Milanu Dittrichovi, CSc. za odborné vedení, pomoc při řešení jednotlivých kroků a cenné rady při vypracování této práce.

Paní Romaně Nobilisové za technickou pomoc v průběhu řešení.

Fondu rozvoje vysokých škol za finanční podporu při vypracování disertační práce udělením grantu pod evidenčním číslem 2972/2003 a finanční podpoře MSM 111600001.

Mým rodičům za všestrannou podporu a pomoc, kterou mi po celou dobu poskytovali.

# OBSAH

<b>OBSAH</b> .....	<b>3</b>
<b>ÚVOD</b> .....	<b>6</b>
<b>1. TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>7</b>
<b>1.1 DEGRADACE POLYMERU</b> .....	<b>7</b>
1.1.1 MECHANISMUS DEGRADACE.....	9
1.1.2 PRŮBĚH DEGRADACE.....	9
1.1.2.1 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ STUPEŇ HYDROLYTICKÉ DEGRADACE.....	11
1.1.2.2 MECHANISMY UVOLŇOVÁNÍ TERAPEUTICKÝCH LÁTEK.....	11
1.1.2.3 POVRCHOVÁ A CELKOVÁ EROZE.....	12
1.1.2.4 TERAPEUTICKÉ LÁTKY VHODNÉ PRO BIODEGRADABILNÍ SYSTÉMY.....	13
<b>1.2 BIODEGRADABILNÍ POLYESTERY</b> .....	<b>13</b>
<b>1.2.1 POLYMERY A KOPOLYMERY KYSELINY MLÉČNÉ</b> .....	<b>14</b>
1.2.1.1 KYSELINA MLÉČNÁ.....	14
1.2.1.2 SYNTÉZA POLYMERŮ KYSELINY MLÉČNÉ.....	16
1.2.1.2.1 POLYKONDENZACE.....	16
1.2.1.2.2 POLYMERIZACE ZA OTEVŘENÍ KRUHU.....	16
1.2.1.3 VLASTNOSTI POLYMERŮ KYSELINY MLÉČNÉ.....	18
1.2.1.3.1 TERMOFYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI.....	18
1.2.1.3.2 ROZPUSTNOST.....	19
1.2.1.3.3 MÍŠITELNOST S JINÝMI POLYMERY.....	20
1.2.1.3.4 MECHANICKÉ VLASTNOSTI.....	21
1.2.1.3.5 TEPELNÁ STABILITA.....	22
1.2.1.3.6 STABILITA PŘI OZÁŘENÍ.....	22
1.2.1.3.7 HYDROLYTICKÁ STABILITA.....	23
1.2.1.3.8 STABILITA V BIOLOGICKÉM PROSTŘEDÍ.....	24
<b>1.2.2 POLYESTERY Z BIFUNKČNÍCH MONOMERŮ</b> .....	<b>25</b>
1.2.2.1 POLYESTERAMIDY.....	26
1.2.2.2 POLYESTERIMIDY.....	27
1.2.2.3 POLYESTERURETANY.....	28
1.2.2.4 POLYESTERANHYDRIDY.....	30
1.2.2.5 POLYESTERETERY.....	30
<b>1.2.3 VYUŽITÍ BIODEGRADABILNÍCH POLYMERŮ</b> .....	<b>31</b>
1.2.3.1 POVRCHOVÉ MODIFIKACE.....	31
1.2.3.2 MIKROČÁSTICE A NANOČÁSTICE.....	32
1.2.3.3 PORÉZNÍ LEŠENÍ.....	33
1.2.3.4 VLÁKNA.....	33
1.2.3.5 IMPLANTÁTY TVOŘENÉ IN SITU.....	34
1.2.3.5.1 TERMOPLASTICKÉ PASTY.....	34
1.2.3.5.2 POLYMERNÍ SYSTÉMY ZESÍTĚNÉ IN SITU.....	35
1.2.3.5.3 PRECIPITACE POLYMERU IN SITU.....	37
1.2.3.5.4 TEPELNĚ VYVOLANÉ GELOVÉ SYSTÉMY.....	37
<b>1.2.4 CHEMOTERAPIE A POLYMERNÍ SYSTÉMY</b> .....	<b>38</b>
1.2.4.1 POLYMERNÍ SYSTÉMY S LÉČIVEM.....	39
1.2.4.1.1 NEDEGRADABILNÍ POLYMERNÍ SYSTÉMY.....	39
1.2.4.1.2 BIODEGRADABILNÍ POLYMERNÍ SYSTÉMY.....	40

1.2.4.2	VYUŽITÍ POLYMERNÍCH SYSTÉMŮ PŘI LÉČBĚ NÁDORŮ .....	40
1.2.4.2.1	POLYMERNÍ MIKROČÁSTICE PRO DLOUHODOBOU CHEMOTERAPII.....	41
1.2.4.2.2	POLYMERNÍ IMPLANTÁTY PRO DLOUHODOBOU CHEMOTERAPII.....	41
1.2.4.2.3	POLYMERNÍ MIKROČÁSTICE URČENÉ K CHEMOEMBOLIZACI .....	42
1.3	KYSELINA LISTOVÁ A JEJÍ VYUŽITÍ PŘI TRANSPORTU LÉČIV DO NÁDOROVÝCH BUNĚK.....	43
<b>2.</b>	<b><u>CÍLE PRÁCE.....</u></b>	<b>49</b>
<b>3.</b>	<b><u>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</u></b>	<b>50</b>
3.1	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE .....	50
3.1.1	PŘÍSTROJE.....	50
3.1.2	CHEMIKÁLIE.....	50
3.2	OLIGOESTEROVÉ NOSIČE, MODEL LÉČIVÉ LÁTKY, PRACOVNÍ POSTUPY .....	52
3.2.1	OLIGOESTEROVÉ NOSIČE.....	52
3.2.2	MODEL LÉČIVÉ LÁTKY.....	53
3.2.3	PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO STANOVENÍ VIZKOZITY.....	53
3.2.4	PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO STANOVENÍ BOBTNÁNÍ A EROZE .....	54
3.2.5	PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO TESTOVÁNÍ LIBERACE KYSELINY LISTOVÉ .....	56
3.2.5.1	PŘÍPRAVA OLIGOMERNÍCH FILMŮ .....	56
3.2.5.2	PŘÍPRAVA OLIGOMERNÍCH MATRIC .....	56
3.2.6	FOSFÁT – CITRÁTOVÝ PUFŘ .....	57
3.2.7	TESTOVÁNÍ LIBERACE KYSELINY LISTOVÉ Z OLIGOMERNÍCH FILMŮ A MATRIC .....	58
3.2.8	VÝPOČET PODÍLU LIBEROVANÉ KYSELINY LISTOVÉ.....	58
3.2.9	KALIBRAČNÍ KŘIVKY .....	59
<b>4.</b>	<b><u>VÝSLEDKY - TABULKY A GRAFY.....</u></b>	<b>62</b>
4.1	REOLOGICKÉ VLASTNOSTI.....	62
4.2	BOBTNÁNÍ A EROZE OLIGOMERNÍCH MATRIC .....	81
4.3	LIBERACE KYSELINY LISTOVÉ Z OLIGOMERNÍCH FILMŮ.....	93
4.4	LIBERACE KYSELINY LISTOVÉ Z OLIGOMERNÍCH MATRIC .....	98
<b>5.</b>	<b><u>DISKUZE .....</u></b>	<b>121</b>
5.1	ZAMĚŘENÍ A METODIKA PRÁCE .....	121
5.2	VIZKOZITA PLASTIFIKOVANÝCH NOSIČŮ.....	122
5.2.1	VIZKOZITA PŘI 37 °C.....	123
5.2.2	VIZKOZITA PŘI 45 °C.....	125
5.2.3	VIZKOZITA PŘI 53 °C.....	125
5.2.4	AKTIVAČNÍ ENERGIE VISKÓZNÍHO TOKU .....	126
5.3	INTERAKCE IMPLANTABILNÍCH SYSTÉMŮ S HYDROFILNÍM MÉDIEM.....	128
5.3.1	EROZE .....	129
5.3.2	BOBTNÁNÍ.....	133
5.3.2.1	VLIV VELIKOSTI MATRIC.....	135
5.3.2.2	VLIV KONCENTRACE TRIETHYLCITRÁTU .....	135
5.3.2.3	VLIV KONCENTRACE TRIACETINU.....	136
5.3.2.4	VLIV 20 % TRIBUTYLCITRÁTU .....	137
5.3.2.5	VLIV 20 % BUTYLLAKTÁTU A 20 % ETHYLLAKTÁTU.....	137
5.3.2.6	VLIV 20 % TRIBUTYRINU .....	137

5.3.2.7	VLIV 30 % SMĚSI DVOU PLASTIFIKÁTORŮ .....	138
5.3.2.8	SHRNUTÍ STUDIA BOBTNÁNÍ .....	138
<b>5.4</b>	<b>LIBERACE KYSELINY LISTOVÉ .....</b>	<b>139</b>
5.4.1	LIBERACE Z FILMŮ .....	142
5.4.2	LIBERACE Z OLIGOESTEROVÝCH REOTROPNÍCH PLASTIFIKOVANÝCH MATRIC .....	143
5.4.3	LIBERACE Z OLIGOESTEROVÝCH ZESÍTĚNÝCH MATRIC .....	146
5.5	RELACE MEZI VLASTNOSTMI SYSTÉMŮ .....	149
<b>6.</b>	<b><u>ZÁVĚRY .....</u></b>	<b><u>150</u></b>
6.1	OBEČNÉ.....	150
6.2	K VIZKOZITĚ SYSTÉMŮ.....	150
6.3	K EROZI SYSTÉMŮ .....	151
6.4	K BOBTNÁNÍ SYSTÉMŮ .....	151
6.5	K LIBERACI LĚČIVA ZE SYSTÉMŮ.....	152
<b>7.</b>	<b><u>SEZNAM ZKRATEK .....</u></b>	<b><u>153</u></b>
<b>8.</b>	<b><u>PŘEHLED LITERATURY .....</u></b>	<b><u>155</u></b>
<b>9.</b>	<b><u>SEZNAM PUBLIKACÍ .....</u></b>	<b><u>173</u></b>
<b>10.</b>	<b><u>SOUHRN.....</u></b>	<b><u>174</u></b>

# ÚVOD

Farmaceutická technologie je profilovou farmaceutickou disciplínou. Předmětem jejího studia je lék, konkrétně jeho příprava z dostatečně známé, ověřené a povolené léčivé látky a souboru povolených látek pomocných. Úkolem farmaceutického technologa je z široké palety pomocných látek a zadané léčivé nebo obecně aktivní látky vytvořit kvalitní lék. Spolu s problematikou optimálního složení příslušného léku je řešena také problematika vývoje postupu přípravy a posléze výroby příslušné konkrétní lékové formy s cílem optimalizace strukturních, fyzikálně-chemických a biofarmaceutických charakteristik léku.

Stále více perspektivním směrem ve farmaceutické technologii je výzkum a vývoj biologicky odbouratelných (biodegradabilních) lékových forem a léčivých přípravků. Nejvíce studované a v praxi využívané biodegradabilní nosiče léčivých látek jsou polyestery alifatických hydroxykyselin, převážně kyseliny mléčné a glykolové. Jsou to látky, které jsou dobře zpracovatelné, výrobně standardní a z hlediska vlastností velmi flexibilní. Slouží k přípravě disperzních soustav - nanočástic a mikročástic, matricových systémů - implantátů a insertů a různých kompozitních systémů.

Z degradabilních polymerních systémů mají nejdelší tradici přírodní polymery kolagen a želatina. Rychlost odbourávání těchto nosičů je závislá na aktivitě enzymatického aparátu. Modernější syntetické polymerní nosiče se rozkládají hydrolyticky. U těchto nosičů je problémem závislost degradace na aktuální aciditě média. Existují určité fyziologické a patofyziologické stavy, při nichž se hodnota pH v okolí aplikovaného přípravku mění. Zvláště významný je tento faktor v případě zánětlivých reakcí a nádorové tkáně.

V posledních desetiletích se biodegradabilní polymerní nosiče těší stále většímu zájmu a tento trend lze předpokládat i v letech následujících.

# 1. TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 DEGRADACE POLYMERU

Významné pokroky a objevy v biotechnologii, tkáňovém inženýrství, buněčné a molekulární biologii, vědě o biomateriálech a jiných příbuzných oblastech poskytly základ pro výzkum a vývoj nových, komplexních systémů s řízeným uvolňováním. Mnoho z těchto nových systémů využívá aktivní biologické složky, např. proteiny a buňky k dosažení zamýšleného terapeutického cíle. Použití bioaktivních biologických materiálů v implantovatelných systémech s řízeným uvolňováním podnítilo široký a hluboký zájem o bezpečnost a účinnost těchto systémů. Polymery nacházejí stále větší uplatnění v medicíně a ve farmacii. Používají se na výrobu obalů, šicích materiálů a různých pomůcek, jako pomocné látky pro výrobu suspenzí, emulzí a tablet. Jsou nedílnou součástí systémů s prodlouženým uvolňováním léčivých látek. Stále více se v medicíně prosazují biodegradabilní polymery, neboť nevyžadují opakovaný chirurgický zákrok nutný pro jejich vyjmutí z organismu po splnění své funkce. Mnohé druhy přírodních a syntetických biodegradabilních polymerů byly zkoumány z hlediska prodlouženého uvolňování léčiva a cílené biodistribuce. Jen část z těchto polymerů je skutečně biokompatibilní. Přírodní biodegradovatelné polymery, např. hovězí sérový albumin (BSA), lidský sérový albumin (HSA), kolagen, želatina a hemoglobin byly studovány z hlediska liberace léčiva. Použití těchto přírodních materiálů je limitováno vysokými náklady, čistotou, nestandardností a rizikem kontaminace priony (BSE) nebo virem. Z těchto důvodů se použití přírodních polymerů stává stále méně atraktivní. Stále více jsou používány syntetické polymery, protože jsou bez většiny problémů spojených s přírodními polymery. Polyamidy, polyaminokyseliny, polyuretany, poly(alkyl- $\alpha$ -kyanoakryláty), polyestery, polyorthoestery, jsou používány k přípravě rozličných přípravků obsahujících léčivo. Termoplastické alifatické polyestery (PLA, PGA a zvláště PLGA) vyvolaly obrovský zájem způsobený jejich výbornou biokompatibilitou a biodegradabilitou. Předností syntetických polymerů oproti polymerům přírodního původu je možnost snadné úpravy jejich vlastností tak, aby vyhověly požadavkům aplikace.

Syntéza nízkomolekulárních oligomerních forem polymerů z laktidu nebo glykolidu byla poprvé realizována před několika desítkami let. Během 60. a 70. let minulého století publikovala řada kolektivů práce o využití těchto polymerů pro přípravu chirurgických nití

a vláken, jako jsou Dexon (100 % PGA) a Vicryl (90 % PGA – 10 % PLA). Tato vlákna měla dobré mechanické vlastnosti, nízkou toxicitu, výbornou biokompatibilitu a předvídatelnou kinetiku biodegradace. Tím bylo umožněno jejich použití i v jiných klinických aplikacích (rekonstrukce vaziva, tracheální náhrady, opravy nervů, zubů, zlomenin, atd.). Z polymerů laktidu a/nebo glykolidu byly připraveny různé lékové formy (mikročástice, mikrokapsle, nanočástice, pelety, implantáty a filmy) sloužící k uvolňování různých skupin léčiv. Výběrem vhodné technologie přípravy lze dosáhnout doby uvolňování látek od hodin po měsíce. Tato doba uvolňování je značně závislá na biodegradaci použitého polymeru a fyzikálně-chemických vlastnostech použité léčivé látky. V porovnání s běžnými orálními lékovými formami lze dosáhnout mnohem delší doby uvolňování, vyšší biodostupnosti. Navíc je možné aplikovat také proteiny nebo peptidy a výrazně snížit celkovou dávku. V posledních letech jsou tyto systémy využívány pro přípravu subkutánních, intramuskulárních nebo intraperitoneálních implantátů se systémově řízeným uvolňováním léčiva. Základní složkou většiny těchto systémů je léčivo a polymer. Léčivo je inkorporováno fyzikálně nebo chemicky. Pokud se jedná o fyzikální inkorporaci, je léčivo dispergováno nebo rozpuštěno v polymerní matici (matricový systém), nebo je zadržováno uvnitř kompartmentu polymerní membránou (rezervoárový systém). U chemické inkorporace jsou molekuly léčiva kovalentně vázány k polymernímu řetězci. Parenterální biodegradabilní léčivé přípravky mohou být tříděny do dvou hlavních skupin, na injekční léčivé přípravky a implantabilní léčivé přípravky. Injekční přípravky můžeme jednoduše aplikovat do těla pomocí injekční stříkačky, zatímco implantabilní přípravky vyžadují menší chirurgický zákrok k zavedení do pacientova těla. Je snahou, aby implantát po vložení do tkáně hostitele vyvolal žádoucí odpověď bez vedlejších účinků, jako jsou karcinogenita, toxicita, nežádoucí imunitní reakce nebo záněty. Implantáty vyrobené z biodegradabilních polymerů zajišťují postupné uvolňování léčiva s následnou degradací polymeru v tkáních. Hlavní výhodou je, že degradační produkty polymerů jsou podobné produktům přirozených dějů v organismu a jsou tedy netoxické. Zároveň odpadá chirurgické odstranění implantátu. Biodegradabilní polymery nabízí také možnost ochrany labilních makromolekul spojenou s výhodou řízeného uvolňování. Nelze opomenout zlepšení compliance pacienta a výhody použití při léčbě chronických onemocnění. Stinnou stránkou těchto systémů je zmenšování povrchu implantátu při erozi. Je pak velmi obtížné docílit konstantního uvolňování léčivé látky dle kinetiky 0. řádu. Vysoká koncentrace léčiva může působit toxicky, zatímco nízká koncentrace působí subterapeuticky<sup>1</sup>.



### 1.1.1 MECHANISMUS DEGRADACE

Přírodní nebo syntetické biodegradabilní polymery jsou degradovány *in vivo* enzymaticky, neenzymaticky nebo pomocí obou způsobů za vzniku biokompatibilních, netoxických rozkladných produktů, které jsou dále eliminovány normální metabolickou cestou. Degradace je chemický proces, přeměna z původně ve vodě nerozpustného materiálu na materiál ve vodě rozpustný, nebo je také označována za úbytek hmoty (vlivem resorpce nebo disoluce materiálu) doprovázený redukcí molekulové hmotnosti, změnami ve struktuře a mechanických vlastnostech materiálu (snížení tuhosti a pevnosti). Biodegradace (biodegradabilita) je schopnost materiálu rozložit se v živém organismu na látky, které mohou být dále metabolizovány nebo eliminovány<sup>2</sup>.

**Enzymatická degradace** - biologické prostředí, ve kterém se polymery vyskytují, obsahuje biologická agens a ta degradují polymerní sloučeniny pomocí enzymů. Biologičtí činitelé, jako jsou houby (aerobní organismy) a bakterie (aerobní i anaerobní organismy), využívají polymery jako zdroj živin. Pokud jsou zajištěny optimální podmínky (vlhkost, teplo a přítomnost kyslíku), je biodegradace poměrně rychlý proces.

**Neenzymatická (chemická) degradace** - polymer je tvořen příčně spojenými řetězci molekul, které jsou samy o sobě ve vodě rozpustné. Jejich síť tvořící polymer je však ve vodě nerozpustná a pouze bobtná. Degradace těchto systémů nastává štěpením příčných řetězců polymeru, či rozkladem ve vodě rozpustné části hlavního řetězce polymeru. Ve zbobtnalé matici dochází k štěpení vazeb a eventuálně k rozpouštění polymeru. Někdy přeměnu nerozpustných systémů na systémy ve vodě rozpustné zapříčiní hydrolyza, ionizace nebo protonizace postranních skupin řetězců polymeru. Hydrolytické štěpení labilních vazeb ve vodě rozpustné části polymeru může zapříčinit degradaci polymeru.

### 1.1.2 PRŮBĚH DEGRADACE

U implantátů připravených z kyseliny mléčné a glykolové má degradace následující průběh:

- První stádium - během prvního stádia degradačního procesu dochází k hydrataci implantátu. Ihned po aplikaci implantát nasává vodu z okolního prostředí. Absorpce vody trvá v závislosti na velikosti a povrchu implantátu několik dní až měsíců. Hydratace amorfních segmentů probíhá rychleji než hydratace krystalických segmentů. Implantáty z kyseliny polyglykolové, polymléčné a jejich kopolymerů přijímají vodu až do vnitřních

prostor, což vede k degradaci na fragmenty, zatímco u hydrofobnějších polymerních matric dochází jen k povrchové erozi. Implantáty v měkkých tkáních vyvolávají buněčnou odpověď typickou pro akutní trauma (hematom). Pak následuje tvorba fibrózních útvarů v okolí implantátu. Mezi kostí a implantátem se vytváří granulační tkáň. V těchto místech se vytvoří menší množství zvětšených buněk, ale jiné zánětlivé buňky nejsou přítomny<sup>3</sup>.

- Druhé stádium - v druhém stádiu degradace nastává depolymerizace nebo chemický rozklad polymerního základu vedoucí ke změně mechanických vlastností. Voda reaguje s polymerem a dochází k hydrolytickému štěpení kovalentních vazeb a ke snižování průměrné molekulové hmotnosti a mechanické pevnosti polymeru. Kinetika štěpení závisí na velkém množství faktorů, např. na velikosti implantátu, povrchové vrstvě, typu polymeru, čistotě polymeru, krystalinitě, okolním pH, metodě sterilizace a počáteční molekulové hmotnosti<sup>4</sup>. I v tomto stádiu dochází k degradaci amorfních oblastí dříve než krystalických oblastí.

- Třetí stádium - v tomto stádiu implantát ztrácí celistvost a vznikají fragmenty o nižší molekulové hmotnosti. Jsou tvořeny oligomerní až monomerní produkty. V měkkých tkáních se okolo implantátu vytvoří kolagenové útvary a tkáň vykazuje mírnou zánětlivou odpověď. V kostní tkáni narůstá vrstva kostní hmoty okolo implantátu a velikost implantátu se zmenšuje. Redukuje se granulační tkáň a objevují se zde fagocyty.

- Čtvrté stádium - pokračující hydratace vede k tvorbě fragmentů s vhodnou velikostí pro pohlcení fagocytózou a také k tvorbě rozpustných monomerních aniontů, které se rozpustí v intercelulární tekutině. Dochází tedy k absorpci. Pozorovaný úbytek velikosti implantátu koresponduje s jeho vstřebáváním. Přítomnost kyseliny mléčné obsažené v implantátu může zvýšit tkáňovou regeneraci ovlivněním laktát dehydrogenázy obsažené v makrofázích. Absorpce implantátů z kyseliny mléčné může trvat v rozmezí 20 měsíců až 5 let<sup>5</sup>. Na rozdíl od kyseliny polymléčné probíhá degradace kyseliny polyglykolové *in vivo* pravděpodobně za pomoci extracelulárních enzymů. Extracelulární degradace probíhá cestou jednoduché hydrolýzy a enzymaticky zprostředkované hydrolýzy. Takto vzniklé fragmenty jsou dopraveny do buňky fagocytózou, kde degradují pouze jednoduchou hydrolýzou. Absorpční čas pro kyselinu polymléčnou je 6-17 týdnů<sup>6</sup>.

- Páté stádium - posledním stádiem degradace je eliminace. Kyselina mléčná se přemění na oxid uhličitý a pyruvát. Pyruvát vstupuje do Krebsova cyklu cestou acetylace koenzymu A. Hlavní část konečných degradačních produktů vzniká v dýchacím řetězci (oxid uhličitý, voda) a menší část se odbourává v močovinovém cyklu na močovinu. Toto platí pro kyselinu L-mléčnou a podobný model byl popsán i pro kyselinu D,L-mléčnou<sup>7</sup>. Hydrolyza kyseliny polyglykolové vede ke glykolátu, který je zčásti vylučován močí a zčásti oxidován na glyoxylát, který je pak přeměněn na glycin, serin nebo pyruvát<sup>6</sup>.

#### 1.1.2.1 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ STUPEŇ HYDROLYTICKÉ DEGRADACE

- Polymerní struktura a krystalinita (rychlost degradace se obvykle zvyšuje s klesající krystalinitou).
- Polymerní struktura a struktura uspořádání (hydrofobní strukturní uspořádání vykazuje pomalejší hydrolyzu).
- Teplota (ve většině případů se degradace zvyšuje se vzrůstající teplotou).
- pH (degradace se zvyšuje se vzrůstajícím či klesajícím pH).
- Přítomnost léčiva (může potlačit nebo podpořit hydrolyzu). Bazická léčiva se mohou chovat jako katalyzátory, které mohou zvýšit degradační stupeň a tím také uvolňování léčiva. Na druhou stranu mohou bazická léčiva neutralizovat koncové karboxylové skupiny polyesterů a tím redukovat autokatalýzu a následně i degradaci. Léčiva s převažujícími hydrofilními vlastnostmi jsou rychleji uvolňována než hydrofobní léčiva.

#### 1.1.2.2 MECHANISMY UVOLŇOVÁNÍ TERAPEUTICKÝCH LÁTEK

Látky obsažené v polymerních systémech jsou uvolňovány difúzí přes polymerní vrstvu, erozí polymerního materiálu nebo kombinací obou způsobů. Mechanismy uvolňování terapeutických látek závisí také na typu polymeru a charakteru látky.

##### Typ polymeru:

- Typ I. - ve vodě rozpustný polymer se rozpouští, strukturní vazby polymeru jsou tvořeny příčnými vazbami podléhajícími hydrolyze.
- Typ II. - ve vodě nerozpustný polymer se rozpouští hydrolyzou, ionizací, protonací.
- Typ III. - hydrofobní polymer se přemění na malé, ve vodě rozpustné molekuly rozkladem hlavního řetězce polymeru.

### **Charakter látky:**

- Látky vázané kovalentní vazbou k hlavnímu řetězci polymeru jsou uvolňovány hydrolýzou kovalentní vazby.
- Látky obsažené v jádru polymerního tělesa ohraničeného bioerodibilní membránou jsou uvolňovány difúzí přes polymerní membránu. Uvolňování je závislé na erozi polymerní membrány.
- Látky homogenně dispergované v polymeru jsou uvolňovány převážně difúzí, kombinací difúze a eroze, či pouze erozí.

### **1.1.2.3 POVRCHOVÁ A CELKOVÁ EROZE**

Degradace je chemický proces, kdežto eroze je fyzikální jev založený na rozpouštění a difúzi. Můžeme rozlišit dva typy eroze polymeru - povrchovou a celkovou. V praxi tyto dva příklady znamenají extrémy. Pro většinu biodegradabilních polymerů nastanou oba případy a jejich vzájemné zastoupení je velmi výrazně ovlivněno řetězcem a chemickou strukturou polymeru.

K povrchové erozi dochází tehdy, pokud rychlost eroze převyšuje rychlost pronikání vody do tělesa polymeru. Na základě kinetiky eroze a rychlosti uvolňování léčiv je tento jev většinou považován za požadovaný mechanismus eroze při liberaci léčiv. Nízká rychlost difúze vody do tělesa s převládající povrchovou erozí má další pozitivní efekt, chrání léčiva citlivá na vodu až do okamžiku jejich uvolnění. Příklady polymerů s povrchovou erozí jsou polyanhydridy a polyorthoestery, které obsahují citlivé skupiny zajišťující rychlou hydrolýzu polymerních řetězců při setkání s molekulami vody. Pronikání vody je omezeno u polymerů, které obsahují hydrofobní monomerní jednotky, případně mohou být přidány hydrofobní pomocné látky, které stabilizují polymer. Při ideální povrchové erozi je rychlost přímo úměrná velikosti vnějšího povrchu.

K celkové erozi dochází, pokud jsou molekuly vody schopné pronikat do celé matrix polymeru rychleji, než probíhá eroze. Důsledkem je, že všechny molekuly polymeru mohou být hydrolyzovány a kinetika degradace/eroze je komplexnější než povrchová eroze polymerů. Většina biodegradabilních polymerů používaných při řízeném uvolňování léčiv podléhá celkové erozi, včetně velmi významných polyesterových materiálů. Podstatnou nevýhodou přípravků s celkovou erozí je omezenější možnost předpovídat erozi a snížená ochrana molekul léčiva. Přesto tyto negativní vlastnosti nebrání jejich úspěšnému využití v medicíně a ve farmacii.

#### 1.1.2.4 TERAPEUTICKÉ LÁTKY VHODNÉ PRO BIODEGRADABILNÍ SYSTÉMY

- Látky, které musí být podávány po dlouhé časové období.
- Vysoce účinné látky.
- Látky podávané v nízkých koncentracích.
- Látky s krátkým biologickým poločasem.
- Látky vyžadující vysokou kompliance pacienta.

### 1.2 BIODEGRADABILNÍ POLYESTERY

Skupina polyesterů zahrnuje všechny polymery s esterovými skupinami v hlavním polymerním řetězci. Chemické složení strukturních jednotek spojujících esterové skupiny se může značně lišit. Proto jsou polyestery rozmanitou skupinou zahrnující vše od nestálých biomedicínských maticí, až po tekuté krystaly, vlákna a tepelně odolné materiály. Polyestery byly historicky první skupinou syntetických polykondenzačních polymerů a byly objeveny v roce 1930<sup>8</sup>. Všechny polyestery jsou v podstatě odbouratelné, jelikož mají v hlavním řetězci hydrolyticky štěpitelné esterové vazby. V praxi budou v průběhu času degradovat jen alifatické polyestery s přiměřeně krátkými methylenovými segmenty mezi esterovými vazbami. Tyto alifatické polyestery degradují chemicky (hydrolytickým rozštěpením esterových vazeb hlavního řetězce), působením enzymů a v biologickém prostředí často kombinací těchto dvou procesů<sup>9</sup>. Štěpení řetězce vede ke vzniku koncových karboxylových skupin, které díky jejich kyselému charakteru budou zvyšovat rychlost další hydrolýzy. Tento mechanismus je označován jako autokatalýza. Alifatické polyestery jsou vlivem jejich přirozené degradability velmi zajímavé pro aplikace týkající se životního prostředí, např. obalová technika, jednorázové předměty a zemědělské mulčovací fólie. Omezujícím faktorem alifatických polyesterů pro toto využití je jejich vyšší cena ve srovnání s polyethyleny. Pro snížení nákladů na materiál byly navrženy směsi polyesterů a plniv. Tato plniva jsou odvozena od rozšířených přírodních materiálů, jako jsou škrob nebo pšeničný lepek. Malá kompatibilita mezi plnivem a polyesterovou maticí zhoršuje mechanické vlastnosti tohoto materiálu. Degradabilní polyestery nachází uplatnění také v biomedicínských aplikacích, ve kterých jsou potřebné dočasné pomocné prostředky, např. chirurgické šicí nitě, kostní svorky, hřeby, šrouby, stenty, výztuhy a matrice pro uvolňování léčiva. Vhodní kandidáti pro uvolňování léčiva

musí být nejen biodegradabilní, ale také biokompatibilní, s dobrou zpracovatelností, možností sterilizace a dostatečně dlouhou dobou použitelnosti.

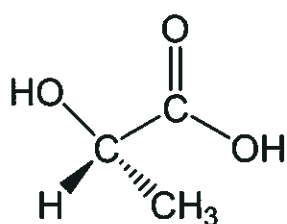
## 1.2.1 POLYMERY A KOPOLYMERY KYSELINY MLÉČNÉ

Kyselina mléčná je organická kyselina, která se vyskytuje v mnoha přírodních produktech. První zmínky o izolování kyseliny mléčné z mléka jsou již od roku 1780. Polymery složené z kyseliny mléčné byly nestabilní ve vlhkém prostředí, a proto se do roku 1960 nevyžívaly, později se díky této vlastnosti začaly používat v medicíně<sup>10</sup>. Během posledních dvou desetiletí našly široké uplatnění v různých oborech.

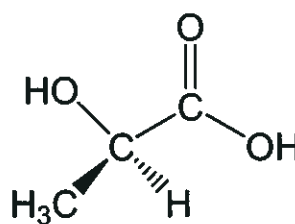
### 1.2.1.1 KYSELINA MLÉČNÁ

Kyselina mléčná (2-hydroxypropanová) je jedna z nejmenších opticky aktivních molekul, která může být ve formě L(+) a D(-) stereoizomeru (Obr. 1). V přírodě je produkována zvířaty, rostlinami a mikroorganismy<sup>11</sup>.

Obr. 1: Stereoizomery kyseliny mléčné<sup>11</sup>.



L-mléčná kyselina



D-mléčná kyselina

L-stereoizomer kyseliny mléčné se nachází u savců a oba stereoizomery se vyskytují v baktériích. Kyselina mléčná je syntetizována z pyruvátu v dehydrogenázou katalyzované reakci, ve které je poměr D- a L-stereoizomerů stanoven specificitou dehydrogenázy. Produkce kyseliny mléčné fermentací využívá pokud možno skupinu mléčných bakterií schopných konvertovat hexózy na kyselinu mléčnou. Kyselina mléčná může být připravena také jinými druhy bakterií, houbami nebo kvasinkami. Mléčné bakterie mohou produkovat D-stereoizomer nebo oba stereoizomery, právě tak i různé vedlejší produkty. Fermentace může být prováděna v dávkách nebo kontinuálními postupy. Důležitými parametry fermentace jsou pH, teplota, atmosféra a v některých případech také míchání.

Výhodou kontinuální fermentace je její vysoká produktivita. Kyselina mléčná získaná fermentací musí být oddělena od fermentační pudy a ve většině případů musí být čištěna, aby byla použitelná pro polymerizaci. Používá se řada odlišných postupů a kombinací. Tradiční proces pro výrobu vysoce čisté kyseliny mléčné zahrnuje neutralizaci zásadou s následnou filtrací, koncentrováním a acidifikací<sup>12</sup>. Za účelem dalšího čištění kyseliny mléčné může být proces výroby kombinován se separačními technikami, jako jsou ultrafiltrace, nanofiltrace, elektrodialýza a iontoměničové procesy.

Nejznámější společnosti zabývající se výrobou polymerů z kyseliny mléčné jsou uvedeny v Tab. 1<sup>13</sup>.

**Tab. 1: Přehled společností vyrábějících polymery z kyseliny mléčné nebo laktidů<sup>13</sup>.**

Firma	Stát
Apack AG	Německo
Boehringer Ingelheim	Německo
Dow Cargill	USA
Durect Corporation	USA
Fortum Oyj	Finsko
Galactic	Belgie
Hycail	Nizozemí
Mitsui Chemicals	Japonsko
Phusis	Francie
Purac	Nizozemí
Shimadzu Corporation	Japonsko

Zpracování a zpracovatelnost polymerů z kyseliny mléčné je spojena s řadou vlastností materiálu. Syntéza v tavenině je značně závislá na tepelné stabilitě i na chování polymeru při tavení a krystalizaci. Rozpouštění a mísení je spojeno hlavně s parametry rozpustnosti složek v aktuálním systému polymeru a rozpouštědla. Extruze taveniny polymeru je obvykle spojena s následujícím výrobním krokem, např. tvarování za tepla, vstřikové lití, dloužení vláken, vyfukování filmu. Vlastnosti polymeru budou proto záviset na specifických podmínkách během druhého výrobního kroku (gradient rychlosti, teplota) a na specifických požadavcích výsledného produktu (pevnost, degradabilita). Bez ohledu na typ použitého druhotného procesu budou stále hlavními kritickými parametry během tavení teplota, doba zahřívání, obsah vlhkosti v polymeru a atmosféra. Hlavním problémem při výrobě polylaktidových produktů je omezená tepelná stabilita během

procesu tavení. Pokud se polymery obsahující esterové vazby vystaví teplu (dokonce i po krátký čas), mají sklon k degradaci na menší molekuly<sup>14</sup>.

### **1.2.1.2 SYNTÉZA POLYMERŮ KYSELINY MLÉČNÉ**

Je řada různých způsobů klasifikace polymerních materiálů podle mechanismu polymerizace, výrobních technik, specifických vlastností, použití nebo struktury. Struktura polymeru je ve vztahu s typem a uspořádáním opakujících se jednotek, ale také i s typem větvení (lineární, větvené, hřebenovité, hvězdicovité nebo zesítěné).

#### **1.2.1.2.1 POLYKONDENZACE**

První polymery z kyseliny mléčné, které jsou tvořeny hlavně laktylovými jednotkami, byly polymerizovány polykondenzací. Tento typ může být složený z kyseliny mléčné kombinované s jinými hydroxykyselinami nebo pouze z jednoho stereoizomeru, nebo se jedná o kombinaci D- a L-mléčných jednotek v různých poměrech. Nevýhodou přímé polykondenzace je získání polymeru s nízkou molekulovou hmotností a s nestandardními mechanickými vlastnostmi pro řadu aplikací. V posledních letech bylo dosaženo některých pokroků a polymery s vysokou molekulovou hmotností byly získány sekvenční polykondenzací na mezifázi tuhé a kapalné fáze<sup>15</sup>. V jiných postupech byl problém překonán polykondenzací kyseliny mléčné přímo na vysokomolekulární polymer pomocí ovlivnění rovnováhy mezi kyselinou mléčnou, vodou a polymerem v organickém rozpouštědle, nebo byla použita polyfunkční větvicí příměs, která vede ke hvězdicovitým polymerům. Kyselina mléčná může být také polykondenzována v přítomnosti bifunkčních monomerů na telechelické prepolymery. Telechelické prepolymery mohou být dále spojeny použitím spojovací molekuly (diizokyanát nebo bisaminoeter) za vzniku vysokomolekulárních polymerů. Tyto polymery vykazují velmi podobné chování jako polymléčné homopolymery připravené polymerizací za otevření kruhu<sup>16</sup>.

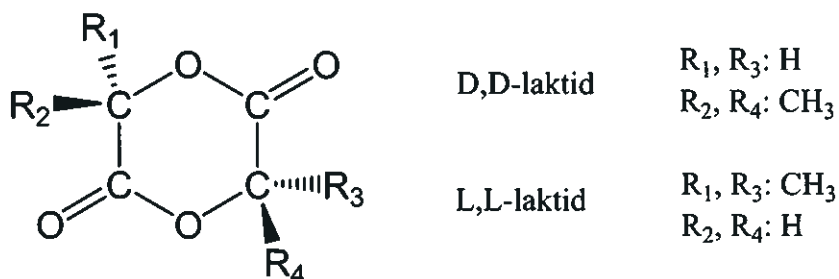
#### **1.2.1.2.2 POLYMERIZACE ZA OTEVŘENÍ KRUHU**

Další skupinou polymerů z kyseliny mléčné jsou polymery připravené polymerizací za otevření kruhu. Jedná se o nejčastěji zkoumané polymery pro možnost přesného řízení chemických vlastností a vlastností výsledných polymerů. Polymerizace za otevření kruhu zahrnuje polykondenzaci kyseliny mléčné následovanou depolymerizací na bezvodý cyklický dimer, laktid (3,6-dimethyl-1,4-dioxan-2,5-dion), který může být polymerizován



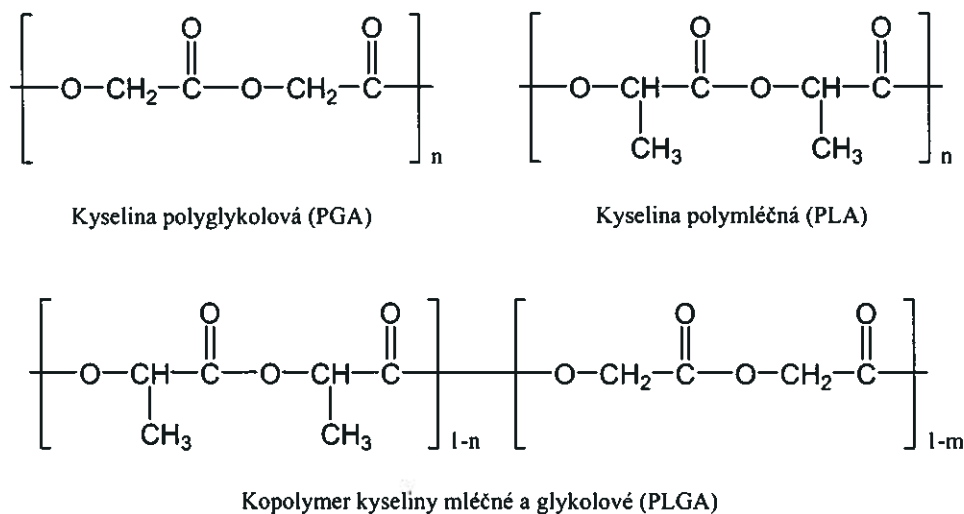
za otevření kruhu na polymery s vysokou molekulovou hmotností. Díky dvěma stereoformám kyseliny mléčné může být odpovídající opticky aktivní laktid ve dvou různých formách D,D-laktid a L,L-laktid (Obr. 2). Navíc laktid může být tvořen z jedné D- a jedné L-molekuly kyseliny mléčné za vzniku D,L-laktidu<sup>11</sup>. Struktura kyseliny polymléčné je zobrazena na obr. 3<sup>17</sup>.

**Obr. 2: Stereoformy laktidu<sup>11</sup>.**



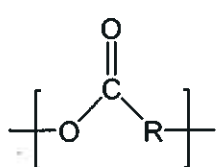
Základním polymerem ve skupině je homopolymer z jednoho laktidového stereoizomeru. Ostatní polymery ve skupině jsou kopolymery laktidů odlišných stereoform, jejichž kombinace značně ovlivňují vlastnosti polymeru. Příprava polymerů z kyseliny mléčné polymerizací za otevření kruhu byla úspěšně provedena prostřednictvím polymerizace v roztoku, polymerizace v tavenině, blokové polymerizace, suspenzní polymerizace<sup>18</sup>. Mechanismus polymerizace může být iontový, koordinační nebo volně radikálový v závislosti na použitém katalyzátoru. Jako katalyzátory slouží sloučeniny cínu, hliníku, olova, zinku, bismutu, železa a yttria.

**Obr. 3: Struktura kyseliny polyglykolové, polymléčné a kopolymeru kyseliny mléčné a glykolové<sup>17</sup>.**



Několik jiných monomerů tvořících kruh může být také inkorporováno do polymeru z kyseliny mléčné polymerizací za otevření kruhu. Nejčastěji užívanými komonomery jsou glykolid (1,4-dioxan-2,5-dion),  $\epsilon$ -kaprolakton (2-oxeapanon) a cyklické komomery  $\delta$ -valerolakton (2-pyranon), 1,5-dioxepan-2-on (DXO) a trimethylenkarbonát (1,3-dioxan-2-on) (TMC) (Obr. 4). Jednotky komonomeru mohou být uspořádány v blokových sekvencích nebo se vyskytují náhodně. Konverze a distribuce komonomerů je závislá na reakčních poměrech komonomerů a podmínkách polymerizace. Velké rozdíly v reaktivitě monomerů obecně vedou ke kopolymeru s blokovou mikrostrukturou<sup>19</sup>.

**Obr. 4: Přehled nejčastěji užívaných komonomerů<sup>19</sup>.**



R: $-\text{CH}_2-$	poly(glykolid)
$-(\text{CH}_2)_4-$	poly( $\delta$ -valerolakton)
$-(\text{CH}_2)_5-$	poly( $\epsilon$ -kaprolakton)
$-\text{O}(\text{CH}_2)_3-$	poly(trimethylenkarbonát)
$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$	poly(1,5-dioxepan-2-on)

Kopolymeru z kyseliny mléčné mohou být připraveny také použitím jiných molekul obsahujících specifickou funkční strukturu. Mnoho z těchto kopolymerů má komplexní strukturu a unikátní vlastnosti. Příklady tohoto typu kopolymerů jsou větvené kopolyestery a roubované kopolymeru.

### 1.2.1.3 VLASTNOSTI POLYMERŮ KYSELINY MLÉČNÉ

Fyzikální vlastnosti ovlivňují pevnost polymeru, jeho schopnost být použit pro systémy s řízeným uvolňováním a mohou ovlivňovat hydrolyzu a stupeň biodegradace polymeru.

#### 1.2.1.3.1 TERMOFYZIKÁLNÍ VLASTNOSTI

PLA polymer může existovat v opticky aktivní formě (PLLA) a v opticky neaktivní formě (PDLLA). Zjistilo se, že přírodní PLLA je pro vysokou pravidelnost polymerních řetězců semikrystalický polymer s teplotou skelného přechodu ( $T_g$ ) okolo 55 °C a teplotou tání ( $T_m$ ) okolo 180 °C. Polymery připravené z D,L-laktidu jsou amorfni díky nepravidelnostem v polymerní struktuře, ale použitím stereoselektivního katalyzátoru byly získány polymery s dostatečně vysokou takticitou pro krystalizaci. Teplota tání a stupeň

krystalinity jsou závislé na molární hmotnosti a čistotě polymeru. Je zjištěno, že optická čistota nejméně 72-75 % odpovídá přibližně 30 izotaktickým laktylovým jednotkám a je nezbytná k tomu, aby proběhla krystalizace. Použitím stereoselektivního katalyzátoru byly připraveny semikrystalické polymery D,L-laktidu. Teplota tání PDLLA polymeru připraveného použitím racemického katalyzátoru je 191 °C<sup>20</sup>. Stereokomplexy poprvé popsal Ikada, když zjistil, že teplota tání směsi PLLA a PDLA je přibližně o 50 °C vyšší v porovnání s polymery z čistých enantiomerů<sup>21</sup>.

Z triblokových kopolymerů PLA-PEG-PLA s PLA bloky složenými z D- nebo L-laktidu byly připraveny stereokomplexy sloužící jako nosiče pro uvolňování proteinů<sup>22</sup>. Velký vliv na tepelné a mechanické vlastnosti kopolymerů má délka laktylové sekvence<sup>23</sup>. Pokud bylo použito síťovadlo v koncentraci 1,5 mol%, došlo u PLLA homopolymeru ke snížení teploty tání o 10 °C. Laktidy byly také roubovány na hydrofilní polymery pro přípravu hydrogelů s fyzikálním zesílením<sup>24</sup>. Stupeň krystalinity a teplota tání PLA polymerů může být snížena náhodnou kopolymerizací s jinými komonomery. Dochází k inkorporaci jednotek, které narušují schopnost krystalizace poly(laktidových) segmentů. Mezi nejčastěji používané komonomery patří glykolid, ε-kaprolakton, δ-valerolakton, TMC a DXO. Teplota skelného přechodu PLA kopolymeru s 28 % DXO byla snížena o 35 °C v porovnání s čistou PLLA a krystalinita byla také podstatně nižší<sup>25</sup>. Kopolymer L-laktidu a ε-kaprolaktonu 50/50 má  $T_g$  -15 °C a nízký stupeň krystalinity. Během skladování kopolymeru dochází ke krystalizaci laktylových sekvencí a vlivem toho dochází ke zvýšení stupně krystalinity. Kopolymery kyseliny mléčné a glykolové (PLGA) mají  $T_g$  vyšší než 37 °C, a proto jsou při fyziologické teplotě sklovité.  $T_g$  PLGA kopolymerů se snižuje s poklesem obsahu kyseliny mléčné v kopolymeru a se snížením jejich molekulové hmotnosti. PLGA připravené z PLLA a PGA jsou krystalické kopolymery, zatímco připravené z PDLLA a PGA jsou amorfní. Zjistilo se, že PLGA obsahující méně než 70 % glykolové kyseliny je amorfní. Samotná PGA je krystalická látka, má  $T_m$  225 °C a  $T_g$  35 °C. V porovnání s jinými biodegradabilními polymery má vysoký podíl krystalické fáze, který se pohybuje v rozmezí 35–75 %<sup>26</sup>.

#### **1.2.1.3.2 ROZPUSTNOST**

Rozpuštěnost polymerů z kyseliny mléčné závisí na molární hmotnosti, stupni krystalinity a na komonomerních jednotkách v kopolymeru. Dobrymi rozpouštědly pro enantiomerně čisté poly(laktidy) jsou chlorovaná nebo fluorovaná organická rozpouštědla, dioxan, dioxolan a furan. Poly(D,L-laktidy) jsou kromě zmiňovaných rozpouštědel

rozpuštěné taky v acetonu, pyridinu, ethyllaktátu, tetrahydrofuranu, xylenu, ethylacetátu, dimethylsulfoxidu, N,N-dimethylformamidu a methylethylketonu. Polymery kyseliny mléčné jsou nerozpustné ve vodě, alkoholech (methanol, ethanol, propylenglykol), nesubstituovaných uhlovodících (hexan, heptan)<sup>27,28,29</sup>. Přehledně zpracováno v Tab. 2.

**Tab. 2: Rozpuštěnost polymerů a kopolymerů z kyseliny mléčné<sup>27,28,29</sup>.**

Rozpouštědlo	Typ polymeru			
	PLLA	PDLLA	PLLGA	PLLA-PCL
isopropyleter	○	○	-	○
cyklohexan	○	○	○	-
xylén	■	●	-	-
ethylacetát	■	●	-	-
tetrahydrofuran	■	●	-	●
chloroform	●	●	●	●
methylethylketon	■	●	-	-
furan	●	●	-	-
aceton	■	●	○	-
1,4-dioxan	●	●	-	-
ethylaktát	-	●	-	-
1,3-dioxolan	●	●	-	-
pyridin	●	●	-	-
dimethylsulfoxid	■	●	-	-
N,N-dimethylformamid	-	●	-	-
ethanol	○	○	-	○

● - polymer se rozpouští, ○ - polymer se nerozpouští, ■ - polymer bobtná

#### 1.2.1.3.3 MÍŠITELNOST S JINÝMI POLYMERY

Mísení polymerů je metoda, jak získat vlastnosti, které jednotlivé polymery nemají a je často používána pro polymery z kyseliny mléčné. Mísení PLA s jinými polymery poskytuje možnost změnit rychlost degradace, permeabilní vlastnosti, profil uvolňování léčiva, tepelné a mechanické vlastnosti. Aby byly získány požadované vlastnosti, měly by být polymery mísitelné, takže by nemělo docházet k fázové separaci. Mnohé směsi PLA jsou nemísitelné nebo částečně mísitelné a mohou vyžadovat některý typ kompatibilizéru. Příkladem nemísitelných směsí je směs PLA a PCL. Pro zlepšení mísitelnosti byly jako kompatibilizéry použity PLA-PCL kopolymery<sup>30</sup>, nebo byla směs připravena přímo s PLA-PCL polymerem<sup>31</sup>. Byly studovány směsi PLA s polyvinylacetátem<sup>32</sup>, polyvinylchloridem<sup>33</sup>, polyethylenem<sup>34</sup>, polyethylenoxidem<sup>35</sup> a jejich kopolymery<sup>36</sup>, polyethylen-glykolem<sup>37</sup>, polyakryláty<sup>38</sup> a silikáty<sup>39</sup>.

#### 1.2.1.3.4 MECHANICKÉ VLASTNOSTI

Mechanické vlastnosti polymerů z kyseliny mléčné se mohou pohybovat od měkkých, elastických a plastických materiálů až po tuhé materiály s vysokou pevností. Pokud jsou požadovány vyšší mechanické vlastnosti, je preferována semikrystalická PLA před amorfním polymerem. Semikrystalická PLA má přibližně modul tažnosti 3 GPa, pevnost v tahu 50-70 MPa, modul ohybu 5 GPa, pevnost v ohybu 100 MPa<sup>40</sup>. Rozdílné faktory, jako molární hmotnost, stupeň krystalinity a složení polymeru, mají významný vliv na mechanické vlastnosti polymeru. Je dokázáno, že došlo ke zvýšení pevnosti v tahu a modulu tažnosti PLLA, pokud průměrná molární hmotnost vzrostla z 50 na 100 kg/mol. Další zvýšení na 300 kg/mol již nijak významně neovlivnilo vlastnosti polymeru. Mechanické vlastnosti polymerů s podobnými molárními hmotnostmi, které byly připraveny různými druhy polymerizace (polykondenzace nebo polymerizace za otevření kruhu), se neliší<sup>41</sup>.

Spřádání vláken bylo použito za účelem zvýšení modulu tažnosti a pevnosti v tahu PLLA a jejich směsí nebo kopolymerů s PDLA a PCL. Spřádání vláken z taveniny polymerů z kyseliny mléčné je spojeno s drastickou tepelnou degradací. Snížení molární hmotnosti během tohoto procesu dosahuje u kopolymeru L-laktidu a  $\epsilon$ -kaprolaktonu 80/20 až 70 %. Stejný polymer připravený spřádáním vláken z roztoku měl třikrát vyšší pevnost v tahu než ten, který byl připraven spřádáním vláken z taveniny. To může být vysvětleno menší degradací polymeru během procesu zpracování roztoku<sup>42</sup>.

Bylo pozorováno, že mechanické vlastnosti PLLA-PCL vzrostou při skladování za pokojové teploty. Je to způsobeno krystalizací laktylových sekvencí v kopolymeru v důsledku tvorby blokové mikrostruktury. Polymerizací při různých teplotách byly připraveny PLLA-PCL kopolymery s různou délkou monomerní sekvence. Polymery připravené při 80 °C vykazovaly vyšší pevnost v tahu a menší prodloužení než kopolyestery připravené při 110 °C. Předpokládá se, že struktura polymeru připraveného při 110 °C je nepravidelnější. PLLA s vysokou molární hmotností má dostatečnou pevnost pro použití jako nosného materiálu v medicínských aplikacích, ale pomalu degraduje v důsledku zpevnění krystalických oblastí<sup>43</sup>. Krystalinita může být snížena kopolymerizací s D-laktidem a vznikne amorfni PDLLA s rychlejší degradací<sup>44</sup>. Jacobsen našel lineární závislost mezi zůstatkem laktidu v PLLA a pevností v tahu při konverzích monomeru převyšujících 90 %. Pokud polymer obsahoval 10 % zbytkového laktidu, byla pevnost v tahu PLLA o 15 % nižší než u PLLA s 97 % konverzí<sup>45</sup>. PLGA kopolymery mají dosti

rigidní strukturu řetězce, což jim poskytuje významnou mechanickou odolnost. Samotná PGA má vysokou pevnost a zároveň velkou elasticitu<sup>46</sup>.

#### **1.2.1.3.5 TEPELNÁ STABILITA**

Tepelná stabilita alifatických polyesterů je celkově omezená. Polymery z kyseliny mléčné mají při zvýšených teplotách malou tepelnou stabilitu. Kinetika tepelné degradace polylaktidu je prvního řádu. Při tepelné degradaci polymerů z kyseliny mléčné se mohou uplatnit reakce jako termohydrolyza<sup>47</sup>, zipová depolymerizace<sup>48</sup>, termooxidační degradace<sup>49</sup> a transesterifikace<sup>48</sup>. Je známo, že aromatické polyestery podléhají termohydrolyze díky schopnosti pohlcovat vlhkost. Mezi velmi hygroskopické látky patří poly(D,L-laktid).

Jiné studie prokázaly, že míra tepelné degradace u PLLA závisí na přítomnosti katalyzátoru a zvláště na jeho koncentraci. Důležitým mechanismem při degradaci polylaktidu v přítomnosti katalyzátoru (i v malé koncentraci) je zipová depolymerizace polymeru<sup>48</sup>. Přečišťování polymeru, za účelem snížení obsahu katalyzátoru, způsobuje zpomalení tepelné degradace. Odstraní se nejen volný katalyzátor, ale také zbytkový monomer a další nečistoty, které mají vliv na tepelnou stabilitu. Pro kondenzační polymery s teplotou nad a blízko jejich teploty tání jsou typické inter- a intramolekulární transesterifikační reakce, včetně acidolýzy a alkoholýzy. Studie kinetiky prokázaly, že mechanismus transesterifikačních reakcí je asociační typ mechanismu, u kterého štěpení a vytváření vazeb nastává současně. Výměnné reakce u polyesterů jsou rychlé při teplotě tání polymeru, ale probíhají také pod touto teplotou<sup>50</sup>.

#### **1.2.1.3.6 STABILITA PŘI OZÁŘENÍ**

Již v 60. letech studoval D'Alelio účinky ozáření u alifatických polyesterů. Účinky byly hodnoceny měřením vnitřní viskozity a byl vyvozen závěr, že během ozáření alifatických polyesterů vzrostl poměr zesítní/štěpení v závislosti na zvýšení poměru  $-CH_2-$ / $-COO-$  v hlavním řetězci. U polylaktidů dochází při dávkách pod 250 kGy ke štěpení řetězce. V normální i v inertní atmosféře dochází při vyšších dávkách ke zvýšení zesítní, které závisí na dávce ozáření<sup>51</sup>. Ozáření vyvolává reakce v amorfní fázi polymeru, proto se bude účinek radiace lišit u poly(D,L-laktidu) a poly(L-laktidu). Ozáření polyglykolidu způsobuje snížení molární hmotnosti, ale také téměř stejný stupeň zesítní i rozštěpení. Vlivem záření dochází k odejmutí vodíku z methylenové skupiny, což vede ke vzniku

radikálu nebo snížení počtu esterových vazeb štěpením řetězce.  $\gamma$ -záření v dávce 2,5 Mrad  $^{60}\text{Co}$  způsobuje zhoršení kvality stehů Dexonu a Vicrylu<sup>52</sup>.

U vláken z PGA dochází se vzrůstající dávkou  $\gamma$ -záření k rapidnímu snížení molekulové hmotnosti, snížení pevnosti v tahu a urychlení začátku hydrolytické degradace. Ozářená vlákna PGA degradují *in vivo* daleko rychleji než vlákna neozářená. Tento rozdíl se může týkat snížení molekulové hmotnosti ozářených vzorků. Bylo zjištěno, že rychlost snížení molekulové hmotnosti byla výraznější pro  $M_n$  v porovnání s  $M_w$ , což naznačuje, že primárním mechanismem nebylo náhodné štěpení řetězců. Rychlejší snížení  $M_n$  vede k závěru, že vliv radiace byl větší u krátkých molekulových řetězců. Hlavním mechanismem bylo pravděpodobně rozpojení řetězců<sup>53</sup>.

Kopolymery laktidu a glykolidu (PLGA) podléhají během ozáření degradaci závislé na dávce záření. Ozáření PLGA má za následek tvorbu radikálů na uhlíkovém atomu vedle esterové skupiny nebo snížení počtu esterových vazeb. Radikály tvořené v laktidových jednotkách jsou stabilnější než radikály tvořené v jednotkách glykolidových. Radiace snížila pevnost v tahu a čas před začátkem hydrolytické degradace u vláken z kopolymerů laktidu a glykolidu<sup>53</sup>.

Životnost a vlastnosti PLA a PGA mohou být významně ovlivněny radiací, přestože nemusí být patrné okamžité viditelné změny.

#### 1.2.1.3.7 HYDROLYTICKÁ STABILITA

Hydrolýza polymerů vede k fragmentaci molekuly a může být považována za obrácenou polykondenzaci. Tento proces může být ovlivněn různými faktory, jako jsou chemická struktura, molární hmotnost a její distribuce, čistota, morfologie, tvar vzorku a stejně tak i podmínkami, při kterých hydrolýza probíhá. Hydrolytická degradace polymerů z kyseliny mléčné je jev, který je v některých situacích nežádoucí, např. během výroby nebo skladování, ale prospěšný v jiných, např. prostředky zdravotnické techniky nebo rozložitelné obaly. Hydrolýza alifatických polyesterů začíná fází příjmu vody s následujícím hydrolytickým štěpením esterových vazeb náhodným způsobem podle Floryho zákona (všechny vazby mají stejnou reaktivitu). Počáteční stupeň krystalinity polyesterů ovlivňuje rychlost hydrolytické degradace, protože krystalické segmenty snižují permeaci vody v matrici. Amorfni části polyesterů podléhají hydrolýze dříve než krystalické oblasti v důsledku příjmu vody. První stupeň hydrolytické degradace je proto lokalizován v amorfních oblastech, ve kterých jsou hydrolyzovány molekulové fragmenty, které propletením spojují krystalické bloky. Zbývající nedegradované segmenty řetězce,

proto získají více místa a pohyblivosti, jenž vede k přeskupení polymerních řetězců a zvýšení krystalinity. Rychlost hydrolytické degradace značně ovlivňuje teplota. Při vyšších teplotách roste rychlost hydrolýzy, ale také, pokud je teplota nad teplotou skelného přechodu, se zvyšuje flexibilita polymeru. Hydrolytická degradace homo- a kopolymerů polylaktidu je homogenní. V druhém stupni hydrolýzy vede hydrolytická degradace krystalických oblastí polyesteru ke zvýšení rychlosti hmotnostního úbytku a nakonec ke kompletní resorpci<sup>54</sup>.

Li a Garreau popsali, že degradace ve vodném prostředí u vzorku z polylaktidu probíhá rychleji ve středu matrice. Vysvětlením je autokatalytický efekt v důsledku zvýšení množství nízkomolekulárních látek s koncovými karboxylovými skupinami. Tyto látky nejsou schopny proniknout vnější vrstvou matrice. Kdežto degradační produkty ve vrchní vrstvě jsou kontinuálně rozpouštěny v okolním pufu<sup>44</sup>. Čas resorpce homopolymerů L-laktidu je v intervalu od několika měsíců pro nízkomolekulární filmy z poly(L-mléčné) až po 50-60 let pro orientovaná vlákna. Důvodem odlišností ve stabilitě může být čistota polymeru, molární hmotnost a její distribuce, krystalinita a orientace<sup>55</sup>. Nedávno bylo prokázáno, že typ systému iniciátor/katalyzátor významně ovlivňuje příjem vody a rychlost hydrolytické degradace, a to díky rozdílům v hydrofilních vlastnostech použitých iniciátorů a katalyzátorů<sup>56</sup>.

Hydrolýza poly(D,L-laktidu) je pro nepřítomnost krystalických oblastí rychlejší, díky rychlejšímu příjmu vody<sup>44</sup>. PLGA kopolymery obsahující mléčnou a glykolovou kyselinu v poměru 50:50 jsou hydrolyzovány mnohem rychleji než kopolymery obsahující vyšší poměr jednoho ze dvou monomerů<sup>26</sup>. Doba degradace PGA se pohybuje v horizontu týdnů<sup>53</sup>.

#### **1.2.1.3.8 STABILITA V BIOLOGICKÉM PROSTŘEDÍ**

Biodegradace je definována jako postupné odbourávání materiálu zprostředkované specifickou biologickou aktivitou. Tento proces může být iniciován a udržován enzymy nebo mikroorganismy, zahrnuje reakce jako hydrolýza a oxidace, které mají za následek fragmentaci molekul. Biopolymery (polysacharidy a bakteriální polyhydroxyalkanoáty) jsou ochotně degradovány mikroorganismy. Williams studoval degradaci PLLA v přítomnosti různých enzymů a došel k názoru, že pronáza, proteináza K a bromelain značně ovlivňují rychlost hydrolýzy, kdežto vliv ficinu, esterázy a trypsinu je menší<sup>57</sup>. Torres popsal ve své práci schopnost mikroorganismů využít jako zdroj uhlíku polymery z kyseliny mléčné. Jednalo se o *Fusarium moniliforme* a *Penicillium roqueforti*, které byly



schopné asimilovat hydrolyzované polymery D,L-laktidu a jeden kmen *Fusarium moniliforme* byl schopný asimilovat kopolymery D,L-laktidu a glykolidu<sup>58</sup>. V porovnání s abiotickou degradací bylo pozorováno významné zvýšení degradační rychlosti u poly(L-laktidu) během degradace v přítomnosti smíšené kultury mikroorganismů<sup>59</sup>.

Karjomaa studoval vliv molární hmotnosti v rozsahu 0,26 až 2,88 kg/mol na biodegradaci PLLA. Degradace se snižovala s růstem délky řetězce a probíhala poněkud rychleji v živém prostředí<sup>60</sup>. Cai studoval u PLLA vliv morfologie a stárnutí polymeru na enzymatickou degradaci. Zjistil, že morfologické změny v důsledku stárnutí snižují rychlost degradace tím, že snižují mobilitu polymerních řetězců<sup>61</sup>. Polyestery, u kterých byl jako iniciátor použit sorbitol, degradují hydrolyticky v přítomnosti lipázy z *Rhizopus arrhizus*. Polyestery s větším množstvím sorbitolu degradují rychleji vlivem snížení stupně krystalinity<sup>62</sup>. Role enzymů v biodegradaci PLGA je nejasná. Většina literatury naznačuje, že biodegradace PLGA probíhá pouze pomocí hydrolýzy a nezahrnuje enzymy. Důležitým faktorem ovlivňujícím degradaci je také teplota.

### 1.2.2 POLYESTERY Z BIFUNKČNÍCH MONOMERŮ

Polyestery mohou být připraveny postupnou kondenzační reakcí z bifunkčních monomerů, jako jsou dioly a dvojsytné kyseliny. Použitím polyfunkčních monomerů mohou být připraveny vysoce rozvětvené, dendritické, hvězdicovité a zesítěné polyestery s odlišným prostorovým uspořádáním a konfigurací. Takové polyestery nachází využití v mnoha oblastech, např. agrochemie, kosmetika, léky, adheziva, katalyzátory, inkousty, tonery, lubrikanty, termoplasty, termosety, viskozifikanty<sup>9</sup>.

Všeobecným problémem spojeným s polykondenzací je obtížnost přípravy produktů s vysokou molekulovou hmotností. Jiným omezením alifatických polyesterů je jejich malá regularita, která spolu s nižší molekulovou hmotností vede k materiálům s nízkým stupněm krystalinity, omezenou pevností a oslabenými mechanickými vlastnostmi. Pro překonání těchto nedostatků a k docílení vysokých molekulových hmotností bylo navrženo syntetické prodloužení řetězce, např. dichloridem kyseliny adipové. Prodloužení řetězce je jednoduše provedeno přidáním dichloridu kyseliny adipové do roztoku předformovaného polyesteru a katalyzátoru s následnou několikahodinovou refluxí<sup>63</sup>. K prodloužení řetězce lze použít i diepoxidy<sup>64</sup> a diizokyanáty<sup>65</sup>. Alifatické homo- a kopolyestery připravené polykondenzací jednoduchých diolů a dvojsytných kyselin, např. ethylenglykol nebo 1,4-butandiol a kyselina jantarová nebo kyselina adipová nebo podobné monomery, jsou biodegradabilní.

Takové polyestery, např. polybutylensukcinát a kopolymer polybutylensukcinát-polybutylenadipát, jsou dostupné pod názvem Bionolle. Bionolle je typický semikrystalický termoplast s dobrou zpracovatelností, flexibilitou a pevností<sup>63</sup>.

Kromě umělého prodloužení řetězce byla popsána řada pokusů vedoucích ke zlepšení mechanických vlastností alifatických polyesterů. Nejčastěji se tyto snahy týkaly přidání aromatické části do struktury polymeru. Jednoduchým způsobem zavedení aromatických částí je kopolymerizace alifatických a aromatických dvojsytných kyselin s dioly. Kromě ovlivnění pevnosti struktury došlo také k ovlivnění hydrofobních vlastností a následně k výraznému snížení biodegradability<sup>66</sup>. Jiný způsob, jak zvýšit aromatický charakter polyesterů zahrnuje kopolymerizaci alifatických dvojsytných kyselin a diolů se styren glykolem. Zavedení jednotek styren glykolu do hlavního řetězce polyesteru nepřineslo žádné zlepšení mechanických vlastností, ale snížilo pevnost v tahu a stupeň krystalinity<sup>67</sup>.

Nenasycené a polyfunkční dvojsytné kyseliny jsou používány k přípravě zesíťovaných polyesterů. Kyselina jablečná je dvojsytná kyselina s hydroxylovou skupinou, která se podílí na tvorbě polyesterové sítě. Oba stereoizomery (L- a D-jablečná kyselina) spolu s dioly s různým počtem methylenových skupin slouží k přípravě biodegradabilních, opticky aktivních zesíťovaných polyesterů. Tyto polymery slouží k výrobě filmů a jsou odbouratelné v přítomnosti lipázy z *Rhizopus delemar*<sup>68</sup>.

### 1.2.2.1 POLYESTERAMIDY

Polyamidy jsou polymery s amidovou vazbou v jejich hlavním řetězci, která vznikla kondenzační reakcí diaminů s dikarboxylovými kyselinami nebo chloridy dvojsytných kyselin. Pokud jsou místo monomerů dvojsytných kyselin použity polyesterové makromery zakončené karboxylovou skupinou, vznikne polyesteramid složený z esterových bloků spojených amidovými vazbami. Polyamidy všeobecně vykazují lepší mechanickou a tepelnou odolnost než odpovídající polyestery, protože dochází k tvorbě silných vodíkových vazeb mezi amidovými vazbami jednotlivých řetězců. V porovnání s polyamidami mají polyestery lepší flexibilitu a rozpustnost, jsou náchylnější k hydrolýze a mohou být navrženy tak, aby degradovaly během určitého časového období. Kombinování polyesterových a polyamidových částí poskytuje ohromné možnosti nastavování výsledných vlastností polymeru tak, aby odpovídal požadovanému profilu, pevnosti a byl dostatečně degradabilní.

Degradace polyesteramidů probíhá v podstatě rozštěpením esterových vazeb a zanechává amidové segmenty víceméně nepoškozené. Prvotní metoda přípravy polyesteramidů se týkala výměnné reakce amid-ester mezi polyamidy a polyestery při vysokých teplotách. Tyto polyesteramidy byly připraveny z poly( $\epsilon$ -kaprolaktonů) a nylonů (polyamidů) různých délek při 270 °C v přítomnosti octanu zinečnatého. Jejich biodegradabilita byla hodnocena v médiu, které obsahovalo lipázu z *Rhizopus delemar*. Bylo pozorováno, že rychlost biodegradace klesá se vzrůstajícím obsahem nylonu<sup>69</sup>. Prvotní studie polyesteramidů obsahovaly také produkty získané z dikarboxylových kyselin, diolů a diaminů nebo dvojsytných kyselin a bisoxamidodiolů. Tato univerzální metoda týkající se kopolymerizace dvojsytných kyselin s dioly a diaminy a produkující pomalu degradující materiály, které se využívají jako resorbovatelné chirurgické pomůcky, byla později patentována<sup>70</sup>.

Aby se obešel problém omezené biodegradability, byly inkorporovány do hlavního řetězce polyesteramidů aminokyseliny. Tyto aminokyseliny zvyšují bioanalogii struktury řetězce a činí tím polyesteramidy „atraktivnější“ pro enzymy. Aminokyseliny lysin a fenylalanin byly odděleně kopolymerizovány s kyselinou adipovou a 1,2-ethandiolem za vzniku polyesteramidů degradujících prostřednictvím proteolytických enzymů<sup>71</sup>. Podobně byly připraveny polyesteramidy z 1,6-hexandiolu, kyseliny sebakové a alaninu, fenylalaninu a glycinu<sup>72</sup>.

Kombinace esterových a amidových vazeb v polymeru byla použita k přípravě polymerních proléčiv. Pro tvorbu polymerních proléčiv se osvědčily polyestery kyseliny jablečné. Volné karboxylové skupiny polyjablečné kyseliny byly kovalentně spojeny s léčivem (adriamycin) pomocí amidových nebo esterových vazeb. Cytotoxická aktivita proléčiv byla hodnocena *in vitro*<sup>73</sup>.

### 1.2.2.2 POLYESTERIMIDY

Polyimididy mají dobré elektrické vlastnosti, mechanickou pevnost a tepelnou odolnost. Nevýhodou je špatná rozpustnost v řadě organických rozpouštědel, což spolu s odolností proti vysokým teplotám zhoršuje zpracovatelnost polyimidů. Aby se obešel tento problém, byly studovány kopolymery polyesterů a polyimidů. Imidové segmenty byly inkorporovány do zesíťovaných polyesterů za účelem zvýšení tepelné odolnosti pryskyřic a laků.

Populárním výchozím materiálem pro přípravu tekutých krystalických polymerů je anhydrid kyseliny trimellitové. Anhydrid reagoval s 4,4'-diaminodifenyleterem, 6-aminokapronovou kyselinou, *p*-aminobenzoovou kyselinou nebo *m*-aminobenzoovou kyselinou za vzniku monomerů dikarboxylové kyseliny obsahujících dvě imidové skupiny. Tyto monomery byly následně polykondenzovány s bisfenolem A (4,4'-dihydroxydifenyl-2,2-propan) a vznikly polyesterimidy s vysokou tepelnou odolností a dobrou rozpustností<sup>74</sup>. Při přípravě řady termoplastických elastomerů reagoval anhydrid kyseliny trimellitové s 1,4-butandiaminem za vzniku monomeru dikarboxylové kyseliny obsahujícího dvě imidové skupiny, který byl postupně polykondenzován s 1,4-butandiolem a polytetramethylenoxidy zakončenými hydroxylovou skupinou<sup>75</sup>.

Značná spousta literatury je o polyesterimidech s chováním tekutých krystalů, ale jen pár studií je o použití těchto kopolymerů v biomedicině. Dá se to vysvětlit jejich polotuhým charakterem a odolností k biodegradaci.

### 1.2.2.3 POLYESTERURETANY

Poly- nebo oligoestery mohou být navrženy tak, že nesou hydroxylové skupiny na koncích řetězce a jedná se pak o makrodioly. Takové polyesterové dioly jsou výhodnými makromery pro přípravu polyesteruretanů. Použití alifatických polyesterových makrodiolů mělo ohromný význam v průmyslovém vývoji nových polyuretanových materiálů. Iniciační polyesteruretan připravený polykondenzací mohl být v druhém kroku prodloužen přidáním diaminy a monomery diizokyanátu. Výsledným produktem je blokový kopolymer složený z měkkých (polyesteruretan) a tuhých (polyuretanamid) segmentů. Takové polyesteruretany vykazovaly typickou dvoufázovou morfologii charakterizovanou semikrystalickou rigidní fází dispergovanou v měkké, transparentní fázi a chovaly se jako fyzikálně zesítený termoplastický elastomer. Polyesteruretany mohou být cokoli, od měkkých a tuhých pěn, až po elastomery, adheziva, povlaky, termoplasty a formovací směsi. Estany jsou typickými příklady komerčních polyesteruretanů složených z měkkých a tuhých segmentů. Nedostatek biostability estanových polymerů může být výhodou v případě přípravy porézních implantátů pro rekonstrukci poškozeného menisku<sup>76</sup>.

Polyesteruretany jsou náchylné k hydrolytické, enzymatické, oxidační, tepelné a mechanické degradaci a může dojít k selhání materiálu v dané aplikaci. Inkorporace alkylových postranních řetězců do polyesteruretanové struktury poskytla způsob, jak zvýšit hydrolytickou a tepelnou stabilitu polyesteruretanů. V poslední době byla degradabilita

polyesteruretanů přehodnocena a je považována za výhodnou vlastnost zejména u biomedicínských aplikací<sup>77</sup>.

Polymery získávané z obnovitelných zdrojů (tzv. „zelené“) jsou středem stále větší pozornosti díky narůstajícím problémům týkajících se zacházení s polymerním odpadem. „Zelené“ polyesteruretany byly připraveny z 1,3-propandiolu a kyseliny sebakové. Výsledné polyesteruretany se skládají z tuhých a měkkých segmentů a vykazují mechanické vlastnosti srovnatelné s ostatními běžně používanými termoplasty. Polyesteruretany jsou degradovány řadou mechanismů, z nichž nejdůležitějším je hydrolytické štěpení řetězce. Esterová vazba je více náchylná k hydrolyze než vazba uretanová<sup>78</sup>.

Biodegradace probíhá nejprve hydrolyzou esterových vazeb a následnou asimilací polyesterových fragmentů mikroorganismy. Uretanové segmenty nejsou bioasimilovány vůbec, proto může být rychlost biodegradace nastavena modifikováním délky a struktury esterových segmentů. Rychlost hydrolyzy závisí na permeabilitě matrice pro vodu, flexibilitě esterových segmentů a vzdálenosti mezi esterovými skupinami řetězce. Absorpce vody se liší u jednotlivých polyesteruretanů v závislosti na chemické struktuře. Pokud je matrice zesíťovaná, nezdá se být rychlost difúze vody v matrici krokem limitujícím rychlost procesu hydrolyzy. Působení mikroorganismů je úzce spojeno s vlastnostmi uvedených druhů polyesteruretanů. Bakteriální degradace je zprostředkována prostřednictvím působení exkretovaných enzymů. Kmen gram pozitivních nesporulujících bakterií štěpí esterové segmenty polyesteruretanu, ve kterých byl esterový blok složen z polyethylsukcinátu nebo polybutylenadipátu a trimethylhexamethyldiizokyanátu, methylen-4,4'-difenyldiizokyanátu, nebo byla jako uretanový blok použita kombinace trimethylhexamethyldiizokyanátu a 2-methyl-1,5-pentadiaminu. Rychlost degradace byla úzce spojena s rigiditou uretanových bloků a mobilitou polyesterového segmentu<sup>79</sup>.

Biodegradabilita polyesteruretanů je zajímavá z hlediska pohledu životního prostředí a biomedicínských aplikací. V biomedicině je používána řada materiálů na bázi polyuretanů, např. polyesteruretany, polyeteruretany a polykarbonátaretany. Rychlost hydrolytické degradace *in vivo* ovlivňuje struktura esterových i uretanových segmentů<sup>78</sup>. Tyto poznatky byly ověřeny u řady polyesteruretanů složených z methylen-4,4'-difenyldiizokyanátu, esterů kyseliny adipové (AAc) a alifatických glykolů různé délky. Čím vyšší je počet methylenových skupin v opakující se esterové jednotce, tím pomalejší je rychlost hydrolyzy. Tyto polyesteruretany z AAc jsou používány jako neadhezivní filmy zabraňující pooperačním srůstům<sup>80</sup>.

#### 1.2.2.4 POLYESTERANHYDRIDY

Polyesteranhydridy jsou polymery složené z alternujících segmentů esterových a anhydridových částí v hlavním polymerním řetězci. Esterový a anhydridový řetězec je náchylný k hydrolytickému štěpení a oba jsou široce využívány při výrobě degradabilních biomedicínských materiálů. Z nich tvořené polyesteranhydridy nabízí ohromnou flexibilitu v konstituci polymeru i v době jeho degradace. Proto byla připravena řada polyesteranhydridů pro použití jako nosiče pro uvolňování léčiv a pro jiné biomedicínské účely. Za tímto účelem byly připraveny polyesteranhydridy z *p*-hydroxybenzoové kyseliny a AAc<sup>81</sup>. Fluoroforní dvojsytná kyselina *p*-(karboxyethylformamido)benzoová a kyselina sebaková (SA) byly použity při přípravě fluorescenčních polyanhydridů. Tyto materiály mohou být použity pro přípravu fluorescenčních mikrosfér<sup>82</sup>.

Bioaktivní látka může být eventuálně součástí hlavního polymerního řetězce. Příkladem je polyesteranhydrid připravený z SA a benzylesteru kyseliny salicylové. Tento polymer působí jako polymerní proléčivo a jako degradační produkt se během hydrolyzy *in vitro* uvolňuje kyselina salicylová. Proléčivo kompletně degraduje během 3 měsíců v neutrálním pH a podstatně rychleji hydrolyzuje v alkalickém prostředí. Toto polymerní proléčivo bylo implantováno myším a implantát vykazoval dobrou biokompatibilitu a stimuloval novou tvorbu kosti<sup>83</sup>.

#### 1.2.2.5 POLYESTERETERY

Polyesteretry jsou blokové kopolymery složené z esterových a eterových segmentů. Zavedení eterových segmentů může být užitečné při modifikování mechanických vlastností nebo nastavení rychlosti degradace polyesterů. Polyesteretry tvoří dobré termoplastické elastomery. Kopolymerizací polyethylenglykolu (PEG) a polyethylentereftalátu (PET) se sníží krystalinita a vzroste hydrofilní charakter aromatického polyesteru. Důsledkem zavedení PEG bloků do PET řetězce bylo zvýšení citlivosti k hydrolyze, což vede k tomu, že polyestereter degraduje během několika měsíců. Biodegradabilní PET-PEG je vhodný pro krátkodobé biomedicínské aplikace. Stejně je to u kopolymerů z polybutylentereftalátu (PBT) a PEG. Výsledné polyesteretry s tuhými segmenty z aromatických esterů a měkkými eterovými segmenty se chovají jako termoplastické elastomery s dobrou biokompatibilitou *in vivo*<sup>84</sup>. PBT-PEG kopolymery byly zkoumány pro řadu biomedicínských aplikací včetně nosičů léčiv, kostních a kožních náhrad. Multiblokové kopolymery PBT a PEG byly použity k přípravě mikrosfér a filmů

určených k použití jako nosičů léčiv. Byly připraveny mikrosféry s řízeným uvolňováním bovinního sérového albuminu<sup>85</sup>. Z PBT-PEG multiblokových kopolymerů byly připraveny filmy a mikrosféry obsahující lysozym, jejichž profil uvolňování se blížil kinetice nultého řádu<sup>86</sup>. Kopolymerizací eterových bloků polytetramethylenglykolu s estery polyethylensukcinátu vznikly polyesterety, u kterých mohou být mechanické vlastnosti a rychlost degradace pozměňovány změnou obsahu eterových bloků. Rychlost degradace roste se zvyšováním molárního podílu polyeterových bloků<sup>87</sup>.

### 1.2.3 VYUŽITÍ BIODEGRADABILNÍCH POLYMERŮ

Biodegradabilní polymery a zvláště blokové biodegradabilní polymery jsou považovány za slibné biomateriály na základě schopnosti ovlivňovat amfifilní chování, mechanické a fyzikální vlastnosti polymerů upravením poměru základního bloku nebo přidáním nových bloků požadovaných vlastností. Tyto polymery obsahují nejméně dva odlišné polymerní řetězce, které podporují mísitelnost dvou odlišných materiálů. Řada systémů založených na biodegradabilních amfifilních blokových kopolymerech byla připravena z diblokových<sup>88</sup>, triblokových<sup>89</sup> nebo multiblokových kopolymerů<sup>90</sup>. V posledních třech desetiletích byly prováděny rozsáhlé práce směřující k syntéze požadovaných biodegradabilních blokových kopolymerů určených pro uvolňování léčiv (hydrogely, nanočástice, mikročástice, implantáty, micely). Blokové kopolymerity mohou být polymerizovány velkým množstvím dobře známých polymerizačních technik zahrnujících aniontovou, radikálovou, kationtovou polymerizaci, fotopolymerizaci, polymerizaci za otevření kruhu a Ziegler-Nattovu polymerizaci. Nejvíce používanou technikou je tzv. „living“ polymerizace (polymerizace s aktivní částicí na konci), při které lze dle požadavků nastavit molekulovou hmotnost individuálních bloků (změna poměru iniciátor/monomer), objemový podíl (změna poměru monomer/monomer) i uspořádání bloku (AB, ABA, BAB).

#### 1.2.3.1 POVRCHOVÉ MODIFIKACE

Mikročasticové systémy (mikročástice a nanočástice) jsou považovány za potenciální kandidáty pro systémy s cíleným uvolňováním léčiva. Je známo, že retikuloendotelový systém (RES) je velkou překážkou aktivního targetingu pro jeho schopnost rozpoznat mikročasticové systémy a odstranit intravenózně aplikované částice ze systémové cirkulace. Díky této schopnosti nelze dosáhnout efektivního doručení mikročastic do

orgánu. Část RES v játrech (Kupfferovy buňky) je regulována přítomností a rovnováhou mezi opsoniny, které podněcují fagocytózu a dysopsoniny, které tento proces potlačují. Prvně jmenované jsou popisovány jako ochranné látky v krvi, které se absorbují na povrch částic nebo buněk, čímž dělají cizí látky více „chutnější“ pro fagocyty<sup>91</sup>. Dle Moghimiho a Patela mohou specifické jaterní opsoniny zprostředkovat vychytávání částic pomocí slezinných makrofágů. Imunoglobulin IgA a sekreční IgA jsou dobře známé dysopsoniny. Modifikace hydrofilními polymery je nejčastěji používaná možnost, jak kontrolovat proces opsonizace a zlepšit povrchové vlastnosti systému<sup>92</sup>. Stolniková potáhla mikrosféry kopolymerem polyethylenoxid-polypropylenoxid-polyethylenoxid (PEO-PPO-PEO) a dosáhla změněné biodistribuce potažených mikročástic v porovnání s nepotaženými. Po 3 hodinách od intravenózní aplikace byla prokázána menší akumulace potažených mikročástic v játrech (přibližně 30 % z počáteční dávky) v porovnání s nepotaženými mikročásticemi (přibližně 50 %), ačkoli bylo zpozorováno u potažených mikročástic zvýšené vychytávání v plicích. Mnohem méně mikrosfér o velikosti 50-60 nm bylo v RES. Bylo tak potvrzeno, že distribuce potažených mikrosfér byla ovlivněna jejich velikostí. Byla pozorována prodloužená cirkulace potažených mikrosfér v krvi. Nepotažené mikrosféry byly rychleji eliminovány z krevního oběhu a jen 3 % z aplikované dávky byly nalezeny v krvi 1 hodinu po aplikaci, zatímco u potažených mikrosfér 60 % z aplikované dávky zůstalo v krvi. Tím bylo potvrzeno, že potažení mikrosfér blokovanými polymery je efektivní technika pro stabilní cirkulaci v krvi a menší akumulaci v RES<sup>93</sup>.

Jedním ze způsobů, jak získat biodegradabilní polymery, které umožňují povrchové modifikace, je navázání PEG řetězců na biodegradabilní polymer (PLA, PLGA)<sup>92</sup>.

### 1.2.3.2 MIKROČÁSTICE A NANOČÁSTICE

Mikro- a nanočástice jsou důležitou skupinou systémů s řízeným uvolňováním používaných v medicíně. Alifatické polyestery používané pro tyto účely jsou zajímavé díky jejich hydrolytické degradabilitě a nízké toxicitě. Mikro- a nanočástice byly připraveny přímo polymerizací za otevření kruhu nebo post-polymerizačními výrobními postupy. Nejdůležitějšími vlastnostmi mikro- a nanočástic jsou rychlost uvolňování léčiva a rychlost degradace matrice. Tyto vlastnosti jsou ovlivněny charakterem částic a vlastnostmi polymeru. Charakter částic (velikost, porozita, množství léčiva) je převážně spojen s typem léčiva a parametry výrobního postupu, např. vlastnosti rozpouštědla, rychlost míchání a teplota. Vlastnosti polymeru související s rychlostí uvolňování léčiva a



typem degradace jsou značně závislé na rozpustnosti, morfologii a stabilitě. Kopolymery z glykolidu a laktidu mají nepochybně nejvhodnější kombinaci vlastností pro použití jako matrice pro uvolňování léčiva<sup>94</sup>.

Zambaux připravil z kopolymeru  $\alpha$ -methoxy- $\omega$ -hydroxypolyethylenu (MPEO) a kyseliny mléčné (PLA) nanočástice obsahující protein C (plazmatický inhibitor regulující mechanismus koagulace krve). Částice byly 200 nm velké a jejich schopnost uzavřít protein C se snižovala se zvýšením molekulové hmotnosti z 10000 na 20000 g/mol a zvyšovala se s délkou PLA bloku. MPEO má krystalickou oblast s  $T_f$  55-60 °C a  $T_g$  -60 °C. Krystalická oblast MPEO se vyskytuje současně s amorfni oblastí PLA. Fázová separace nastávající mezi dvěma bloky během přípravy nanočástic ovlivňuje jejich morfologii a vlastnosti. Vlivem hydrofilní povahy vyčnívá MPEO na povrch částic, a proto může dojít k hydrolyze esterových vazeb mezi MPEO a PLA. Burst efekt (počáteční rychlé uvolnění léčiva) během liberace proteinu C se zvyšuje s hydrofilním charakterem kopolymeru. Avšak vlivem hydrofobního charakteru PLA v matrici MPEO-PLA nanočástic se sníží difúze vody a proteinu C a následkem toho burst efekt<sup>95</sup>.

### 1.2.3.3 PORÉZNÍ LEŠENÍ

Porézní polymerní lešení slouží jako rekonstrukční matrice pro poškozené tkáně a orgány. K dispozici je řada způsobů, jak vyrobit tyto materiály. Spousta výrobních metod zahrnuje rozpouštění polymeru a vymývání soli<sup>96</sup>. Porézní charakter polymerů na bázi PLA může být vytvořen také sublimačním sušením emulze<sup>97</sup>, látkami tvořícími pěnovou strukturu<sup>98</sup>, technikou sycení plynem za vysokého tlaku<sup>99</sup>, inverzí fází imerzním srážením<sup>100</sup>.

### 1.2.3.4 VLÁKNA

Výroba biodegradabilních vláken z alifatických polyesterů byla vyvíjena pro možné použití v medicíně. V 70. letech byl jedním z prvních komerčně dostupných vstřebatelných produktů Dexon, jedná se o polyglykolidová vlákna, která jsou používána při šití ran. Mezi vstřebatelná šicí vlákna patří také produkty z kopolymerů glykolidu a L-laktidu (Vicryl),  $\epsilon$ -kaprolaktonu (Monocryl) nebo trimethylenkarbonátu (Maxon)<sup>101</sup>. Vlákna mohou být vyrobena spřádáním z roztoku nebo taveniny a tažena za různých podmínek<sup>102</sup>. Vlákna připravená spřádáním z roztoku mají obvykle lepší mechanické vlastnosti, protože u nich nedochází k tepelné degradaci jako u vláken připravených spřádáním z taveniny<sup>42</sup>. Je

známa i výroba dutých vláken z polymerů kyseliny L-mléčné (PLLA), která slouží jako nosiče léčiv<sup>103</sup>.

### 1.2.3.5 IMPLANTÁTY TVOŘENÉ IN SITU

Tekuté přípravky vytvářející po subkutánní nebo intramuskulární aplikaci polotuhá nebo tuhá depa jsou z mnoha důvodů velmi lákavé systémy pro parenterální aplikaci. Prvním důvodem je, že aplikace je méně invazivní a méně bolestivá v porovnání s klasickými implantáty, které vyžadují lokální anestézii a malý chirurgický zásah nebo speciální typ peletového injektoru (trokar). Druhým důvodem je, že místního nebo systémového uvolňování léčiva může být docíleno po prodlouženou dobu, která se pohybuje od jednoho do několika měsíců. V posledních letech paralelně s vývojem nových proteinových léčiv roste zájem o implantáty tvořené *in situ*. Značná množství peptidů a proteinů jsou používána pro terapeutické účely, proto je nutné vyvíjet nové injekční systémy, které chrání proteiny před denaturací v tělních tekutinách a umožňují jejich postupné uvolňování. Parenterální depotní systémy mohou minimalizovat vedlejší účinky dosažením konstantní hladiny v plazmě, je to důležité zvláště u proteinů s úzkými terapeutickými indexy. Dalšími výhodami jsou snížení dávky vyplývající z omezení kolísání hladiny v plazmě a zvýšení pacientovy compliance snížením počtu aplikací. Z hlediska výroby nabízí depotní systémy vznikající *in situ* relativně jednoduchou výrobu z polymerů upravených pro tento účel. V porovnání s mikrosférami, které musí být po výrobě promyty a separovány, jsou provozní náklady spojené s výrobou depotních systémů vznikajících *in situ* nižší. První depotní systémy vznikající *in situ* obsahovaly antibiotika a byly použity pro lokální léčbu periodontálních onemocnění<sup>104</sup>. Vývojem se zabývaly firmy jako ATRIX Laboratories - produkt Eligard obsahující leuprorelin, ALZA Corporation a AP PHARMA – objev biodegradabilních polyorthoesterů s nízkou teplotou tání, které mohou být použity jako injekční termoplastické pasty. MacroMed vyvinul ABA a BAB triblokové kopolymery obsahující bloky A z PLGA a bloky B z PEG, které se používají jako gelové systémy pro parenterální aplikaci. U těchto triblokových kopolymerů je proces gelace vyvolán teplem<sup>105</sup>.

#### 1.2.3.5.1 TERMOPLASTICKÉ PASTY

Polotuhé polymery mohou být aplikovány injekčně jako tavenina a depo vzniká až po zchladnutí na tělesnou teplotu. Požadavky na tento depotní systém zahrnují nízkou

teplotu tání nebo skelného přechodu v rozmezí 25-65 °C a vnitřní viskozitu 0,05-0,8 dl/g. Při teplotě nad 37 °C, ale pod 65 °C se tyto polymery chovají jako viskózní kapaliny, které ztuhnou a vytvoří vysoce viskózní depa. Léčiva jsou vpravena do roztaveného polymeru mícháním (bez použití rozpouštědel). Termoplastické pasty umožňují lokální uvolňování léčiv (antibiotika, cytostatika) v místě chirurgického zákroku. Mohou být také použity k vytvoření subkutánního depa, z kterého pak dochází k difúzi léčiva do krevního oběhu. V souvislosti s tím byly zkoumány polyanhydridy, polykaprolaktony a ABA triblokové kopolymery PLA-PEG-PLA<sup>106</sup>. Ve všech případech došlo k pomalému uvolňování paklitaxelu. Pro urychlení uvolňování byly připraveny směsi polymeru s nízkomolekulárními látkami, jako jsou PEG, želatina nebo albumin. To vedlo k vyššímu burstu, ale ne k vyšší rychlosti uvolňování. Dalším problémem je vysoká teplota tání termoplastických past, které vyžadují pro injekční aplikaci teplotu vyšší než 60 °C. To vede k bolestivé aplikaci a nekróze tkáně v místě aplikace s následkem enkapsulace depa zjizvenou tkání, která brání v difúzi paklitaxelu. Polyortoestery (POE) jsou vhodnou skupinou polymerů pro přípravu termoplastických past. Nejvíce jsou z této skupiny zkoumány blokové kopolymery triethylenglykolu a glykolidu, které vedou k polyortoesterům s autokatalytickou degradací<sup>107</sup>. Nízkomolekulární POE mají relativně nízké teploty měknutí v rozmezí 35-45 °C, jsou biokompatibilní a zdají se být velmi vhodné, protože degradují povrchovou erozí. Nejúspěšnější skupina POE byla získána reakcí diketenacetátu a polyolu. Použitím triethylenglykolu vzniknou poněkud více hydrofilní polymery, zatímco použitím 1,10-dekandiolu mohou být získány hydrofobní materiály. Smísení polymerů s léčivem je možné při laboratorní teplotě na trojválcí a bez použití rozpouštědel. Inkorporace přibližně 20 % (hm.) PEG-monomethyleteru usnadnila injekční aplikaci polotuhých POE a není potřeba speciální vybavení (hydraulická stříkačka)<sup>108,109</sup>. Tato úplně poslední generace POE je lepší než výše uvedené polyestery z následujících důvodů: 1) nízká teplota tání v rozmezí 25-45 °C, 2) degradace povrchovou erozí, nedochází k tvorbě kyselého mikroprostředí, které není vhodné pro proteiny a DNA, 3) nepoužívají se organická rozpouštědla.

#### 1.2.3.5.2 POLYMERNÍ SYSTÉMY ZESÍTĚNÉ IN SITU

Vytvoření zesítěné polymerní sítě je výhodné pro možnost kontroly difúze hydrofilních makromolekul. Takové systémy mohou ideálně uvolňovat peptidy a proteiny po delší časový úsek. Implantáty zesítěné *in situ* je velmi náročné připravit, jelikož jsou k tomu potřebné polymery obsahující dvojné vazby a iniciace volnými radikály. Tyto dva

faktory jsou škodlivé pro živé tkáně a pro enkapsulované léčivo. Proto je nezbytná ochrana bioaktivních látek během zesítní. Toho může být dosaženo enkapsulací do rychle degradujících želatinových mikročástic<sup>110</sup>.

Zesítní thiolových funkčních skupin v různých polymerech nevyžaduje iniciaci radikály. Thioly jsou nestabilní, proto mohou být snadno oxidovány vzdušným kyslíkem na disulfidy. U polymerů rozpustných ve vodě, jako jsou např. chitosan a deacylovaná gellanová klovatina, byly imobilizovány thiolové skupiny za účelem tvorby hydrogelu *in situ*. Naneštěstí gelace nastane až po několika hodinách, což je příliš dlouho pro použití *in situ*<sup>111</sup>. Byl proto připraven nový polymer na bázi polyethylenglykolu obsahující četné thiolové skupiny. Tyto skupiny jsou zesítněny vinylsulfony tvořícími thioeterové vazby. Výsledný hydrogel (DepoGel) obsahuje více jak 90 % vody a je proto schopný zadržovat proteiny. Po subkutánní injekci polymerního hydrogelového přípravku obsahujícího erythropoetin byla hladina v plazmě udržována po dobu nejméně 2 týdnů. Bezpečnostní studie prokázaly, že gel způsobuje minimální zánětlivou reakci, když je subkutánně aplikován potkanům, králíkům a psům. Nedostatkem tohoto systému je nutnost jeho chirurgického vyjmutí po uvolnění léčiva, protože polymery nejsou biodegradabilní<sup>112</sup>.

Iontově zprostředkovaná gelace byla pozorována u alginátů a chitosanu. Algináty reagují s vápenatými ionty, chitosan s fosforečnanovými ionty. V obou případech jsou tvořeny zesítněné polymerní struktury, které obvykle nevznikají *in situ*. Koncentrace iontů dostupných za fyziologických podmínek jsou obvykle nedostatečné pro zesítní zmíněných polymerů. Pouze v oku je dostatečná koncentrace vápenatých iontů pro tvorbu alginátů *in situ*<sup>113</sup>. Byly připraveny nanočástice schopné tvorby hydrogelu v přítomnosti iontů. Tento proces probíhá za fyziologických podmínek, proto není nutné další dodání iontů a gelace nastává v důsledku kladného povrchového náboje nanočástic. Tyto nanočástice byly připraveny z nového aminem modifikovaného větveného polyesteru. Polymery jsou složeny z polyvinylalkoholového hlavního řetězce, který je modifikován aminy (diethylaminopropylamin, dimethylaminopropylamin, diethylaminoethylamin)<sup>114</sup>. Hydrofilní hlavní řetězec byl pak roubován PLGA. Modifikací stupně aminové substituce, délky bočního řetězce PLGA a intenzity roubování dochází k ovlivnění degradačního času polymeru, který může být v intervalu několika hodin, dnů až měsíců. Nanočástice s léčivem nebo bez léčiva byly připraveny metodou odstranění rozpouštědla. Léčivo bylo vpraveno do nanočástic inkorporací během přípravy (plasmid-DNA) nebo adsorpcí na povrch částic (inzulín). Tvorba hydrogelu *in situ* poskytuje příležitost opatřit depo nějakým dalším léčivem, které může vést k řízené počáteční dávce s následným postupným

uvolňováním z částic. Výsledné uvolňování léčiva závisí na degradačním profilu polymeru a elektrostatických interakcích léčiva s polymerem. Tyto faktory mohou být regulovány změnou stupně aminové modifikace a délky použitého bočního řetězce PLGA<sup>115</sup>.

#### 1.2.3.5.3 PRECIPITACE POLYMERU IN SITU

Biodegradabilní a ve vodě nerozpustný polymer je rozpuštěn v biokompatibilním organickém rozpouštědle, do kterého je přidáno léčivo a po promíchání vznikne roztok nebo suspenze. Když je tato suspenze nebo roztok injekčně aplikován do těla, dojde k rozptýlení organického rozpouštědla a penetraci vody do organické fáze. To vede k fázové separaci a precipitaci polymeru za vzniku depa v místě aplikace. Tato metoda byla poprvé vyvinuta v ATRIX Laboratories a je označena jako Atrigel technologie. Nejznámějším produktem využívajícím tuto technologii je Eligard, který obsahuje leuprolid acetát a polymer PLGA 75/25 rozpuštěný v N-methyl-2-pyrrolidonu<sup>116</sup>. Dynamika fázové inverze roztoku PLGA je komplikovaný jev ovlivněný vlastnostmi rozpouštědla, typem polymeru a jeho molekulovou hmotností. Z hlediska snížení počátečního burstu léčiva byla studována různá rozpouštědla, např. propylenglykol, aceton, dimethylsulfoxid, tetrahydrofuran a 2-pyrrolidon. Většina organických rozpouštědel je špatně tolerována a způsobuje bolest v místě aplikace. Burst léčiva přímo souvisí s dynamikou fázové inverze. Graham demonstroval, že kinetika liberace proteinu z depa je ovlivněna rozpouštěcí silou rozpouštědla a jeho mísitelnosti s vodou<sup>117</sup>. Vhodnými kandidáty pro *in situ* precipitaci jsou také hydrofobní polyestery, např. nízkomolekulární PLA.

#### 1.2.3.5.4 TEPELNĚ VYVOLANÉ GELOVÉ SYSTÉMY

Mnohé polymery vykazují náhlé změny v rozpustnosti v závislosti na teplotě prostředí. Vzorem termosenzitivního polymeru je poly(N-isopropylakrylamid), který má poměrně ostrou a nízkou kritickou teplotu rozpouštění 32 °C. Vzhledem k jeho cytotoxicitě není vhodný pro biomedicínské aplikace.

Triblokové kopolymery PEO-PPO-PEO jsou uvedeny v lékopisech jako poloxamery, nebo jsou také známy pod označením Pluronic. Roztoky tohoto polymeru o vyšších koncentracích (nad 15 % hm.) tvoří po injekční aplikaci gel. Tyto koncentrace vedou k patrné cytotoxicitě a zvyšují hladinu cholesterolu a triglycerolu v plazmě potkanů po intraperitoneální injekci<sup>118</sup>.

MacroMed vyvinul termosenzitivní biodegradabilní polymer na bázi ABA a BAB triblokových kopolymerů, kde A je označením pro hydrofobní polyesterový blok a B pro hydrofilní polyethylenglykolový blok. Nízkomolekulární polymery tohoto typu jsou rozpustné ve vodě a v závislosti na teplotě podléhají reverzibilnímu přechodu gel-sol. K vodnému roztoku (sol) polymeru PEG-PLA-PEG ( $M_w$  5000-2040-5000) je při teplotě 45 °C přidáno léčivo, následně je roztok aplikován zvířatům a při tělesné teplotě dochází k tvorbě gelu. Ze vzniklého depa se léčivo uvolňuje kontinuálně po dobu 10-20 dní. Důležitým parametrem ovlivňujícím termosenzitivitu je molekulová hmotnost<sup>119</sup>. Mezi produkty firmy MacroMed uvedené na trh patří ReGel a OncoGel. ReGel je 23 % (hm.) roztok ABA triblokového kopolymeru (PLGA-PEG-PLGA) ve fosfátovém pufru (pH 7,4) obsahující léčivo proteinového typu (inzulín). Přechod sol-gel nastává ve vodném roztoku polymeru o koncentraci 15-23 % (hm.) okolo 30 °C. Pod touto kritickou teplotou se systém chová jako newtonovská kapalina. Mechanismus termoreverzibilní gelace je odlišný pro BAB a ABA triblokové kopolymery. V obou případech jsou ve stavu solu přítomny micelární struktury. Proces tvorby gelu (tzv. gelace) je řízen entropií. Při zvýšení teploty klesá hydratace PEG řetězců, dochází ke snížení počtu vodíkových vazeb voda-polymer a zvýšení hydrofobního charakteru. Kritickými faktory těchto termosenzitivních gelových systémů jsou poměr hydrofilních (PEG) a hydrofobních (PLA/PLGA) segmentů, délka bloku, hydrofobní charakter (PCL > PLA > PLGA), polydisperzita, stereoregularita (amorfní/semikrystalický) hydrofobního bloku A. Mírné změny struktury molekuly mohou mít drastické vlivy na vlastnosti micel. Dalším faktorem, který je nutno zvážit, je použití hydrofilních léčiv u těchto gelů. Při přechodu ze stavu sol na gel dochází ke kontrakci objemu a vypuzení vodné fáze, ve které jsou hydrofilní léčiva rozpuštěna (proteiny). Tento efekt vyvolá počáteční burst léčiva a pouze proteiny spojené s lipofilním jádrem nebo v něm rozpuštěné nepodléhají tomuto efektu<sup>120</sup>.

Fyzikální a chemické vlastnosti léčiv značně ovlivňují výběr vhodných injekčních systémů tvořících se *in situ*. Lipofilní a ve vodě nerozpustná léčiva, jako jsou paklitaxel a cyklosporin A, mohou být inkorporována do kteréhokoliv uvedeného systému. Omezené použití je u hydrofilních makromolekulárních léčiv (proteiny).

#### 1.2.4 CHEMOTERAPIE A POLYMERNÍ SYSTÉMY

Léčba nádorů pomocí chemoterapeutik není vždy účinná, přispívají k tomu obtíže při doručení léčiva do nádoru, toxicita léčiva pro zdravé tkáně a stabilita léčiva v těle.

Polymerní materiály poskytují alternativní způsob pro doručení léčiv. Léčiva mohou být chráněna před degradací uzavřením (tzv. enkapsulace) v polymeru. Implantované polymerní pelety nebo injekčně aplikované mikrosféry soustředí léčivo do specifického místa a poskytují kontinuální prolongované uvolňování léčiv, čímž minimalizují systémovou expozici.

Systémově podávaná léčiva mohou působit na některé nádory, ale nejsou zvláště účinná při léčbě mnoha solidních maligních nádorů, např. nádorů v mozku nebo játrech. Charakter nádorů, jako je typ buňky a generační doba, velikost nádoru, heterogenita, umístění a vaskularita nádoru, často omezuje účinnost léčiv a ovlivňuje tím výsledek chemoterapie. V některých případech je chemoterapie zdokonalena rozpoznáním analogů léčiv s odlišnými fyzikálními vlastnostmi, jako jsou lipofilita, schopnost membránové permeace nebo syntetizováním analogů vyžadujících aktivaci uvnitř hostitelských tkání nebo podáním více léčiv.

Během posledních desítek let byly vyvinuty enkapsulační techniky, kterými byly připraveny polymerní pelety nebo mikročástice s různými léčivy. Jedná se o fyzikální zadržení aktivní látky v solidním polymeru. Tyto polymerní systémy pozvolna uvolňují enkapsulované léčivo během inkubace ve vodném prostředí nebo po implantaci do tkání a umožňují přivádět po delší dobu velké množství léčiva přímo do oblasti nádoru. Protože jsou léčiva podávána lokálně, může být systémová toxicita potenciálně minimalizována.

#### **1.2.4.1 POLYMERNÍ SYSTÉMY S LÉČIVEM**

##### **1.2.4.1.1 NEDEGRADABILNÍ POLYMERNÍ SYSTÉMY**

První polymerní systémy s řízeným uvolňováním byly tvořeny nedegradabilními polymery, hlavně silikonovými elastomery. V roce 1964 vědci zjistili, že molekuly některých barviv mohou penetrovat přes stěny silikonových hadiček<sup>121</sup>. Na základě tohoto objevu byly vyvinuty rezervoárové systémy obsahující léčivo. Jednalo se o duté polymerní trubičky plněné suspenzí léčiva. Léčivo je uvolňováno disolucí do polymeru s následnou difúzí přes polymerní stěnu, nejčastěji se jedná o silikon nebo polyethylenvinylacetát. Na této technologii je založen antikoncepční systém Norplant, který uvolňuje léčivo po dobu 5 let. Tímto způsobem mohou být uvolňována cytostatika, např. karmustin<sup>122</sup>. Pro dlouhodobé uvolňování léčiva mohou být také použity tuhé matrice z nedegradabilních polymerů. V porovnání s rezervoárovými systémy jsou jednodušší (homogenní a proto snáze připravitelné) a potenciálně bezpečnější (mechanický defekt u rezervoárových

systémů může vést k jejich vyprázdnění). Problémem tuhých matic z nedegradabilních polymerů je docílení konstantní rychlosti uvolňování léčiva, např. rychlost uvolňování karmustinu z matricového systému tvořeného polyethylenvinylacetátem kontinuálně klesá během inkubace v pufru<sup>123</sup>. V některých případech lze u homogenních matic dosáhnout konstantního uvolňování přidáním vrstev, které omezují rychlost uvolňování léčiva. Ve výsledném systému slouží jádro tvořené matricí polymeru s léčivem jako rezervoár. V jiných případech mohou být jako matrice použity zesítené a ve vodě rozpustné polymery. U těchto systémů je uvolňování aktivováno bobtnáním polymerní matrice při kontaktu s vodou<sup>124</sup>.

#### **1.2.4.1.2 BIODEGRADABILNÍ POLYMERNÍ SYSTÉMY**

Polymerní systémy tvořené biodegradabilními polymery se po implantaci rozloží a dojde k uvolnění léčiva. Nejčastěji používaným biodegradabilním polymerem je PLGA, který byl poprvé vyvinut jako absorbovatelný šicí materiál. Většina běžně používaných polymerů je odbourávána hydrolyticky, např. PLGA a polyanhydridy. Rozklad implantátu nebo mikrosféry nastane s následným pořadím kroků, které vedou k erozi materiálu. Jedná se o penetraci vody do polymeru, hydrolytickou degradaci molekul polymeru a rozklad monomerů a oligomerů. Vhodným výběrem vlastností polymeru lze kontrolovat erozi.

Biodegradabilní polymery jsou většinou používány k tvorbě systémů určených pro uvolňování léčiva (matrice, mikrosféry). Problémem při vývoji nových systémů uvolňujících léčivo je korelace rychlosti uvolňování léčiva zjištěné při laboratorním zkoušení a rychlosti uvolňování v tkáních. U biodegradabilních polymerů jsou tyto rozdíly v uvolňování způsobeny metabolismem a lokálním transportem léčiv ve tkáních a také rozdíly v rychlosti degradace polymeru po implantaci<sup>125</sup>.

#### **1.2.4.2 VYUŽITÍ POLYMERNÍCH SYSTÉMŮ PŘI LÉČBĚ NÁDORŮ**

Pokud jsou chemoterapeutika podána systémově, musí překonat řadu překážek než dosáhnou místa účinku uvnitř nádorových buněk. Molekuly léčiva musí proniknout přes kapilární stěny, mezibuněčný prostor, buněčnou membránu nádorové buňky a dorazit ke vhodnému intracelulárnímu cíli. Během tohoto procesu mohou být nestabilní léčiva spontánně nebo metabolicky eliminována a následkem toho může být koncentrace léčiva v cílové tkáni nízká. Zvýšení systémové dávky může zajistit v cílové tkáni požadovaný efekt, ale může mít za následek nežádoucí toxické účinky. Polymerní systémy mohou být



použity při poskytování lepší nebo bezpečnější chemoterapie prodloužením délky systémové terapie nebo soustředěním terapie v určité oblasti tkáně<sup>126</sup>.

#### ***1.2.4.2.1 POLYMERNÍ MIKROČÁSTICE PRO DLOUHODOBOU CHEMOTERAPII***

Konvenční léčba hormon-senzitivních karcinomů, jako jsou karcinom prsu, prostaty a endometria, vyžaduje častou injekční aplikaci hormonálních agonistů. Jedná se o injekce syntetických agonistických analogů gonadoliberinu (LH-RH), který inhibuje růst nádoru v prostatě snížením plazmatické hladiny testosteronu. Poločas LH-RH analogů v lidské plazmě je krátký (3,6 hodin po subkutánní a 2,9 hodin po intravenózní aplikaci) a je proto nutná jejich každodenní aplikace k udržení koncentrací dostatečných k potlačení produkce testosteronu. Aby došlo ke snížení frekvence aplikací, byly připraveny PLGA mikrosféry a implantáty tvaru tyčinek obsahující LH-RH analog (Lupron Depot a Zoladex). Po injekční aplikaci mikrosfér jsou hladiny testosteronu v séru sníženy po dobu 4 týdnů<sup>127</sup>. Po subkutánní nebo intramuskulární aplikaci jsou mikrosféry imobilizovány v místě vpichu. Molekuly léčiva jsou uvolňovány z imobilizovaných mikrosfér, pronikají do okolní tkáně a pak do cévního systému, který distribuuje léčivo po celém těle. Narozdíl od aplikace volného léčiva je efektivní poločas pro léčiva aplikovaná mikrosférami mnohem delší a celkové množství podaného léčiva je nižší. Prolongované systémové uvolňování se zdá být zvláště výhodné pro hormonální terapii nádorů. Příkladem jsou mikrosféry s medroxyprogesteron acetátem (MPA). MPA je androgenní steroid často používaný u žen při hormonální terapii nádoru prsu. Jediná subkutánní injekce PLGA mikrosfér s MPA inhibuje u potkanů růst i iniciaci nádoru prsu. Proto mohou být systémy s nízkou rychlostí uvolňování malých množství léčiva vhodné pro léčbu a prevenci rakoviny prsu<sup>128</sup>.

#### ***1.2.4.2.2 POLYMERNÍ IMPLANTÁTY PRO DLOUHODOBOU CHEMOTERAPII***

Nejběžnějšími nádory jsou solidní nádory plic, prsu, tlustého střeva a prostaty. Tyto nádory nedostatečně reagují na konvenční systémovou chemoterapii nebo radioterapii, zejména pokud se jedná o velké<sup>126</sup> nebo slabě vaskularizované nádory<sup>128</sup>. Solidní nádory mozku se vyskytují méně, ale patří mezi nejhůře léčitelné, protože hematoencefalická bariéra brání vstupu většině léčiv do mozku. Pokud je nádor operovatelný, je preferovanou terapií jeho chirurgické odstranění, ale mnoho nádorů mozku může recidivovat, např. maligní gliom. Lokální chemoterapie přímo v místě resekce zabraňuje rekurenci nádoru. Nejznámějším lokálním systémem jsou pelety připravené z PCPP-SA polymeru obsahující karmustin. Využívají se také systémy připravené z dalších polymerů, např. kyselina

polymethylmetakrylová, polyethylenvinylacetát, kopolymer z dimeru mastné kyseliny a kyseliny sebakové, kyselina polyléčná (PLA). Některá chemoterapeutika nejsou schopná proniknout hematoencefalickou bariérou a jsou účinná po přímém doručení polymerními implantáty, např. karboplatina, 4-hydroperoxyklofosfamid a taxol. Tento přístup je vhodný pro nová chemoterapeutika kamptothecin (inhibitor topoizomerázy I)<sup>129</sup>, minocyklin (inhibitor angiogeneze)<sup>130</sup>. Polymerní pelety mohou lokálně doručit chemoterapeutika nejen do nádoru mozku, ale i do extrakraniálních nádorů. Psům byly pro cílenou chemoterapii karcinomu jícnu implantovány do mediastina válečky z PDLA obsahující bleomycin<sup>131</sup>.

Některé nádory nelze odstranit chirurgickým zákrokem a implantace velkých polymerních pelet není možná. Jedná se o malé nádory v mozkovém kmenu, mostu a prodloužené míše, u kterých není možná resekce a přístup k nim je omezen. Alternativním přístupem je stereotaktická injekční aplikace polymerních mikrosfér s léčivem do nádoru. Tento způsob je relativně neinvazivní a zajišťuje lokální uvolnění velkého množství léčiva. Mikrosféry obsahující léčivo jsou vhodné pro lokální chemoterapii kterékoliv části těla dostupné pro jehlu nebo katetr. Po implantaci polymeru je léčivo uvolňováno v místě aplikace. Uvolněné léčivo migruje z rozhraní polymer/tkáň hlavně prostřednictvím extracelulárního prostoru. Molekuly léčiva se pohybují v extracelulárním prostoru difúzí a prouděním kapalin. Molekuly mohou být vychytávány buňkami, mohou také proniknout do cévního systému a mohou být transportovány do zbylých částí těla nebo mohou být eliminovány<sup>132</sup>.

#### ***1.2.4.2.3 POLYMERNÍ MIKROČÁSTICE URČENÉ K CHEMOEMBOLIZACI***

Rakovina jater není běžná, ale je vysoce smrtelná. U tohoto druhu je chirurgická resekce omezená a odezva na systémovou chemoterapii nízká. Cévní zásobení jater může být izolováno a poskytuje tak rozdílné příležitosti k doručení léčiv. Při chemoembolizaci jsou používány intraarteriální infúze léčiv a arteriální embolizace k soustředění léčiv uvnitř jater. Arteriální embolizace může být dosaženo injekční aplikací látek, které jsou zadržovány přednostně ve vaskulatuře. Jedná se o jodovaný olej s želatinovými částicemi<sup>133</sup>, mikrosféry škrobu<sup>134</sup> a mikrosféry albuminu<sup>135</sup>. Po aplikaci do jaterní artérie směřují některé olejové suspenze léčiv přednostně do vaskulatury nádoru. V těchto případech je většina léčiva dopravena do nádoru, nedochází k akumulaci ve zdravé jaterní tkáni. Protože se suspenze pohybuje ve vlasečnicích nádoru pomalu, setrvávají v nich molekuly léčiva déle a mohou zcela penetrovat do intersticia. Takto je dosaženo vysoké

koncentrace léčiva v nádoru s menším množstvím kolujícím v plazmě<sup>133</sup>. Poločas adriamycinu aplikovaného v jodovaném oleji (25 dnů)<sup>136</sup> je mnohem delší než poločas adriamycinu v roztoku (0,5 – 3 dny)<sup>137</sup>.

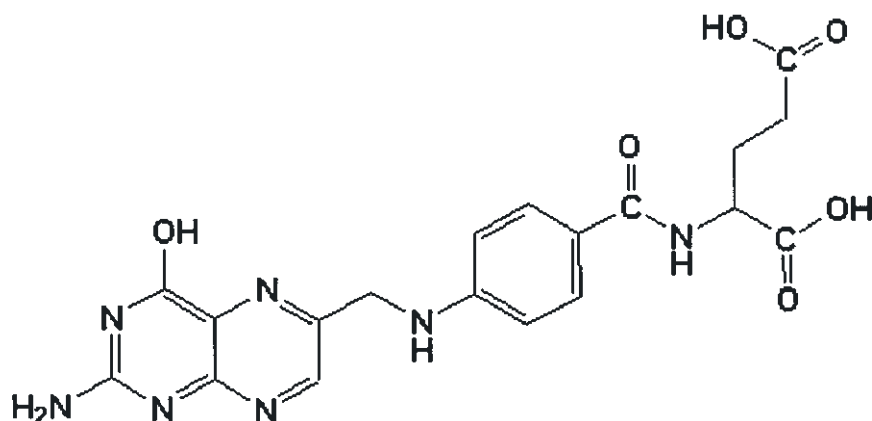
Tento postup může být zdokonalen použitím mikročástic jako prostředků určených k vyvolání embolie. Pokud jsou částice o správné velikosti injekčně aplikovány do artérie, dojde k jejich zadržení v mikrovaskulatuře a následkem toho se ve vlasečnicích nádoru značně sníží krevní tok. Cévní blokáda může v závislosti na rychlosti degradace polymeru trvat několik minut až několik týdnů. Dochází ke snížení koncentrace léčiva v plazmě a prodloužení expozice nádoru léčivu vlivem snížené clearance léčiva z nádoru. Tento postup může mít významný vliv na lokální koncentraci léčiva v nádoru a růst nádoru<sup>133,134</sup>.

Biodegradabilní mikrosféry mohou sloužit jako prostředky určené k vyvolání embolie a zároveň i jako nosiče léčiv. Léčivo je uzavřeno v polymerní mikrosféře chráněno před metabolickou a spontánní degradací. Pokud mají mikrosféry obsahující léčivo správnou velikost, jsou doručeny intrahepatálně a zadrženy v mikrovaskulatuře, kde dochází k lokálnímu uvolnění léčiva. Následkem bezprostřední blízkosti mikrosfér a nádoru jsou buňky nádoru vystaveny vysoké koncentraci léčiva. Systémová toxicita je minimální, protože pouze malé množství léčiva je transportováno do zbylých částí těla<sup>138</sup>.

### 1.3 KYSELINA LISTOVÁ A JEJÍ VYUŽITÍ PŘI TRANSPORTU LÉČIV DO NÁDOROVÝCH BUNĚK

Kyselinu listovou tvoří skupina sloučenin, jejichž základem je kyselina pteroová (obsahující pteridinové jádro a zbytek kyseliny 4-aminobenzoové), na kterou se váže peptidovou vazbou zbytek kyseliny glutamové nebo oligopeptidu složeného z různého počtu těchto zbytků. Je termolabilní a také senzitivní na světlo a kyslík. Před vstřebáním musí být polyglutamáty hydrolyzovány. Hydrolýzu katalyzuje pteroylglutamáthydroláza, enzym kartáčového lemu enterocytů, pro jehož funkci je nezbytný zinek a optimální přibližně neutrální pH. Nutnost hydrolýzy poněkud snižuje využitelnost folylpolyglutamátu v porovnání s formou monoglutamovou. Struktura kyseliny listové je zobrazena na obr. 5<sup>139</sup>.

Obr. 5: Struktura kyseliny listové<sup>139</sup>.

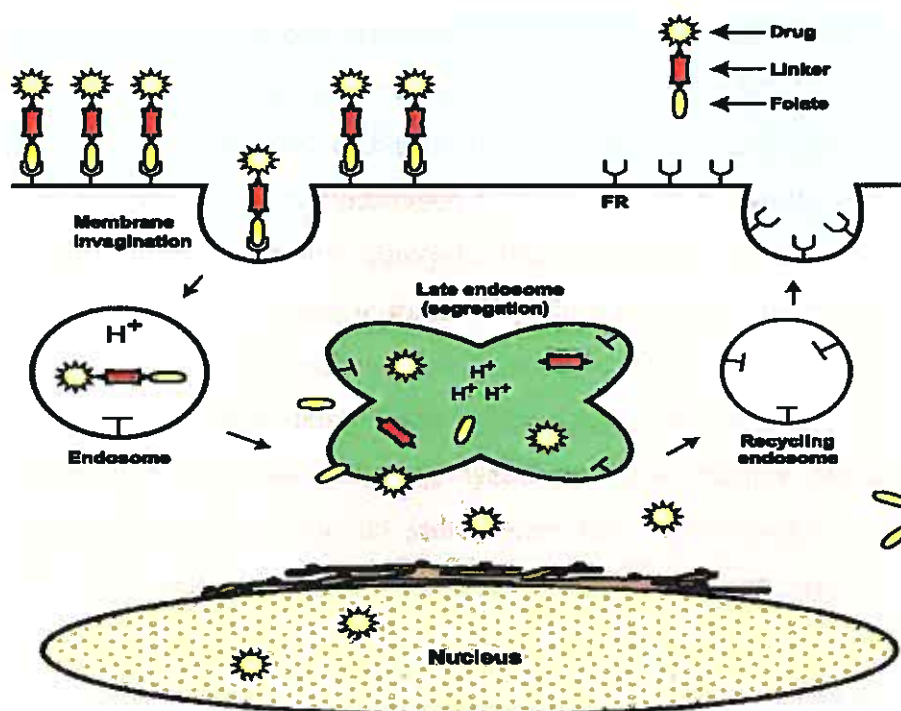


Kyselina listová je nezbytná pro buněčný metabolismus. Vysokou potřebu kyseliny listové mají zejména rychle proliferující tkáně: hemopoetický systém (umožňuje dělení buněk kostní dřeně ve stadiu megaloblastů), sliznice trávicího ústrojí, kůže, embryonální a fetální tkáně. 5,6,7,8-tetrahydrofolát (THF), vznikající z kyseliny listové, je koenzym nezbytný pro přenos jednouhlíkatých skupin. Uplatňuje se v řadě biochemických reakcí, zvláště pak při biosyntéze purinových a pyrimidinových bází a tedy i nukleových kyselin. Jednouhlíkaté fragmenty vznikají a jsou přenášeny na THF hlavně při štěpení aminokyselin, spotřebovávají se při biosyntéze purinového jádra, serinu, hypoxantinu, histidinu a při methylaci uracilu na thymin. Pro normální metabolismus kyseliny listové je nezbytná přítomnost vitamínu B<sub>12</sub>, který se podílí na přenosu methylové skupiny při resyntéze methioninu z homocysteinu. Živočišné buňky nemají schopnost kyselinu listovou syntetizovat. U člověka je hlavní známkou hypovitaminózy megaloblastová anémie<sup>139</sup>.

Doručení léčiv při chemoterapii je obvykle omezeno. Prvním omezením je často nízká selektivita chemoterapeutik k rakovinným buňkám. Druhým je hydrofilní a hydrofobní charakter léčiva. Aby léčivo dosáhlo povrchu nádorové buňky pomocí kardiiovaskulárního systému, musí být jeho rozpustnost ve vodě vysoká, ale pro penetraci plazmatické membrány nádorové buňky po dosažení buněčného povrchu je nutná vysoká rozpustnost v tucích. Je obtížné začlenit tyto vlastnosti do molekuly léčiva. Přímé připojení požadované molekuly léčiva ke kyselině listové odstraní obě omezení. Povrchové buněčné receptory pro kyselinu listovou se běžně vyskytují ve velkém počtu na lidských nádorových buňkách, tudíž molekuly léčiva připojené ke kyselině listové vykazují vysokou specifitu k těmto buňkám<sup>140</sup>. Receptorově cílené doručení léčiva je výhodnější

v porovnání s běžnou necílenou léčbou. Závísí na povaze ligandu a vlastnostech navázaného léčiva, může zvýšit vychytávání léčiva patologickými buňkami a snížit ukládání léčiva do zdravých buněk. Foláty a jejich konjugáty pronikají do nádorových buněk endocytózou<sup>141</sup>. Termín endocytóza označuje proces při kterém dochází ke vchlípení plazmatické membrány a vzniku charakteristického intracelulárního kompartmentu (endozom). Tento endozom s komplexem folátový receptor-folát je rychle okyselen na  $\text{pH} \sim 5$ , následně dojde k uvolnění folátu z folátového receptoru (FR) a k průniku do cytosolu (Obr. 6). Touto cestou je překonána bariéra omezující vstup léčiva do buňky<sup>142</sup>.

Obr. 6: Endocytóza konjugátu folát-léčivo<sup>142</sup>.



Největší předností folátových systémů je překvapivě nízká toxicita pro běžné tkáně. Savčí buňky nejsou schopny syntetizovat vitamin, proto jsou vybaveny jedním ze dvou způsobů pro internalizaci folátů. První mechanismus zahrnuje transmembránový protein s nízkou afinitou ( $K_D \sim 1\text{-}5 \mu\text{M}$ ), který transportuje redukováné foláty přímo do buněčného cytosolu (5-methyltetrahydrofolát)<sup>143</sup>. Folátový přenašeč je přítomen prakticky na všech buňkách. Druhý mechanismus využívá glykoproteinový receptor s vysokou afinitou ( $K_D \sim 100 \text{pM}$ ) označovaný jako folátový receptor, který přednostně zprostředkovává vychytávání oxidované formy folátu (kyselina listová) do buňky endocytózou<sup>144</sup>. Proto léčiva navázaná na folát vstupují do buněk pomocí FR, který je přítomný ve značném

množství na rakovinných buňkách, aktivovaném makrofágu, placentě a apikálním povrchu polarizovaného epitelu. Nízká toxicita folátových konjugátů je způsobena neschopností průniku konjugátů do zdravých buněk. V porovnání s normálními buňkami jsou FR ve značném počtu (až o dva řády) přítomny v mnoha nádorových buňkách. Počet FR může dokonce dále vzrůst v pozdějším stádiu nádoru. Aby bylo ověřeno, že jsou makromolekuly spojené s folátem transportovány do buněk nesoucích folátové receptory, byly nejprve označeny IgG a bovinní ribonukleáza fluorescenční látkou a pak spojeny s kyselinou listovou nebo ponechány pro kontrolu nezměněny. Fluorescenční mikroskopie odhalila, že pouze fluoreskující proteiny navázané na folát byly vychytávány buňkami s folátovými receptory. Internalizace těchto konjugátů je závislá na čase, koncentraci a může být kvantitativně blokována přidáním nadbytku volné kyseliny listové do kultivačního prostředí. Kromě toho musí být místo navázání folátů na  $\gamma$ -karboxylové skupině vitamínu, jinak nedojde k navázání na receptor. Protilátky, hormony a jiné příslušné ligandy jsou internalizovány buňkami za účelem odstranění ligandů z povrchu buněk (jakmile vyvolá hormon signál na receptoru, musí být odstraněn a zničen, aby se zabránilo kontinuálnímu vyvolávání signálu). Proto je většina cílových ligandů internalizována, dopravena do lyzozomů a zde je rozložena<sup>145</sup>. Jinak je tomu u kyseliny listové, která je dopravena do buněk za účelem zajištění potřebných buněčných funkcí. V důsledku toho je většina látek navázaných na kyselinu listovou spíše zadržena v endocytických kompartmentech nebo uvolněna do cytosolu a není dopravena do lyzozomů<sup>146</sup>. V několika případech byly folátové konjugáty dopraveny přímo do jádra. Není proto překvapením, že folátové konjugáty jsou i po několik hodin od pohlcení nádorovou buňkou nezměněny a funkční. Proteiny a nukleové kyseliny zůstávají nestráveny, enzymy si udrží vlastní aktivitu a lipozómy odolají rozpadu (pokud nejsou navrženy, aby se rozpadly při endozomálním pH)<sup>145</sup>.

Jsou známy tři formy folátových receptorů –  $\alpha$ ,  $\beta$  a  $\gamma$ -izoforma.  $\alpha$ -izoforma se vyskytuje nejčastěji u nádorů vaječníku, ledvin, dělohy, varlat, mozku, tlustého střeva a plic. Malé množství receptorů typu  $\alpha$  bylo detekováno v řadě epitelových buněk, signifikantní počet receptorů byl běžně pozorován v ledvinách, plicích, choroidním plexu a placentě. Receptory na každé z těchto tkání (snad kromě placenty) jsou pravděpodobně umístěny na apikálním povrchu membrány. Jsou tudíž odvráceny od krevního řečiště a nedostupné pro folátové konjugáty aplikované intravenózně. S touto orientací mohou receptory normálních buněk vychytávat foláty, které náhodně prošly přes tkáňový epitel a

zabraňují jejich ztrátě z organismu.  $\beta$ -izoforma je přítomna v mnoha typech nádorů, zejména se jedná o nádor prsu, mozku, mezenchymální tkáň, varlat, hlavy a krku.  $\gamma$ -izoforma je v kterékoliv tkáni těžce detekovatelná<sup>143</sup>.

Folátové konjugáty mohou být navrženy tak, aby napomáhaly vlastní rychlé exkreci, pokud by nebyly dostatečně rychle zachyceny povrchovými folátovými receptory buňky. Včleněním vysoce hydrofilní části mezi vitamin a připojené léčivo se může zvýšit hydrofilní charakter konjugátu, proto rychleji proniká intersticiálním prostorem a je vylučován ledvinami. V důsledku toho jsou konjugáty nepřipoutané na FR rychle vyloučeny a nemohou setrvat v těle dostatečně dlouho, aby poškodily ostatní zdravé buňky. Folátové konjugáty mohou být podány ve velmi nízkých koncentracích a stále saturují všechny přístupné FR, je to způsobeno velmi vysokou afinitou kyseliny listové a jejich konjugátů k FR ( $K_D \sim 10^{-10}$ ). Folátové konjugáty, které jsou již navíc při dosažení stavu saturace FR, nepřispívají k terapii a není proto nutné pro dosažení klinické reakce aplikovat konjugáty v toxických koncentracích. Funkční FR přítomné na zdravých tkáních jsou lokalizovány hlavně na apikálním povrchu polarizovaného epitelu, kde jsou nepřístupné pro parenterálně aplikované folátové konjugáty. V plicích je FR na povrchu membrány orientované do dýchacích cest a ve střevě je receptor orientován do lumen epitelu. V těchto oblastech je blokován přístup k cirkulujícím folátovým konjugátům, ledaže by poškození epitelu umožnilo průnik konjugátu do lumen. Pouze v případě ledvin získají folátové konjugáty přístup k FR. Konjugáty zachycené v ledvinách nepoškozují proximální tubuly, protože jsou endocytovány a následně transportovány v endocytických vezikulách ledvinami do bazolaterální části epitelu. FR v ledvinách slouží jako záchytný receptor, který vychytává foláty a jejich konjugáty z moči a transportuje je transcytózou zpět do krve<sup>144</sup>.

Bylo potvrzeno, že charakteristické rozmístění FR v normálních a nádorových buňkách umožňuje cílené doručení cytotoxinů do nádorových buněk<sup>147</sup>. Tohoto principu lze také využít pro neinvazivní detekci místa, tvaru, velikosti a stádia nádorové tkáně<sup>146</sup>.

Tímto způsobem lze dopravovat do nádorových buněk i lipozomy. Díky velké kapacitě a biodegradabilitě jsou lipozomy považovány za použitelné nosiče léčiv. Používají se lipozomy z přirozeně se vyskytujících membránových lipidů. Tyto lipozomy jsou pak prostřednictvím polyethylenglykolu navázány na kyselinu listovou. Takto připravené lipozomy jsou stabilní a mají vysokou specificitu k nádorovým buňkám<sup>148</sup>.

Na rozdíl od protilátek, hormonů, cytokinů a jiných ligandů je kyselina listová levná a relativně snadno spojitelná s různými léčivy a kontrastními látkami. Většina folátových

konjugátů je stabilní v organických rozpouštědlech, kyselinách, zásadách a nepodléhá denaturaci či degradaci. Proto jsou tyto konjugáty stabilní během transportu, skladování a aplikace. Do rakovinných buněk byly úspěšně dopraveny folátové konjugáty s radiofarmaky<sup>146</sup>, lipozomy s uzavřenými léčivy<sup>148</sup> a plazmidy<sup>149</sup>, nízkomolekulárními chemoterapeutiky<sup>150</sup>, proteiny a toxiny<sup>151</sup>, imunoterapeutiky<sup>152</sup>, antimediatorovými oligonukleotidy a ribozymy<sup>153</sup>. Použití folátových konjugátů pro cílenou distribuci léčiva má i svá omezení, protože některé nádory nemají na svém povrchu FR (nádory prostaty, slinivky a močového měchýře).



## 2. CÍLE PRÁCE

1) V rámci testování reologických vlastností soustavy polymer-plastifikátor byly pro předloženou práci stanoveny následující cíle:

- Testovat vliv typu plastifikátoru na reologické vlastnosti soustavy.
- Testovat vliv koncentrace plastifikátoru na reologické vlastnosti soustavy.
- Testovat vliv teploty na reologické vlastnosti soustavy.
- Vyhodnotit dosažené výsledky a vyvodit z nich adekvátní závěry a praktická doporučení.

2) V rámci hledání vhodných struktur biodegradabilních nosičů a formulace vhodných soustav s optimální kinetikou liberace kyseliny listové byly pro předloženou práci stanoveny následující cíle:

- Připravit oligoesterové filmy různého složení.
- Připravit oligoesterové matrice různých hmotností a složení.
- Testovat bobtnání a erozi oligoesterových matric s různou koncentrací plastifikátorů.
- Testovat liberaci kyseliny listové z oligoesterových matric s různou koncentrací plastifikátorů.
- Testovat vliv přísady polyethyleniminu v oligoesterové matici na liberaci kyseliny listové.
- Testovat liberaci kyseliny listové z připravených oligoesterových matric ve vodných roztocích pufrů různých hodnot aktuální acidity.
- Vyhodnotit dosažené výsledky a vyvodit z nich adekvátní závěry a praktická doporučení.

### **3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

#### **3.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE**

##### **3.1.1 PŘÍSTROJE**

- Analytické digitální váhy KERN ABS (max. 220g, d= 0,1 mg)
- Analytické digitální váhy AND HM-202 (max. 210g, d=0,01/0,1 mg)
- Digitální váhy KERN 440-33 (max. 200g, d= 0,01g)
- Digitální váhy KERN 440-47 (max 1200g, d= 0,1g)
- Digitální váhy KERN 440-53 (max.6000g, d=1g)
- Magnetická míchačka HEIDOLPH MR 3001
- Vakuová sušárna SPT-200
- Biologický termostat BT 120
- Horkovzdušná sušárna MEMMERT
- Světelný mikroskop MEOPTA MO 2
- Spektrofotometr ULTROSPEC III (UV/VIS)
- ATC pH metr PICCOLO
- Elektrický mlýnek IKA® A11 basic (300W)
- Termostat HAAKE DC 30
- Rotační viskozimetr BROOKFIELD DV-E RV s vřetenem S14
- Ultrazvuková lázeň SONOREX SUPER 10P

##### **3.1.2 CHEMIKÁLIE**

- Aceton, p.a. (Lachema Neratovice)
- Hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát (Lachema Neratovice)
- Kyselina citronová (Lachema Neratovice)
- Destilovaná voda (Faf UK)

- Azid sodný, p.a. (Fluka)
- Kyselina listová (dar firmy Pliva - Lachema, Brno)
- Methylester kyseliny mravenčí (Aldrich)
- Oligoesterové nosiče č. 71, 73 a 75 (Faf UK v Hradci Králové)
- Triacetin (Aldrich)
- Tributyrin (Aldrich)
- Triethylcitrát (Merck)
- Tributylcitrát (Merck)
- Butyllaktát (Aldrich)
- Ethyllaktát (Aldrich)
- Polyethylenimin:
  - Polyethylenimin č. 1 (PEI-1) - 50% hm. roztok ve vodě,  $M_n$  60000 (GPC),  $M_w$  750000 (LS) (Aldrich)
  - Polyethylenimin č. 2 (PEI-2) - 50% hm. roztok ve vodě,  $M_r$  600000-1000000 (Fluka)
  - Polyethylenimin č. 3 (PEI-3) - 80% ethoxylovaný, 37% hm. roztok ve vodě,  $M_w$  50000 (Aldrich)
  - Polyethylenimin č. 4 (PEI-4) – bezvodý, zakončený ethylendiaminem,  $M_n$  600 (GPC),  $M_w$  800 (LS) (Aldrich)
  - Polyethylenimin č. 5 (PEI-5) – bezvodý, větvený,  $M_n$  10000 (GPC),  $M_w$  25000 (LS) (Aldrich)

## 3.2 OLIGOESTEROVÉ NOSIČE, MODEL LÉČIVÉ LÁTKY, PRACOVNÍ POSTUPY

### 3.2.1 OLIGOESTEROVÉ NOSIČE

Větvené oligoesterové nosiče s mannitolem v centrální části molekuly byly syntetizovány Doc. RNDr. Milanem Dittrichem, CSc. na katedře farmaceutické technologie Faf UK v Hradci Králové polykondenzační reakcí z kyseliny D,L-mléčné (DLLA), kyseliny glykolové (GA) a mannitolu (MAN). Hodnota teploty skelného přechodu ( $T_g$ ) jednotlivých polyesterů byla měřena Ing. Vladimírem Špačkem, CSc. (Synpo a.s., Pardubice) metodou DSC. Složení a charakteristiky připravených oligoesterů jsou v Tab. 3 - 5.

**Tab. 3: Složení oligoesterů a teplota skelného přechodu.**

Oligoester	DLLA (%hm)	GA (%hm)	MAN (%hm)	$T_g$ (°C)
71	47,9	49,2	2,9	13,0
73	47,9	49,2	2,9	24,2
75	47,5	47,5	5,0	15,6

$T_g$  ..... teplota skelného přechodu

**Tab. 4: Charakteristiky oligoesterů stanovené metodou GPC.**

Oligoester	$M_n$	$M_w$	$M_w/M_n$
71	1500	2700	1,8
73	2100	4000	1,9
75	1700	2900	1,7

$M_n$  ..... číselně střední molekulová hmotnost

$M_w$  ..... hmotnostně střední molekulová hmotnost

$M_w/M_n$  ..... stupeň polydisperzity

**Tab. 5: Charakteristiky  $M_w$  stanovené metodami GPC a GPC-MALS.**

Oligoester	GPC (g/mol)	GPC-MALS (g/mol)	GPC/GPC-MALS
71	2700	4300	0,63
73	4000	3900	1,03
75	2900	3000	0,97

Poměr  $M_w(\text{GPC})/M_w(\text{GPC-MALS})$  udává stupeň větvení oligoesteru. Platí, že s rostoucím stupněm větvení tento poměr klesá. Měření GPC a GPC-MALS provedl Prof. Ing. Štěpán Podzimek, CSc. (Synpo a.s., Pardubice).

### 3.2.2 MODEL LÉČIVÉ LÁTKY

Jako model léčivé látky sloužila kyselina listová, která byla mikronizována pomocí elektrického tříštivého mlýnku. Dosažení požadovaného rozměru částic (částic menších než 10  $\mu\text{m}$ ) bylo sledováno pomocí světelného mikroskopu.

### 3.2.3 PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO STANOVENÍ VISKOZITY

Vzorky pro stanovení viskozity byly připraveny z oligoesteru 75 (Tab. 6). Do kádinky se navázilo zadané množství oligoesteru a plastifikátoru. Následovalo tavení oligoesteru a mísení s plastifikátorem na parafinové lázni při teplotě 70 °C. K odstranění vzduchových bublin vzniklých při mísení vzorku (nutno odstranit bubliny pro rušivý vliv při měření viskozity) byly připravené vzorky umístěny do vakuové sušárny predehřáté na 70 °C (3 kPa) a zde ponechány do okamžiku vymizení bublinek. Homogenní směs byla poté převedena do komory viskozimetru, která byla temperována externím termostatem (HAAKE DC 30) na 37 $\pm$ 1 °C, 45 $\pm$ 1 °C a 53 $\pm$ 1 °C. Teplota komory se vzorkem před samotným měřením trvala 30 minut.

Vlastní měření bylo prováděno na rotačním viskozimetru BROOKFIELD DV-E RV s vřetenem S14 (12,5 – 4167 Pa.s). Na motorem poháněné hřídeli je na pružině ve svislé poloze zavěšeno vřeteno, které je během měření ponořeno do testovaného vzorku. Při otáčení vřetena klade testovaný vzorek odpor úměrný jeho viskozitě, tím se mění torzní napětí na pružině otáčející se hřídele. Velikost torzního napětí (%) je snímána jako primární veličina a pomocí přepočtů je převáděna na viskozitu (dynamická), jejíž hodnoty jsou zobrazeny na displeji viskozimetru.

Použit lze jen ty naměřené hodnoty viskozity, u kterých byla hodnota torzního napětí mezi 10 % a 100 %. Při tomto rozmezí stanovuje viskozimetr viskozitu s přesností  $\pm$ 1 %. V případě, že je torzní napětí menší než 10 % doporučuje výrobce považovat data za neplatná, jelikož odchylka měření je příliš vysoká.

Kalibrace rotačního viskozimetru byla provedena při teplotě 25 °C pomocí standardních newtonovských kapalin o viskozitě 5 a 30 Pa.s, které dodává firma

Brookfield Engineering Laboratories. Tyto kapaliny mají při určité teplotě stále stejnou viskozitu bez ohledu na použité množství otáček hřídele přístroje.

**Tab. 6: Složení vzorků připravených z oligoesteru 75.**

Vzorek	Oligoester 75 (%)	TEC (%)	TBC (%)	TA (%)	BL (%)	EL (%)	TB (%)
1	100	-	-	-	-	-	-
2	90	10	-	-	-	-	-
3	80	20	-	-	-	-	-
4	70	30	-	-	-	-	-
5	90	-	10	-	-	-	-
6	80	-	20	-	-	-	-
7	70	-	30	-	-	-	-
8	90	-	-	10	-	-	-
9	80	-	-	20	-	-	-
10	70	-	-	30	-	-	-
11	90	-	-	-	10	-	-
12	80	-	-	-	20	-	-
13	70	-	-	-	30	-	-
14	90	-	-	-	-	10	-
15	80	-	-	-	-	20	-
16	70	-	-	-	-	30	-
17	90	-	-	-	-	-	10
18	80	-	-	-	-	-	20
19	70	-	-	-	-	-	30
20	90	5	-	-	5	-	-
21	80	10	-	-	10	-	-
22	70	15	-	-	15	-	-
23	70	-	-	-	15	15	-
24	70	-	-	15	15	-	-
25	70	-	15	-	15	-	-

### 3.2.4 PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO STANOVENÍ BOBTNÁNÍ A EROZE

Vzorky pro stanovení bobtnání a eroze byly připraveny z oligoesteru 75 (Tab. 7). Do kádinky se navázilo zadané množství oligoesteru a plastifikátoru. Následovalo tavení oligoesteru a mísení s plastifikátorem na parafínové lázni při teplotě 70 °C.

Homogenní směs byla poté navažována (navážky 150 a 300 mg) do scintilačních lahvíček o objemu 20 ml. Tato hmotnost byla zaznamenána jako  $m_0$ . Označené scintilační lahvíčky se vzorkem byly zality 15 ml fosfát-citrátového pufru o pH 6,0 a 7,0. Každý vzorek o stejném složení a stejné hmotnosti byl připraven dvakrát.

Uzavřené lahvičky byly vloženy do biologického termostatu s teplotou nastavenou na 37 °C. Ve stanovených časových intervalech (1, 3, 7, 14, 21 a 28 dnů) byly lahvičky vyjmuty z termostatu, médium bylo opatrně vylito a stěny lahviček byly osušeny pomocí buničité vaty. Poté byly lahvičky zváženy na analytických vahách a tato hmotnost byla zaznamenána jako  $m_b$ . Po zvážení byly lahvičky vloženy do horkovzdušné sušárny, kde se sušily při teplotě 70 °C do konstantní hmotnosti. Po vysušení byly lahvičky zváženy na analytických vahách a tato hmotnost byla zaznamenána jako  $m_s$ . Médium bylo měněno dvakrát týdně.

Pro studium bobtnání a eroze byl jako médium zvolen fosfát-citrátový pufr. Pro sledování vlivu pH prostředí na stupeň bobtnání a eroze bylo zvoleno pH o hodnotě 6,0 a 7,0 (postup přípravy pufru popsán v části 3.2.6).

**Tab. 7: Složení vzorků oligomerních matric připravených z oligoesteru 75.**

Vzorek	Oligoester 75 (%)	TEC (%)	TA (%)	TBC (%)	BL (%)	EL (%)	TB (%)
1	100	-	-	-	-	-	-
2	90	10	-	-	-	-	-
3	80	20	-	-	-	-	-
4	70	30	-	-	-	-	-
5	90	-	10	-	-	-	-
6	80	-	20	-	-	-	-
7	70	-	30	-	-	-	-
8	80	-	-	20	-	-	-
9	80	-	-	-	20	-	-
10	80	-	-	-	-	20	-
11	80	-	-	-	-	-	20
12	70	15	-	-	15	-	-

**Stupeň bobtnání byl počítán podle vzorce:**

$$B = \frac{m_b - m_s}{m_s} \cdot 100 [\%]$$

B...stupeň bobtnání v %

$m_b$ ...hmotnost vzorku po vylití pufru

$m_s$ ...hmotnost vzorku po vysušení

**Stupeň eroze byl počítán podle vzorce :**

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

E.....stupeň eroze v %

$m_o$ ...hmotnost původní navážky vzorku

$m_s$ ...hmotnost vzorku po vysušení

### 3.2.5 PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO TESTOVÁNÍ LIBERACE KYSELINY LISTOVÉ

#### 3.2.5.1 PŘÍPRAVA OLIGOMERNÍCH FILMŮ

Oligomerní filmy o tloušťce 600-650  $\mu\text{m}$  byly připraveny z oligoesteru 73 a ze směsi oligoesterů 73 a 71 v poměru 1:1 (Tab. 8). Do kádinky se navázilo zadané množství oligoesteru, přidal se methylester kyseliny mravenčí a po rozpuštění oligoesteru se přidala kyselina listová (FA). Pro dostatečnou homogenizaci kyseliny listové bylo nutno roztok polymeru s dispergovanou kyselinou listovou důkladně promíchat. Roztok oligoesteru s dispergovanou kyselinou listovou byl přelit z kádinky do teflonové misky. Tato miska se přenesla do sušárny a nechala se zde sušit při 30 °C do konstantní hmotnosti, došlo k odpaření rozpouštědla a k tvorbě filmu. Byly připraveny vzorky filmu s rozměry přibližně 6 x 6 mm. Tyto vzorky byly vpraveny do scintilačních lahvíček o objemu 20 ml a zality 15 ml fosfát-citrátového pufru o pH 5,5, 6,0 a 7,0. Každý vzorek o stejném složení a přibližně stejné velikosti byl připraven dvakrát. Uzavřené lahvičky byly vloženy do biologického termostatu s teplotou nastavenou na 37 °C.

Liberace kyseliny listové z oligomerních filmů byla testována v prostředí fosfát-citrátového pufru o pH 5,5, 6,0 a 7,0 (postup přípravy pufru popsán v části 3.2.6).

**Tab. 8: Složení vzorků oligomerních filmů připravených z oligoesteru 71 a 73.**

Vzorek	Oligoester 71 (%)	Oligoester 73 (%)	FA (%)
1	-	98	2
2	49	49	2
3	-	90	10
4	45	45	10

#### 3.2.5.2 PŘÍPRAVA OLIGOMERNÍCH MATRIC

Oligomerní matrice byly připraveny z oligoesteru 75 (Tab. 9). Vodné roztoky polyethyleniminu (PEI-1, PEI-2 a PEI-3) musely být před použitím nejdříve zbaveny vody. Proto byly roztoky dány do vakuové sušárny a zde sušeny za sníženého tlaku (3 kPa) při 70 °C do konstantní hmotnosti, teprve pak byly použity k přípravě vzorků. Do kádinky se navázilo zadané množství oligoesteru a aditiv. Následovalo tavení oligoesteru a mísení s přidanými aditivami na parafinové lázni při teplotě 70 °C. Při teplotě nižší než 60 °C se přimísily 3 % kyseliny listové.



Homogenní směs byla poté navažována (navážky 50, 150 a 300 mg) do scintilačních lahvíček o objemu 20 ml a zalita 15 ml fosfát-citrátového pufru o pH 6,0 a 7,0. Každý vzorek o stejném složení a stejné hmotnosti byl připraven dvakrát. Uzavřené lahvičky byly vloženy do biologického termostatu s teplotou nastavenou na 37 °C.

Liberace kyseliny listové z oligomerních matric byla testována v prostředí fosfát-citrátového pufru o pH 6,0 a 7,0 (postup přípravy pufru popsán v části 3.2.6).

**Tab. 9: Složení vzorků oligomerních matric připravených z oligoesteru 75.**

Vzorek	Oligoester 75 (%)	PEI-1 (%)	PEI-2 (%)	PEI-3 (%)	PEI-4 (%)	PEI-5 (%)	TEC (%)	TA (%)	BL (%)	EL (%)	FA (%)
1	87	-	-	-	-	-	-	-	10	-	3
2	77	-	-	-	-	-	-	-	20	-	3
3	67	-	-	-	-	-	-	-	30	-	3
4	67	-	-	-	-	-	15	-	15	-	3
5	77	-	-	-	-	-	20	-	-	-	3
6	77	-	-	-	-	-	-	20	-	-	3
7	77	-	-	-	-	-	-	-	-	20	3
8	94	3	-	-	-	-	-	-	-	-	3
9	94	-	3	-	-	-	-	-	-	-	3
10	94	-	-	3	-	-	-	-	-	-	3
11	94	-	-	-	3	-	-	-	-	-	3
12	94	-	-	-	-	3	-	-	-	-	3

### 3.2.6 FOSFÁT – CITRÁTOVÝ PUFER

Pufry o pH 5,5, 6,0 a 7,0 byly připraveny podle chemických tabulek, v nichž je definována příprava pufrů pro dané pH smísením x-ml roztoku A a B, přičemž  $A = x$  a  $B = 100 - x$  (pH 5,5  $x = 43,9$  ml, pH 6,0  $x = 37,4$  ml, pH 7,0  $x = 19,0$  ml). Roztok A představuje roztok kyseliny citronové o koncentraci 21,014 g/l. Roztok B představuje roztok dihydrátu hydrogenfosforečnanu sodného o koncentraci 35,6 g/l (nutný přepočít na dodekahydrát, který byl k dispozici).

Pufr o pH 5,5 byl připraven rozpuštěním 92,2 g kyseliny citronové a 401,8 g dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu sodného v 10 litrech destilované vody. Pufr o pH 6,0 byl připraven rozpuštěním 78,6 g kyseliny citronové a 448,2 g dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu sodného v 10 litrech destilované vody a pufr o pH 7,0 rozpuštěním 39,9 g kyseliny citronové a 579,9 g dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu sodného v 10 litrech destilované vody. Takto připravené pufry byly konzervovány azidem sodným

o koncentraci 0,02 %. Požadované pH bylo zkontrolováno pomocí pH metru a případně upraveno na požadovanou hodnotu.

### 3.2.7 TESTOVÁNÍ LIBERACE KYSELINY LISTOVÉ Z OLIGOMERNÍCH FILMŮ A MATRIC

Dobře uzavřené scintilační lahvičky se vzorky byly v období mezi jednotlivými měřeními uchovávány v biologickém termostatu s nastavenou teplotou na 37 °C. Vlastní měření bylo prováděno na spektrofotometru ULTROSPEC III při vlnové délce 283 nm (absorpční maximum kyseliny listové). Jako porovnávací roztoky sloužily pufrы o pH 5,5, 6,0 a 7,0. Koncentrované (silně žlutě zbarvené) vzorky bylo nutné před měřením zředit. Do porovnávací kyvety byl nalit čistý pufr a do měřicí vzorek. Následovalo spektrofotometrické měření vzorku v kyvetě. Vzhledem k různé rychlosti liberace kyseliny listové z oligomeru bylo nutné sledovat zbarvení média a přizpůsobit intervaly jednotlivých měření.

Po změření absorbance byl zbytek pufru s liberovanou kyselinou listovou opatrně odlit z lahvičky. Vše bylo prováděno tak, aby nedošlo k mechanickému poškození nebo odlití části vzorku. Poté následovalo doplnění lahviček 15 ml čistého pufru o pH 5,5, 6,0 a 7,0. Zalité lahvičky byly uchovávány pro další měření v termostatu.

### 3.2.8 VÝPOČET PODÍLU LIBEROVANÉ KYSELINY LISTOVÉ

Množství liberované kyseliny listové bylo počítáno z rovnice kalibrační křivky. Výchozím údajem pro výpočet se stala hodnota naměřené absorbance. Z ní se z rovnice kalibrační křivky vypočítal procentuální podíl liberované kyseliny listové z původního množství kyseliny ve vzorku.

**Rovnice kalibrační křivky:**

$$y = Bx + A$$

y.....hodnota naměřené absorbance

x.....koncentrace kyseliny listové v mg/l

A....absolutní člen

B....směrnice přímky

r.....korelační koeficient

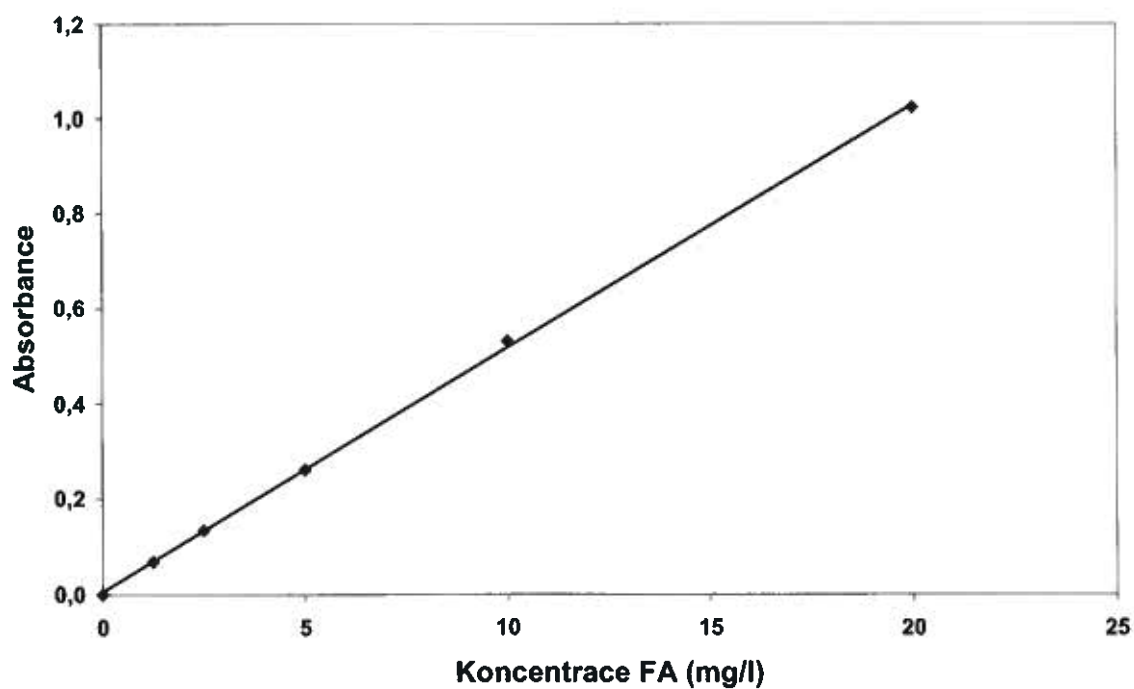
### 3.2.9 KALIBRAČNÍ KŘIVKY

#### 1) Kalibrační křivka pro pH 5,5

Tab. 10: Hodnoty koncentrace kyseliny listové a naměřené absorbance.

Koncentrace FA [mg/l]	0	1,25	2,5	5	10	20
Absorbance	0	0,068	0,135	0,261	0,531	1,024

Obr. 7: Kalibrační křivka pro pH 5,5.



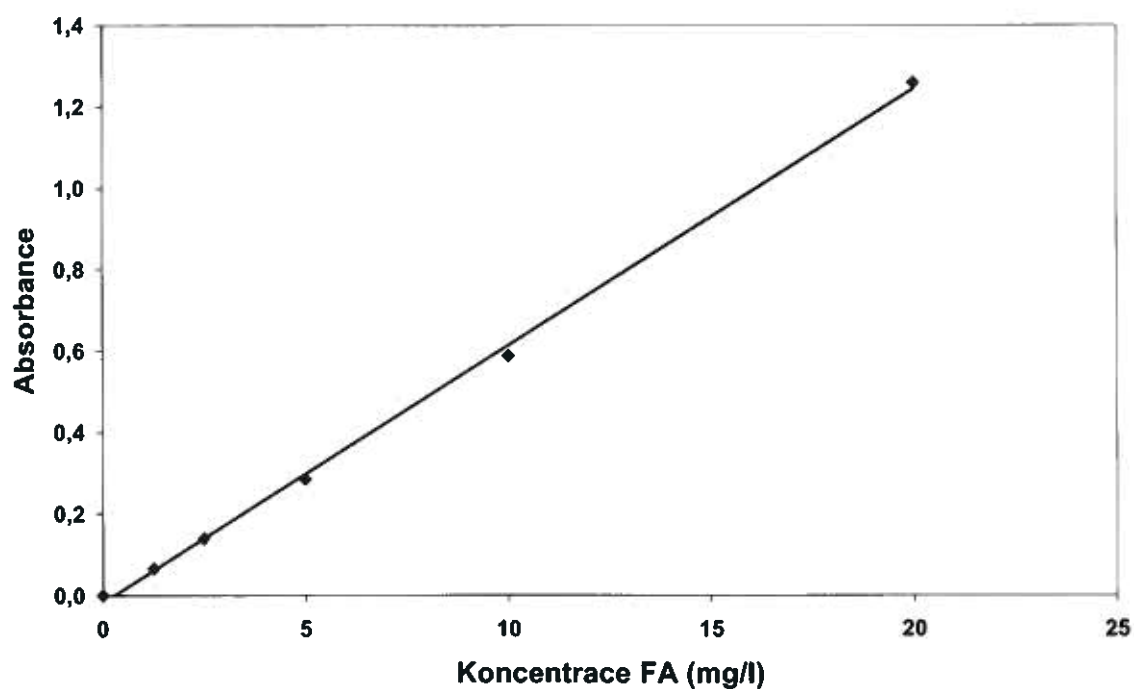
Rovnice kalibrační křivky:  $y = 0,0512x + 0,0056$   $r = 0,9997$

## 2) Kalibrační křivka pro pH 6,0

Tab. 11: Hodnoty koncentrace kyseliny listové a naměřené absorpance.

Koncentrace FA [mg/l]	0	1,25	2,5	5	10	20
Absorbance	0	0,065	0,139	0,285	0,598	1,259

Obr. 8: Kalibrační křivka pro pH 6,0.



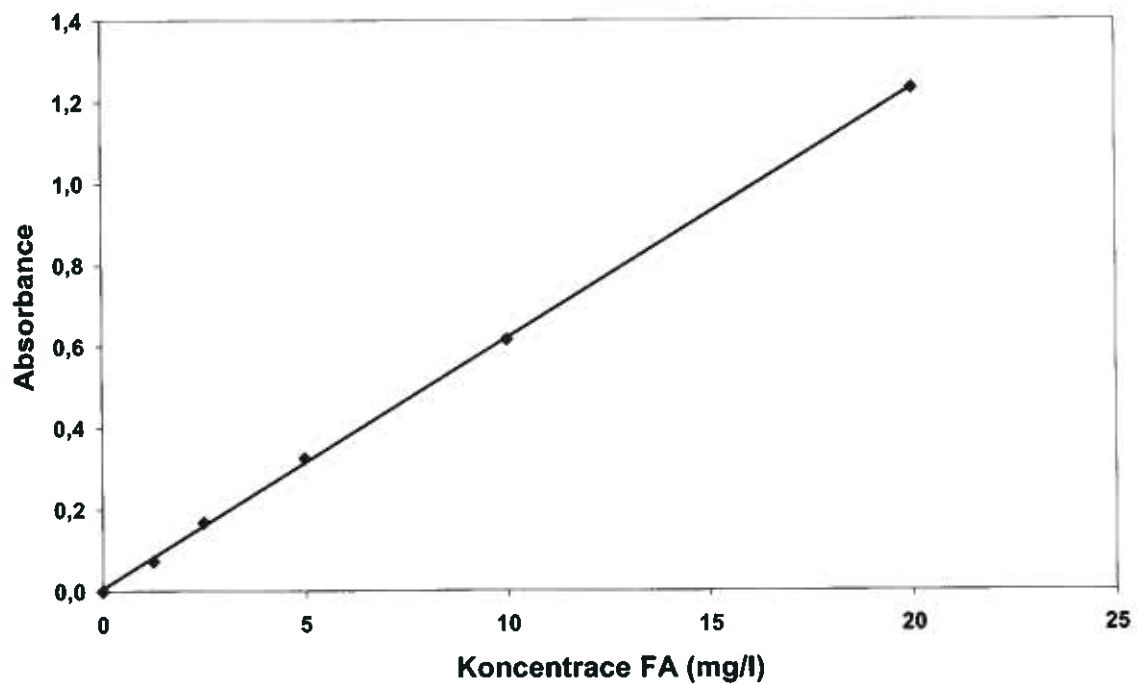
Rovnice kalibrační křivky:  $y = 0,0631x - 0,0181$   $r = 0,9988$

### 3) Kalibrační křivka pro pH 7,0

Tab. 12: Hodnoty koncentrace kyseliny listové a naměřené absorbance.

Koncentrace FA [mg/l]	0	1,25	2,5	5	10	20
Absorbance	0	0,072	0,167	0,324	0,616	1,232

Obr. 9: Kalibrační křivka pro pH 7,0.

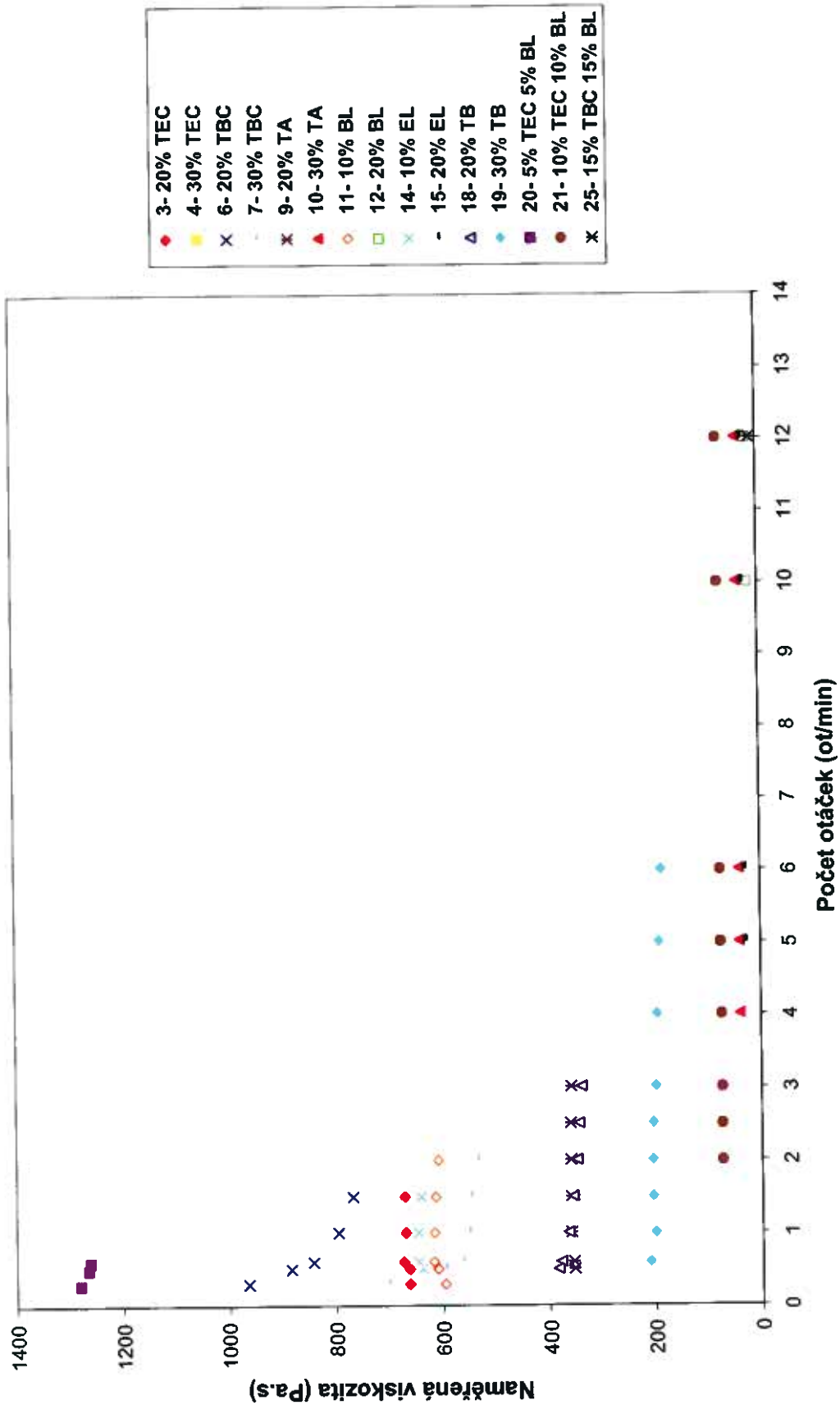


Rovnice kalibrační křivky:  $y = 0,0614x + 0,0051$   $r = 0,9997$

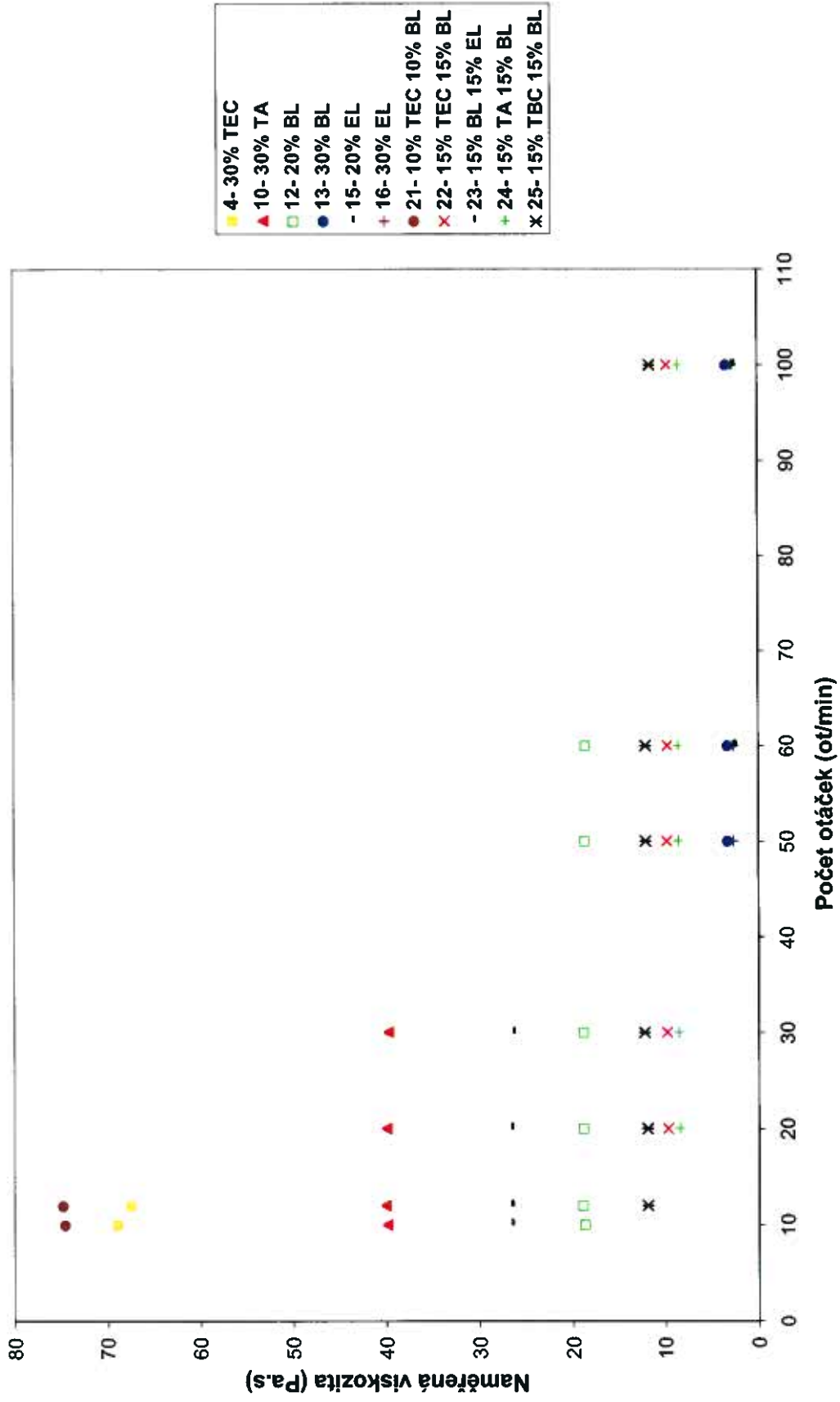
## **4. VÝSLEDKY - TABULKY A GRAFY**

### **4.1 REOLOGICKÉ VLASTNOSTI**

Obr. 10: Viskozita plastifikovaného oligoesteru 75 - vřeteno S14, teplota 37 °C, 0-12 ot/min.

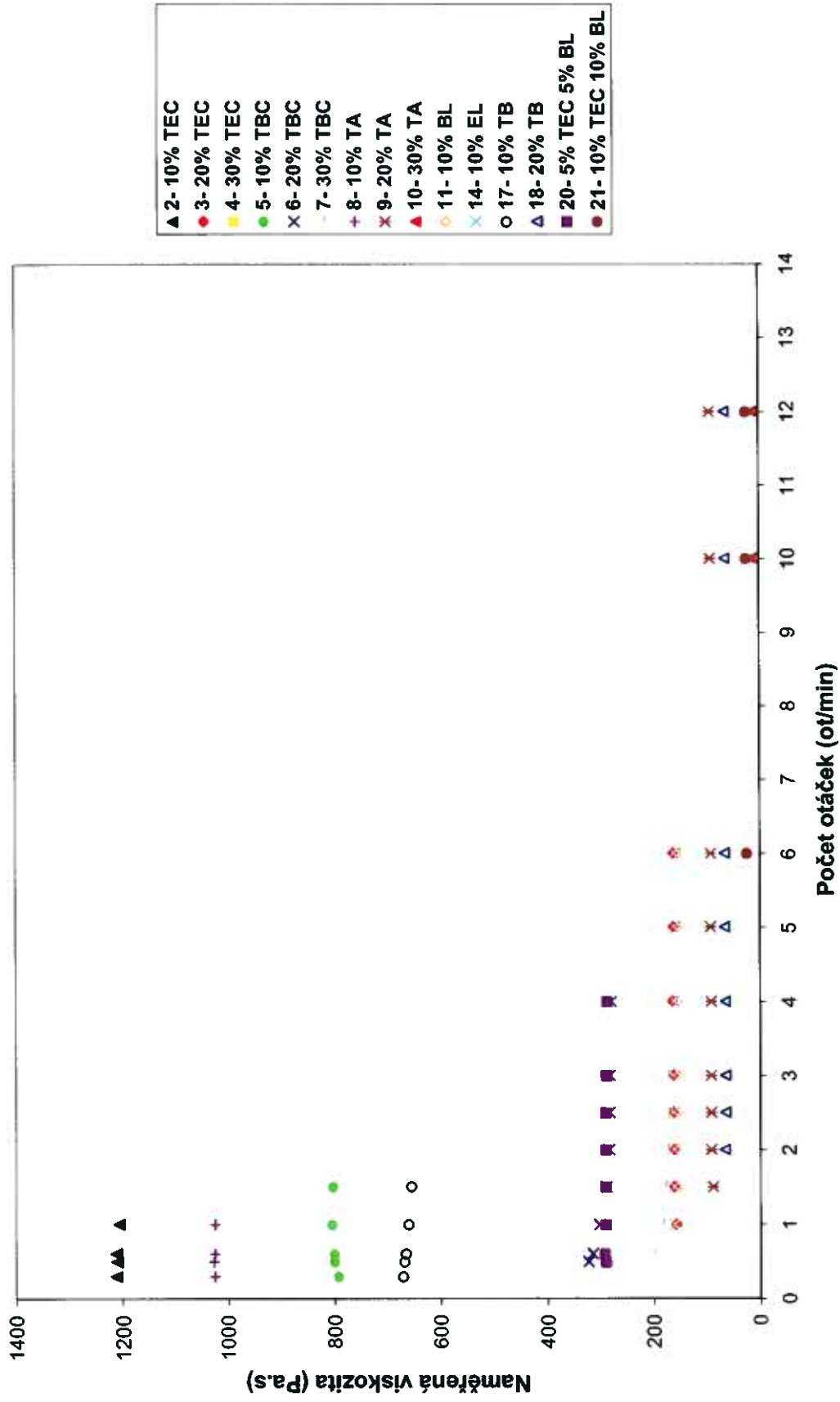


Obr. 11: Viskozita plastifikovaného oligoesteru 75 - vřeteno S14, teplota 37 °C, 10-100 ot/min.

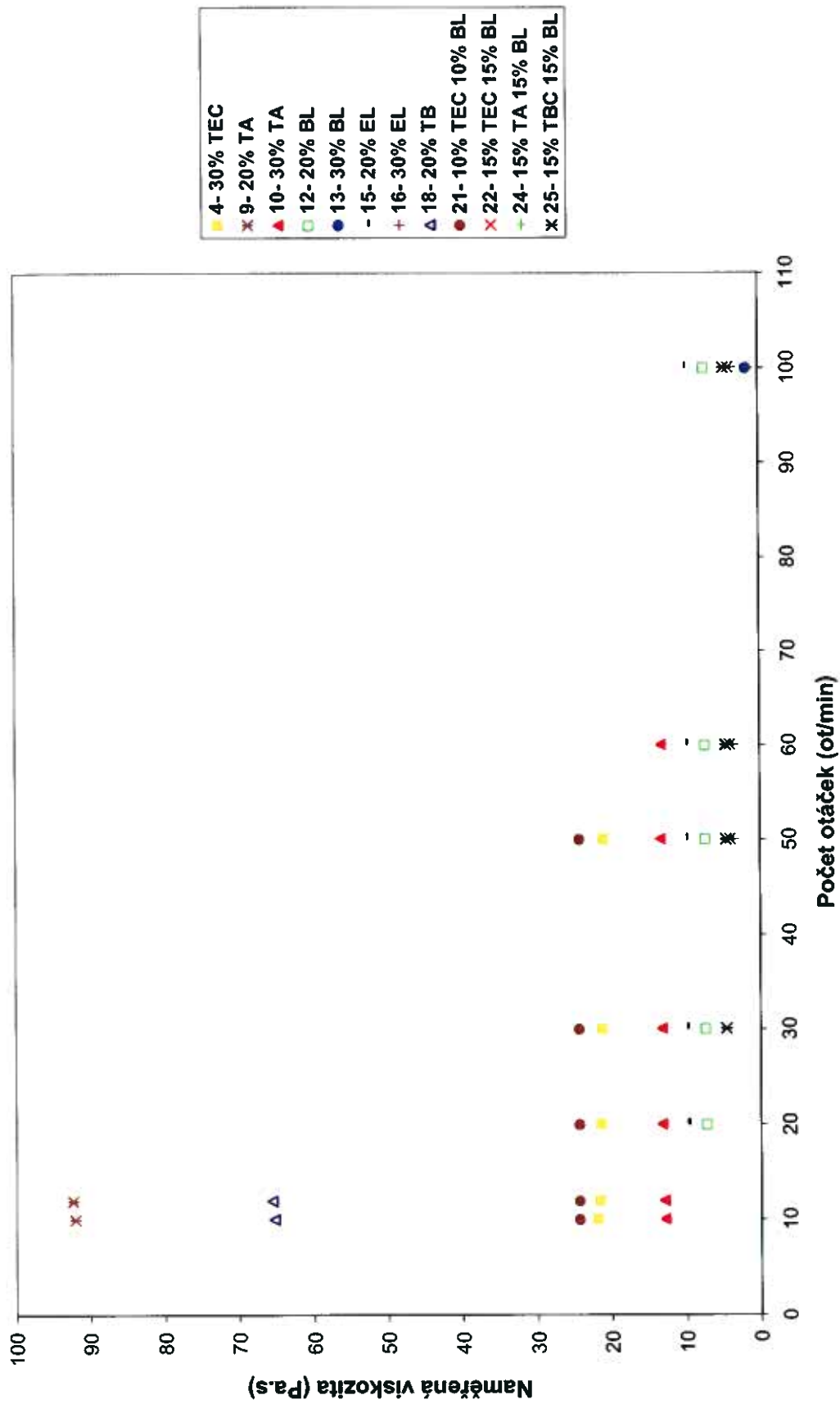




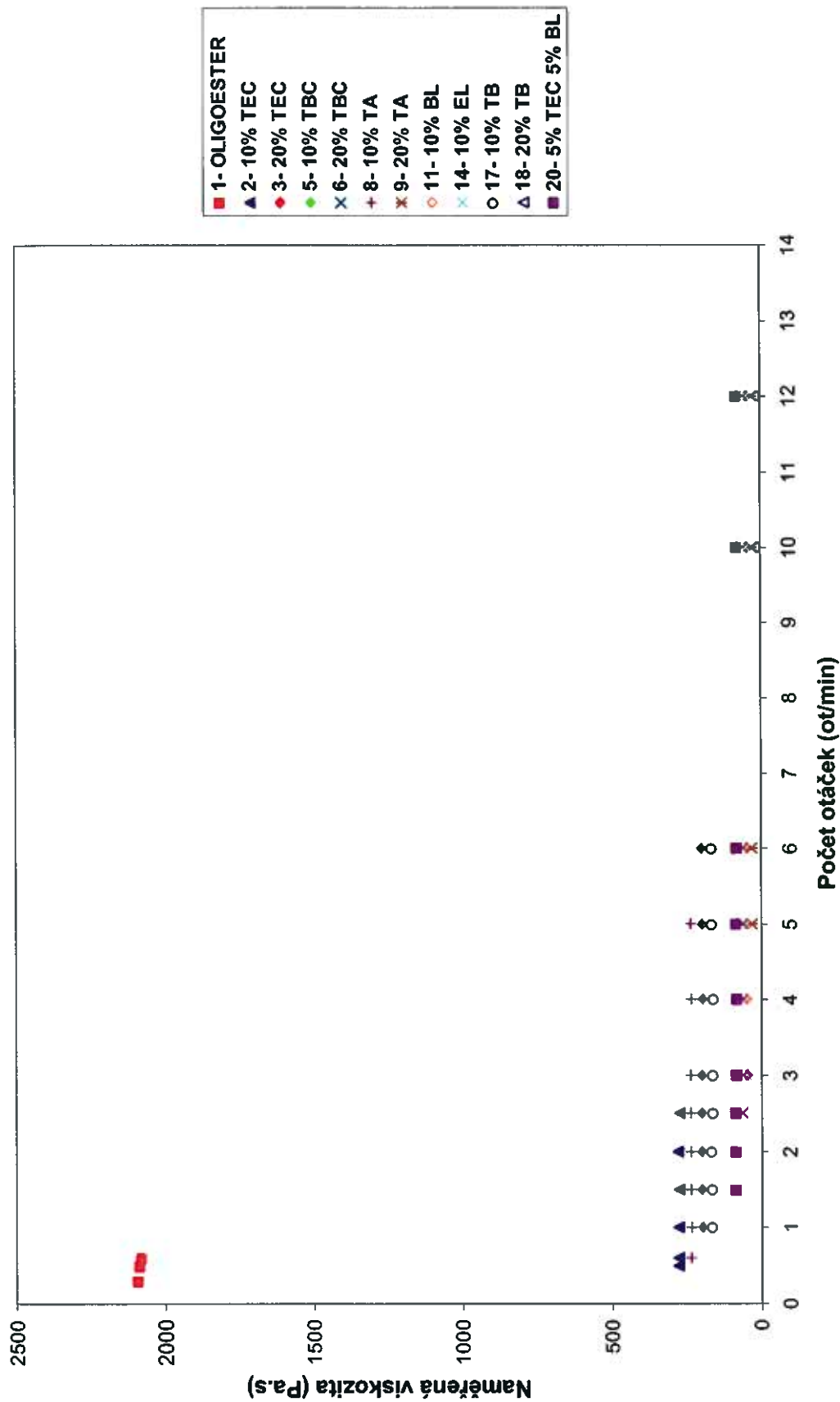
Obr. 12: Viskozita plastifikovaného oligoesteru 75 - vřeteno S14, teplota 45 °C, 0-12 ot/min.



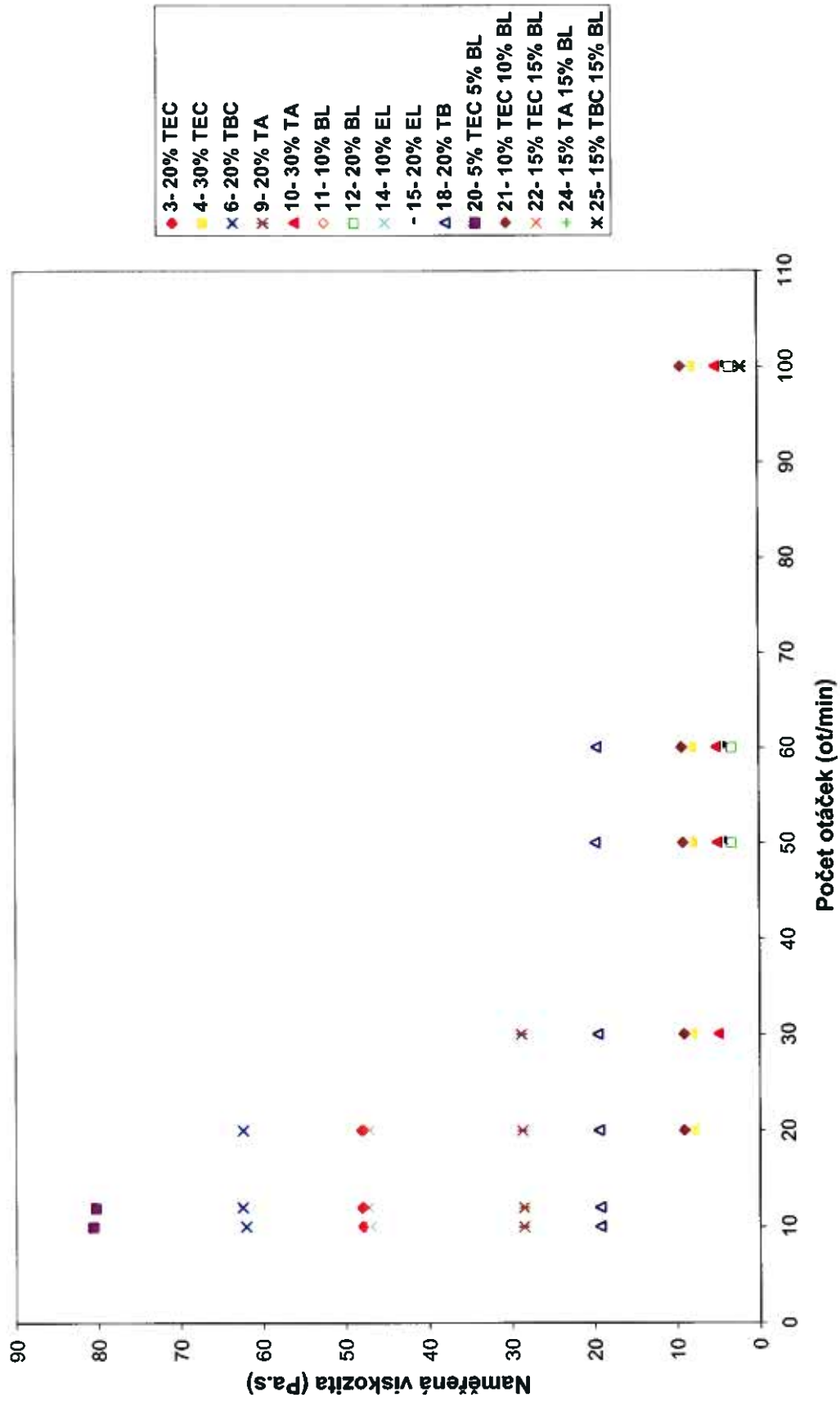
Obr. 13: Viskozita plastifikovaného oligoesteru 75 - vřeteno S14, teplota 45 °C, 10-100 ot/min.



Obr. 14: Viskozita plastifikovaného oligoesteru 75 - včetně S14, teplota 53 °C, 0-12 ot/min.



Obr. 15: Viskozita plastifikovaného oligoesteru 75 - včetně S14, teplota 53 °C, 10-100 ot/min.



Tab. 13: Reologické vlastnosti vzorku č. 1 – bez plastifikátoru, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,3	2092,0	50,2	61,9	0,12
0,5	2087,0	83,5	103,0	0,20
0,6	2080,0	99,9	123,2	0,24

Tab. 14: Reologické vlastnosti vzorku č. 2 – 10 % TEC, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,3	1212,0	29,1	35,9	0,12
0,5	1210,0	48,4	59,7	0,20
0,6	1212,0	58,2	71,8	0,24
1,0	1206,0	95,5	119,0	0,40

Tab. 15: Reologické vlastnosti vzorku č. 2 – 10 % TEC, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
1,0	278,0	22,2	27,4	0,40
1,5	278,3	33,4	41,2	0,60
2,0	277,5	44,4	54,8	0,80
2,5	278,0	55,6	68,6	1,00
3,0	278,8	66,9	82,5	1,20
4,0	275,3	88,1	108,7	1,60

Tab. 16: Reologické vlastnosti vzorku č. 3 – 20 % TEC, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,3	663,0	15,9	19,6	0,12
0,5	663,0	26,5	32,7	0,20
0,6	673,0	32,3	39,9	0,24
1,0	670,0	53,6	66,1	0,40
1,5	670,8	80,5	99,3	0,60

Tab. 17: Reologické vlastnosti vzorku č. 3 – 20 % TEC, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
1,0	160,0	12,8	15,8	0,40
1,5	161,7	19,4	23,9	0,60
2,0	162,5	26,0	32,1	0,80
2,5	163,0	32,6	40,2	1,00
3,0	163,8	39,3	48,5	1,20
4,0	164,1	52,5	64,8	1,60
5,0	163,8	65,4	80,8	2,00
6,0	163,3	78,4	96,7	2,40

Tab. 18: Reologické vlastnosti vzorku č. 3 – 20 % TEC, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
3,0	48,3	11,6	14,3	1,20
4,0	48,4	15,5	19,1	1,60
5,0	48,5	19,4	23,9	2,00
6,0	48,3	23,2	28,6	2,40
10,0	48,0	38,4	47,4	4,00
12,0	48,1	46,3	56,9	4,80
20,0	48,1	77,0	95,0	8,00

Tab. 19: Reologické vlastnosti vzorku č. 4 – 30 % TEC, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
2,0	71,3	11,4	14,1	0,80
2,5	72,0	14,3	17,8	1,00
3,0	70,4	16,9	20,8	1,20
4,0	70,3	22,5	27,8	1,60
5,0	69,8	27,8	34,4	2,00
6,0	68,8	32,8	40,7	2,40
10,0	68,9	55,1	68,0	4,00
12,0	67,5	64,8	79,9	4,80

Tab. 20: Reologické vlastnosti vzorku č. 4 – 30 % TEC, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
6,0	21,5	11,3	12,7	2,40
10,0	21,9	17,5	21,6	4,00
12,0	21,6	20,7	25,6	4,80
20,0	21,4	34,3	42,3	8,00
30,0	21,3	51,0	62,9	12,00
50,0	21,1	84,4	104,0	20,00

Tab. 21: Reologické vlastnosti vzorku č. 4 – 30 % TEC, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
20,0	7,9	12,7	15,7	8,00
30,0	8,0	19,2	23,7	12,00
50,0	8,0	32,1	39,6	20,00
60,0	8,0	38,5	47,5	24,00
100,0	8,0	64,2	79,2	40,00

Tab. 22: Reologické vlastnosti vzorku č. 5 – 10 % TBC, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,3	792,0	19,0	23,4	0,12
0,5	800,0	32,0	39,5	0,20
0,6	800,0	38,4	47,4	0,24
1,0	803,0	64,2	79,2	0,40
1,5	801,7	96,2	118,7	0,60

Tab. 23: Reologické vlastnosti vzorku č. 5 – 10 % TBC, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
1,0	198,0	15,8	19,5	0,40
1,5	200,0	24,0	29,6	0,60
2,0	200,0	32,0	39,5	0,80
2,5	200,0	40,0	49,3	1,00
3,0	199,2	47,8	59,0	1,20
4,0	197,5	63,2	78,0	1,60
5,0	195,5	78,2	96,5	2,00
6,0	196,7	94,4	116,5	2,40

Tab. 24: Reologické vlastnosti vzorku č. 6 – 20 % TBC, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,3	963,0	23,1	28,5	0,12
0,5	883,0	35,3	43,6	0,20
0,6	842,0	40,4	49,9	0,24
1,0	796,0	63,7	78,6	0,40
1,5	768,3	92,2	113,7	0,60

Tab. 25: Reologické vlastnosti vzorku č. 6 – 20 % TBC, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,5	323,0	12,9	15,9	0,20
0,6	315,0	15,1	18,7	0,24
1,0	301,0	24,1	29,7	0,40
1,5	289,2	34,7	42,8	0,60
2,0	283,8	45,4	56,0	0,80
2,5	282,5	56,5	69,7	1,00
3,0	282,9	67,9	83,7	1,20
4,0	280,6	89,8	110,8	1,60

Tab. 26: Reologické vlastnosti vzorku č. 6 – 20 % TBC, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
2,5	61,5	12,3	15,2	1,00
3,0	61,3	14,7	18,2	1,20
4,0	60,9	19,5	24,0	1,60
5,0	61,5	24,6	30,3	2,00
6,0	62,3	29,9	36,9	2,40
10,0	62,1	49,7	61,3	4,00
12,0	62,5	60,0	74,0	4,80
20,0	62,4	99,8	123,1	8,00

Tab. 27: Reologické vlastnosti vzorku č. 7 – 30 % TBC, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,3	700,0	16,8	20,7	0,12
0,5	593,0	23,7	29,3	0,20
0,6	560,0	26,9	33,2	0,24
1,0	549,0	43,9	54,2	0,40
1,5	545,0	65,4	80,7	0,60
2,0	531,9	85,1	105,0	0,80

**Tab. 28: Reologické vlastnosti vzorku č. 7 – 30 % TBC, teplota 45 °C.**

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,6	198,0	9,5	11,7	0,24
1,0	180,0	14,4	17,8	0,40
1,5	176,7	21,2	26,2	0,60
2,0	173,1	27,7	34,2	0,80
2,5	166,5	33,3	41,1	1,00
3,0	166,7	40,0	49,3	1,20
4,0	156,6	50,1	61,8	1,60
5,0	150,3	60,1	74,2	2,00
6,0	148,5	71,3	87,9	2,40

**Tab. 29: Reologické vlastnosti vzorku č. 8 – 10 % TA, teplota 45 °C.**

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,3	1025,0	24,6	30,3	0,12
0,5	1028,0	41,1	50,7	0,20
0,6	1025,0	49,2	60,7	0,24
1,0	1025,0	82,0	101,1	0,40

**Tab. 30: Reologické vlastnosti vzorku č. 8 – 10 % TA, teplota 53 °C.**

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,6	235,0	11,2	13,9	0,24
1,0	236,0	18,9	23,3	0,40
1,5	238,3	28,6	35,3	0,60
2,0	237,5	38,0	46,9	0,80
2,5	237,5	47,5	58,6	1,00
3,0	237,1	56,9	70,2	1,20
4,0	235,6	75,4	93,0	1,60
5,0	234,5	93,7	115,7	2,00

**Tab. 31: Reologické vlastnosti vzorku č. 9 – 20 % TA, teplota 37 °C.**

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,5	353,0	14,1	17,4	0,20
0,6	354,0	17,0	21,0	0,24
1,0	358,0	28,6	35,3	0,40
1,5	358,3	43,0	53,0	0,60
2,0	358,8	57,4	70,8	0,80
2,5	358,0	71,6	88,3	1,00
3,0	357,1	85,7	105,7	1,20



Tab. 32: Reologické vlastnosti vzorku č. 9 – 20 % TA, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
1,5	89,2	10,7	13,2	0,60
2,0	91,3	14,5	18,0	0,80
2,5	91,5	18,3	22,6	1,00
3,0	91,7	22,0	27,1	1,20
4,0	92,2	29,5	36,4	1,60
5,0	92,8	37,1	45,8	2,00
6,0	92,3	44,3	54,7	2,40
10,0	92,1	73,7	90,9	4,00
12,0	92,4	88,7	109,4	4,80

Tab. 33: Reologické vlastnosti vzorku č. 9 – 20 % TA, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
5,0	28,0	11,2	13,8	2,00
6,0	28,1	13,5	16,6	2,40
10,0	28,5	22,8	28,1	4,00
12,0	28,5	27,4	33,7	4,80
20,0	28,7	45,9	56,6	8,00
30,0	28,8	69,0	85,2	12,00

Tab. 34: Reologické vlastnosti vzorku č. 10 – 30 % TA, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
4,0	39,4	12,6	15,6	1,60
5,0	39,5	15,8	19,5	2,00
6,0	39,8	19,1	23,6	2,40
10,0	39,9	31,9	39,4	4,00
12,0	40,1	38,5	47,5	4,80
20,0	40,0	64,0	78,9	8,00
30,0	39,8	95,4	117,7	12,00

Tab. 35: Reologické vlastnosti vzorku č. 10 – 30 % TA, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
10,0	12,9	10,3	12,7	4,00
12,0	13,0	12,5	15,4	4,80
20,0	13,3	21,2	26,2	8,00
30,0	13,3	32,0	39,5	12,00
50,0	13,4	53,5	66,0	20,00
60,0	13,3	64,0	78,9	24,00

Tab. 36: Reologické vlastnosti vzorku č. 10 – 30 % TA, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
30,0	5,0	12,1	14,9	12,00
50,0	5,1	20,3	25,3	20,00
60,0	5,1	24,8	30,6	24,00
100,0	5,2	41,5	51,2	40,00

Tab. 37: Reologické vlastnosti vzorku č. 11 – 10 % BL, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,3	596,0	14,3	17,6	0,12
0,5	610,0	24,4	30,1	0,20
0,6	617,0	29,6	36,5	0,24
1,0	616,0	49,3	60,8	0,40
1,5	613,3	73,6	90,8	0,60
2,0	608,0	97,3	120,0	0,80

Tab. 38: Reologické vlastnosti vzorku č. 11 – 10 % BL, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
1,0	155,0	12,4	15,3	0,40
1,5	155,0	18,6	22,9	0,60
2,0	155,6	24,9	30,7	0,80
2,5	155,5	31,1	38,4	1,00
3,0	155,4	37,3	46,0	1,20
4,0	155,0	49,6	61,2	1,60
5,0	155,3	62,1	76,6	2,00
6,0	154,8	74,3	91,7	2,40

Tab. 39: Reologické vlastnosti vzorku č. 11 – 10 % BL, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
3,0	47,5	11,4	14,1	1,20
4,0	47,2	15,2	18,6	1,60
5,0	48,0	19,2	23,7	2,00
6,0	47,7	22,9	28,3	2,40
10,0	47,6	38,1	47,0	4,00
12,0	47,7	45,8	56,5	4,80
20,0	48,0	76,8	94,7	8,00

Tab. 40: Reologické vlastnosti vzorku č. 12 – 20 % BL, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
10,0	18,6	14,9	18,4	4,00
12,0	18,8	18,0	22,3	4,80
20,0	18,8	30,0	37,0	8,00
30,0	18,8	45,0	55,5	12,00
50,0	18,6	74,5	91,9	20,00
60,0	18,5	88,8	109,7	24,00

Tab. 41: Reologické vlastnosti vzorku č. 12 – 20 % BL, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
20,0	7,3	11,6	14,3	8,00
30,0	7,3	17,6	21,7	12,00
50,0	7,3	29,2	36,0	20,00
60,0	7,3	35,1	43,3	24,00
100,0	7,3	58,7	72,4	40,00

Tab. 42: Reologické vlastnosti vzorku č. 12 – 20 % BL, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
50,0	3,3	13,1	16,2	20,00
60,0	3,3	15,7	19,4	24,00
100,0	3,3	26,6	32,9	40,00

Tab. 43: Reologické vlastnosti vzorku č. 13 – 30 % BL, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
50,0	3,3	13,1	16,2	20,00
60,0	3,3	15,7	19,4	24,00
100,0	3,3	26,6	32,9	40,00

Tab. 44: Reologické vlastnosti vzorku č. 13 – 30 % BL, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
100,0	1,6	12,9	15,9	40,00

Tab. 45: Reologické vlastnosti vzorku č. 14 – 10 % EL, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,5	638,0	25,5	31,5	0,20
0,6	646,0	31,1	38,3	0,24
1,0	645,0	51,6	63,7	0,40
1,5	640,8	76,9	94,9	0,60

Tab. 46: Reologické vlastnosti vzorku č. 14 – 10 % EL, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
1,0	161,0	12,9	15,9	0,40
1,5	161,7	19,4	23,9	0,60
2,0	162,5	26,0	32,1	0,80
2,5	163,5	32,7	40,3	1,00
3,0	162,9	39,1	48,2	1,20
4,0	162,5	52,0	64,1	1,60
5,0	162,5	65,0	80,2	2,00
6,0	161,9	77,7	95,9	2,40

Tab. 47: Reologické vlastnosti vzorku č. 14 – 10 % EL, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
3,0	46,7	11,2	13,8	1,20
4,0	46,9	15,0	18,5	1,60
5,0	47,0	18,8	23,2	2,00
6,0	47,1	22,6	27,9	2,40
10,0	47,0	37,6	46,4	4,00
12,0	47,2	45,3	55,9	4,80
20,0	47,1	75,4	93,0	8,00

Tab. 48: Reologické vlastnosti vzorku č. 15 – 20 % EL, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
5,0	25,5	10,2	12,6	2,00
6,0	25,8	12,4	15,3	2,40
10,0	26,4	21,1	26,1	4,00
12,0	26,4	25,3	31,3	4,80
20,0	26,4	42,2	52,1	8,00
30,0	26,2	62,8	77,5	12,00

Tab. 49: Reologické vlastnosti vzorku č. 15 – 20 % EL, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
20,0	9,6	15,3	18,9	8,00
30,0	9,6	23,1	28,5	12,00
50,0	9,7	38,8	47,9	20,00
60,0	9,7	46,4	57,3	24,00
100,0	9,6	77,0	95,0	40,00

Tab. 50: Reologické vlastnosti vzorku č. 15 – 20 % EL, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
50,0	4,1	16,2	20,0	20,00
60,0	4,1	19,5	24,0	24,00
100,0	4,1	32,7	40,4	40,00

Tab. 51: Reologické vlastnosti vzorku č. 16 – 30 % EL, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
50,0	2,7	10,7	13,2	20,00
60,0	2,7	12,9	15,9	24,00
100,0	2,7	21,8	26,9	40,00

Tab. 52: Reologické vlastnosti vzorku č. 16 – 30 % EL, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
100,0	1,3	10,6	13,1	40,00

Tab. 53: Reologické vlastnosti vzorku č. 17 – 10 % TB, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,3	671,0	16,1	19,9	0,12
0,5	668,0	26,7	33,0	0,20
0,6	665,0	31,9	39,4	0,24
1,0	660,0	52,8	65,1	0,40
1,5	655,0	78,6	97,0	0,60

Tab. 54: Reologické vlastnosti vzorku č. 17 – 10 % TB, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
1,0	166,0	13,3	16,4	0,40
1,5	165,8	19,9	24,5	0,60
2,0	167,5	26,8	33,1	0,80
2,5	164,5	32,9	40,6	1,00
3,0	163,8	39,3	48,5	1,20
4,0	162,2	51,9	64,0	1,60
5,0	163,3	65,4	80,6	2,00
6,0	162,9	78,1	96,5	2,40

Tab. 55: Reologické vlastnosti vzorku č. 18 – 20 % TB, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,5	383,0	15,3	18,9	0,20
0,6	377,0	18,1	22,3	0,24
1,0	364,0	29,1	35,9	0,40
1,5	354,2	42,2	52,4	0,60
2,0	348,1	55,7	68,7	0,80
2,5	344,0	68,8	84,9	1,00
3,0	338,3	81,2	100,1	1,20

Tab. 56: Reologické vlastnosti vzorku č. 18 – 20 % TB, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
2,0	66,9	10,7	13,2	0,80
2,5	65,5	13,1	16,2	1,00
3,0	65,4	15,7	19,4	1,20
4,0	65,3	20,9	25,8	1,60
5,0	66,5	26,6	32,8	2,00
6,0	65,8	31,6	39,0	2,40
10,0	65,3	52,1	64,4	4,00
12,0	65,6	63,1	77,7	4,80

Tab. 57: Reologické vlastnosti vzorku č. 18 – 20 % TB, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
10,0	19,3	15,4	19,1	4,00
12,0	19,3	18,5	22,9	4,80
20,0	19,5	31,2	38,5	8,00
30,0	19,5	46,9	57,8	12,00
50,0	19,8	79,3	97,7	20,00
60,0	19,6	94,1	116,1	24,00

**Tab. 58: Reologické vlastnosti vzorku č. 19 – 30 % TB, teplota 37 °C.**

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,6	210,0	10,1	12,4	0,24
1,0	200,0	16,0	19,7	0,40
1,5	204,2	24,5	30,2	0,60
2,0	205,0	32,8	40,5	0,80
2,5	203,0	40,6	50,1	1,00
3,0	198,3	47,6	58,7	1,20
4,0	194,1	62,1	76,6	1,60
5,0	190,5	76,2	94,0	2,00
6,0	184,6	88,6	109,3	2,40

**Tab. 59: Reologické vlastnosti vzorku č. 20 – 5 % TEC, 5 % BL, teplota 37 °C.**

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,3	1279,0	30,7	37,9	0,12
0,5	1265,0	50,6	62,4	0,20
0,6	1260,0	60,5	74,6	0,24

**Tab. 60: Reologické vlastnosti vzorku č. 20 – 5 % TEC, 5 % BL, teplota 45 °C.**

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
0,5	290,0	11,6	14,3	0,20
0,6	292,0	14,0	17,3	0,24
1,0	290,0	23,2	28,6	0,40
1,5	290,0	34,8	42,9	0,60
2,0	289,4	46,3	57,1	0,80
2,5	289,0	57,8	71,3	1,00
3,0	287,9	69,1	85,2	1,20
4,0	286,6	91,7	113,1	1,60

**Tab. 61: Reologické vlastnosti vzorku č. 20 – 5 % TEC, 5 % BL, teplota 53 °C.**

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
1,5	83,3	10,0	12,3	0,60
2,0	83,1	13,3	16,4	0,80
2,5	82,0	16,4	20,2	1,00
3,0	81,3	19,5	24,1	1,20
4,0	81,3	26,0	32,1	1,60
5,0	82,0	32,8	40,5	2,00
6,0	81,3	39,0	48,1	2,40
10,0	80,6	64,5	79,5	4,00
12,0	80,3	77,1	95,1	4,80

Tab. 62: Reologické vlastnosti vzorku č. 21 – 10 % TEC, 10 % BL, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
2,0	73,1	11,6	14,4	0,80
2,5	73,0	14,6	18,0	1,00
3,0	72,9	17,5	21,6	1,20
4,0	73,1	23,3	28,9	1,60
5,0	73,8	29,5	36,4	2,00
6,0	74,8	35,8	44,3	2,40
10,0	74,5	59,6	73,5	4,00
12,0	74,8	71,9	88,5	4,80

Tab. 63: Reologické vlastnosti vzorku č. 21 – 10 % TEC, 10 % BL, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
6,0	24,2	11,6	14,3	2,40
10,0	24,3	19,4	24,0	4,00
12,0	24,3	23,3	28,8	4,80
20,0	24,3	38,9	48,0	8,00
30,0	24,3	58,2	71,8	12,00
50,0	24,2	99,6	119,2	20,00

Tab. 64: Reologické vlastnosti vzorku č. 21 – 10 % TEC, 10 % BL, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
20,0	9,1	14,6	18,0	8,00
30,0	9,2	22,1	27,1	12,00
50,0	9,2	36,9	45,5	20,00
60,0	9,3	44,7	55,1	24,00
100,0	9,3	74,6	92,1	40,00

Tab. 65: Reologické vlastnosti vzorku č. 22 – 15 % TEC, 15 % BL, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
20,0	9,8	15,6	19,2	8,00
30,0	9,8	23,5	29,0	12,00
50,0	9,8	39,2	48,4	20,00
60,0	9,7	46,6	57,5	24,00
100,0	9,7	77,6	95,7	40,00

Tab. 66: Reologické vlastnosti vzorku č. 22 – 15 % TEC, 15 % BL, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
50,0	4,0	15,9	19,6	20,00
60,0	4,0	19,1	23,6	24,00
100,0	4,0	32,2	39,8	40,00

Tab. 67: Reologické vlastnosti vzorku č. 22 – 15 % TEC, 15 % BL, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzní napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
100,0	1,9	15,0	18,6	40,00

Tab. 68: Reologické vlastnosti vzorku č. 23 – 15 % BL, 15 % EL, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
60,0	2,4	11,3	13,9	24,00
100,0	2,4	19,2	23,7	40,00

Tab. 69: Reologické vlastnosti vzorku č. 24 – 15 % TA, 15 % BL, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
20,0	8,4	13,5	16,7	8,00
30,0	8,5	24,0	25,2	12,00
50,0	8,6	34,3	42,3	20,00
60,0	8,6	41,2	50,8	24,00
100,0	8,6	68,7	84,8	40,00

Tab. 70: Reologické vlastnosti vzorku č. 24 – 15 % TA, 15 % BL, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
50,0	3,5	14,0	17,3	20,00
60,0	3,5	16,9	20,8	24,00
100,0	3,6	28,5	35,1	40,00

Tab. 71: Reologické vlastnosti vzorku č. 24 – 15 % TA, 15 % BL, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
100,0	1,6	13,0	16,1	40,00

Tab. 72: Reologické vlastnosti vzorku č. 25 – 15 % TBC, 15 % BL, teplota 37 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
12,0	11,9	11,4	14,1	4,80
20,0	11,9	19,2	23,6	8,00
30,0	12,3	29,4	36,3	12,00
50,0	12,1	48,3	59,6	20,00
60,0	12,1	57,9	71,4	24,00
100,0	11,5	92,0	113,5	40,00

Tab. 73: Reologické vlastnosti vzorku č. 25 – 15 % TBC, 15 % BL, teplota 45 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
30,0	4,5	10,9	13,4	12,00
50,0	4,6	18,4	22,7	20,00
60,0	4,6	22,1	27,2	24,00
100,0	4,6	37,1	45,8	40,00

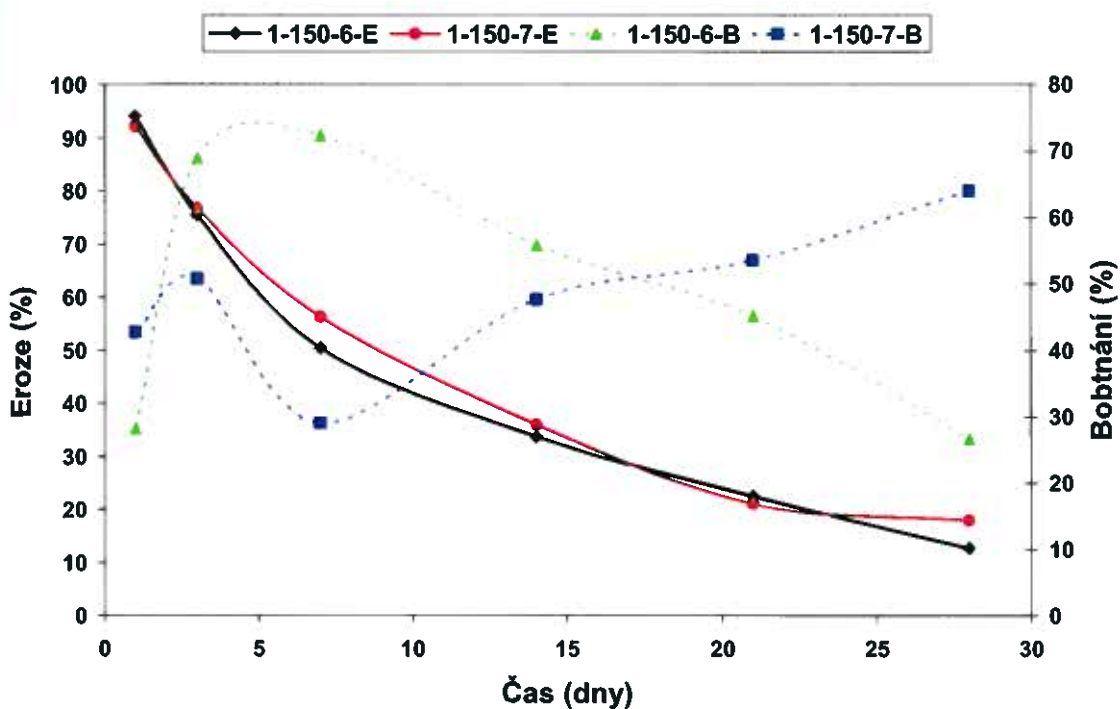
Tab. 74: Reologické vlastnosti vzorku č. 25 – 15 % TBC, 15 % BL, teplota 53 °C.

Rychlost rotace (ot/min)	Viskozita (Pa.s)	Torzni napětí (%)	Tečné napětí (Pa)	Rychlostní gradient (s <sup>-1</sup> )
100,0	2,1	16,5	20,3	40,00

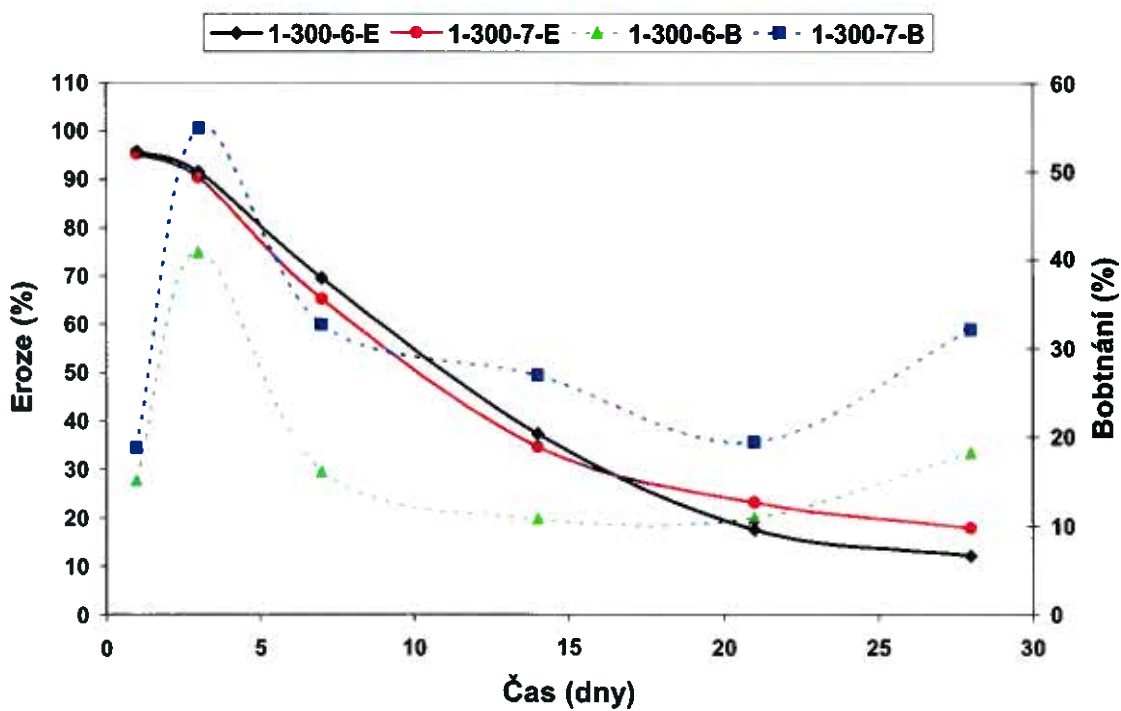


## 4.2 BOBTNÁNÍ A EROZE OLIGOMERNÍCH MATRIC

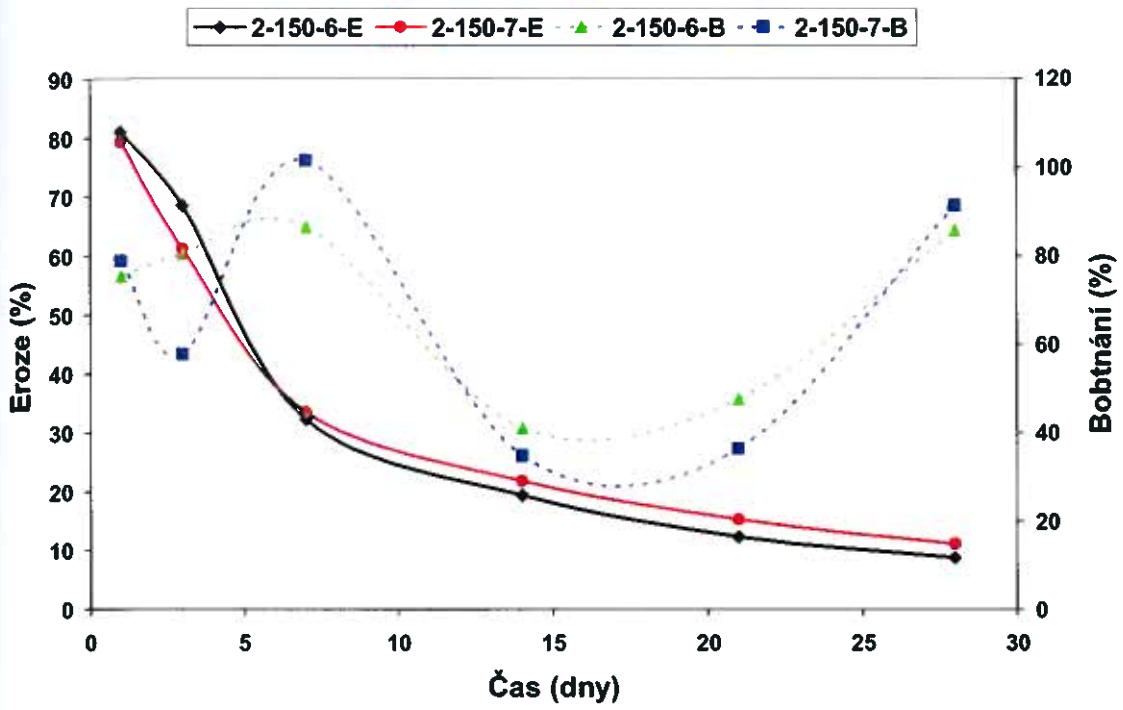
Obr. 16: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) bez plastifikátoru. (Tab. 75)



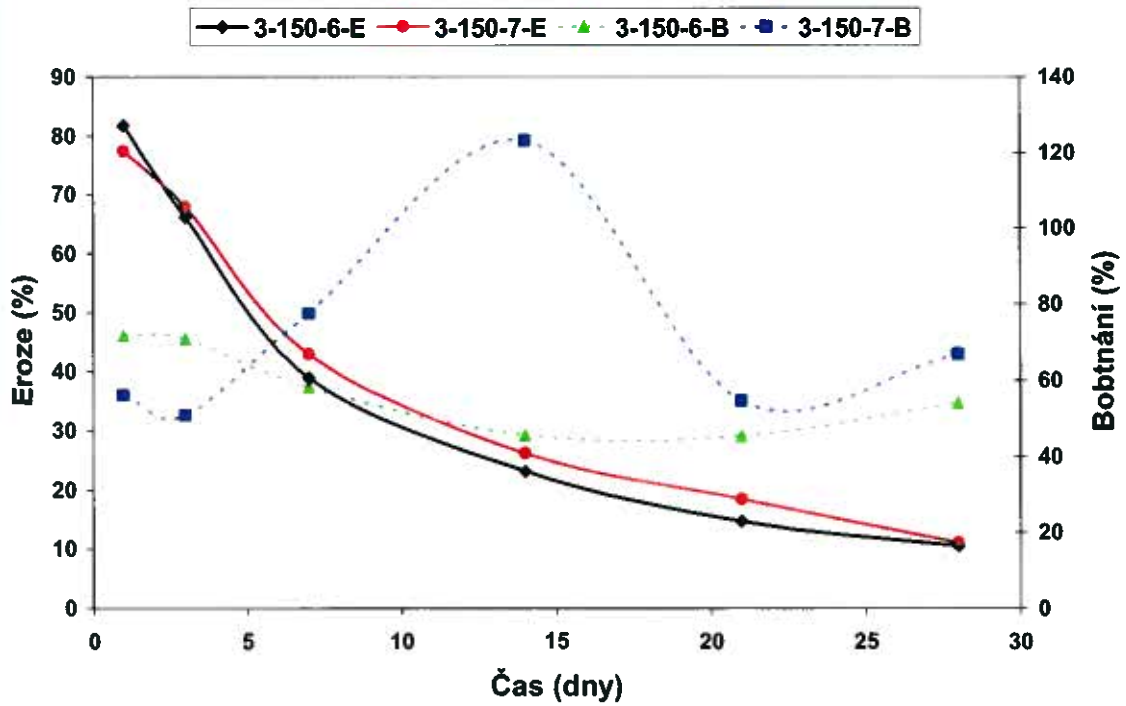
Obr. 17: Bobtnání a eroze oligomerních matric (300 mg) bez plastifikátoru. (Tab. 76)



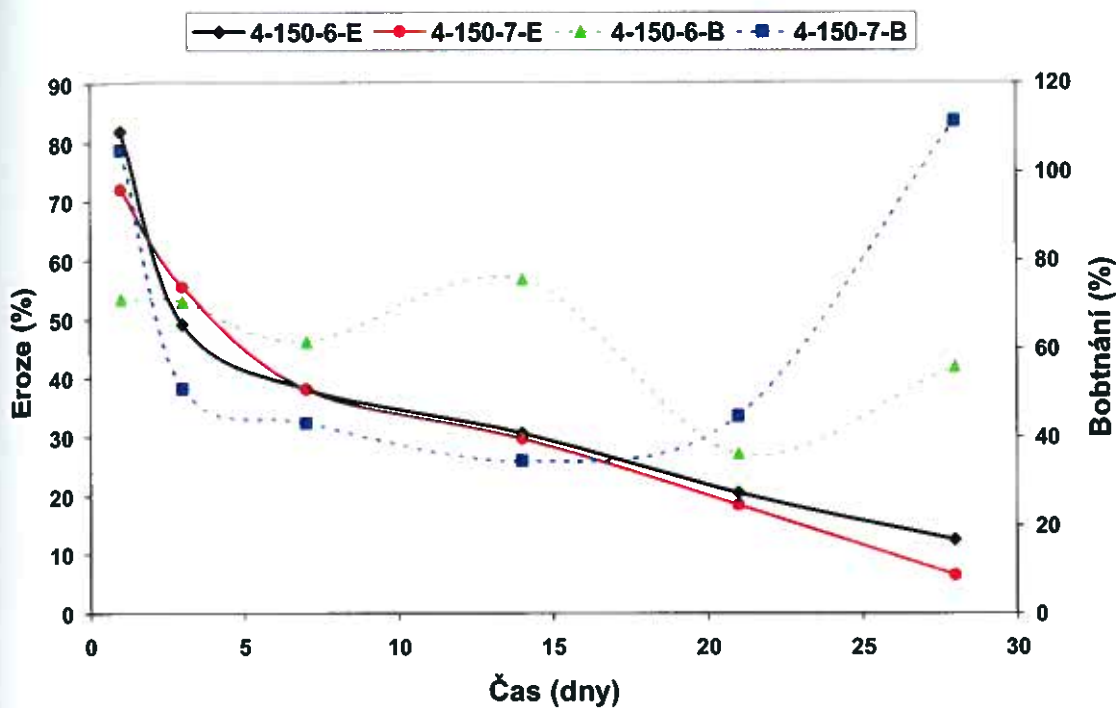
Obr. 18: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 10 % TEC. (Tab. 77)



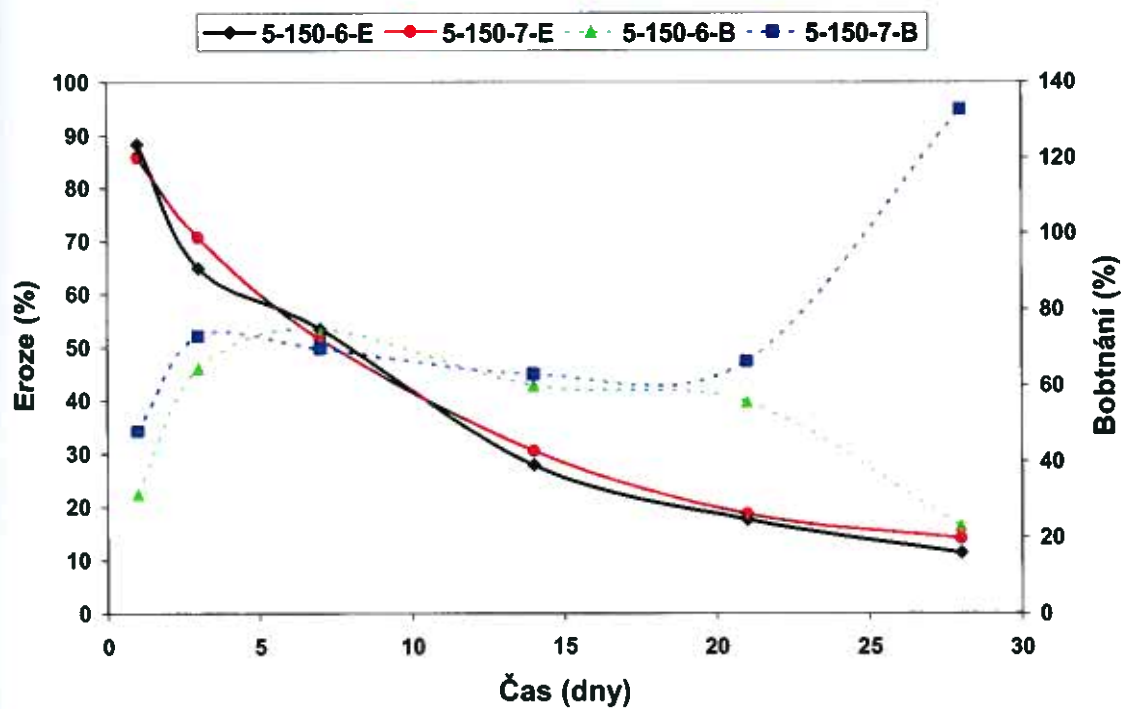
Obr. 19: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % TEC. (Tab. 78)



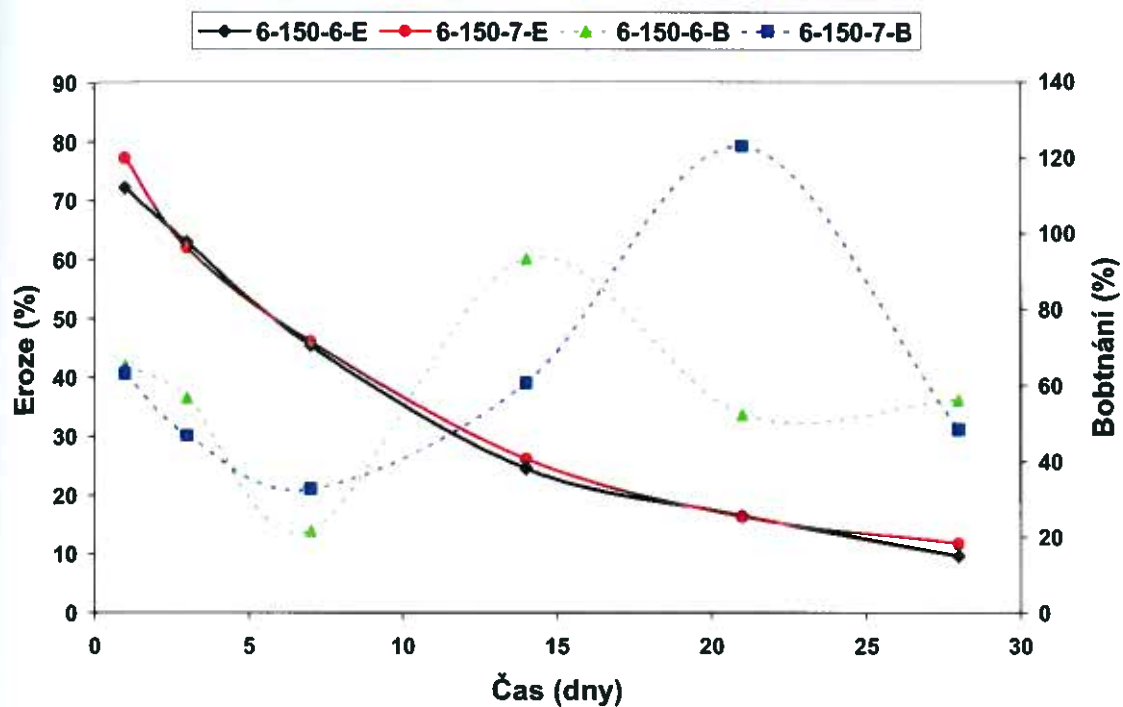
Obr. 20: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 30 % TEC. (Tab. 79)



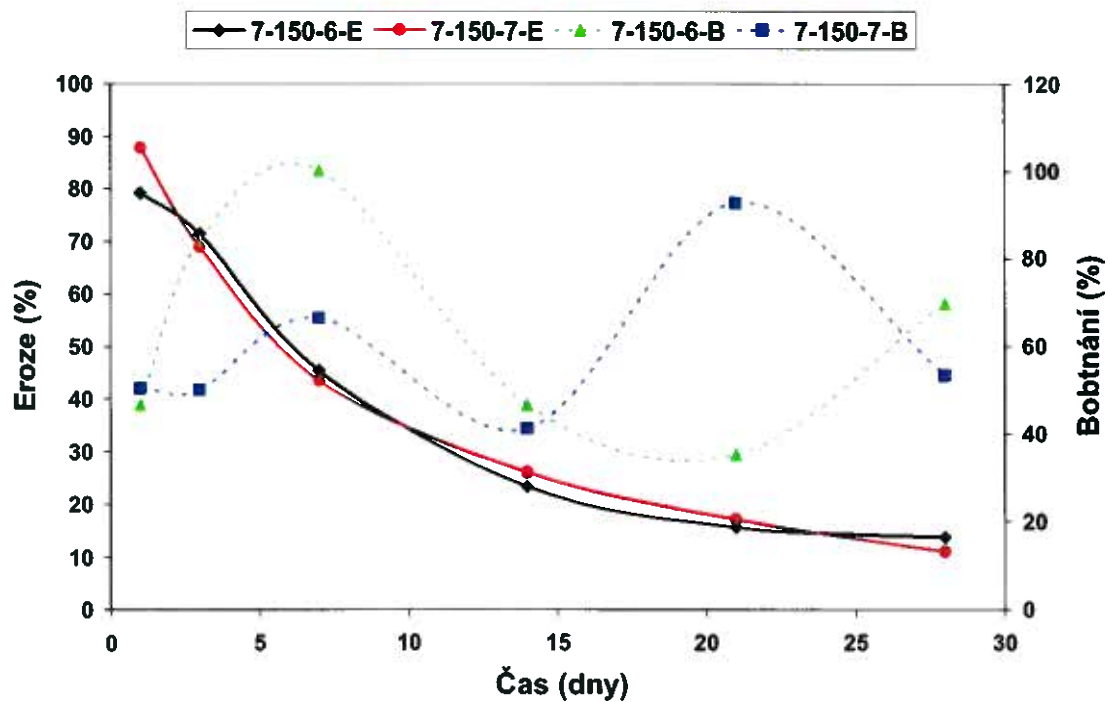
Obr. 21: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 10 % TA. (Tab. 80)



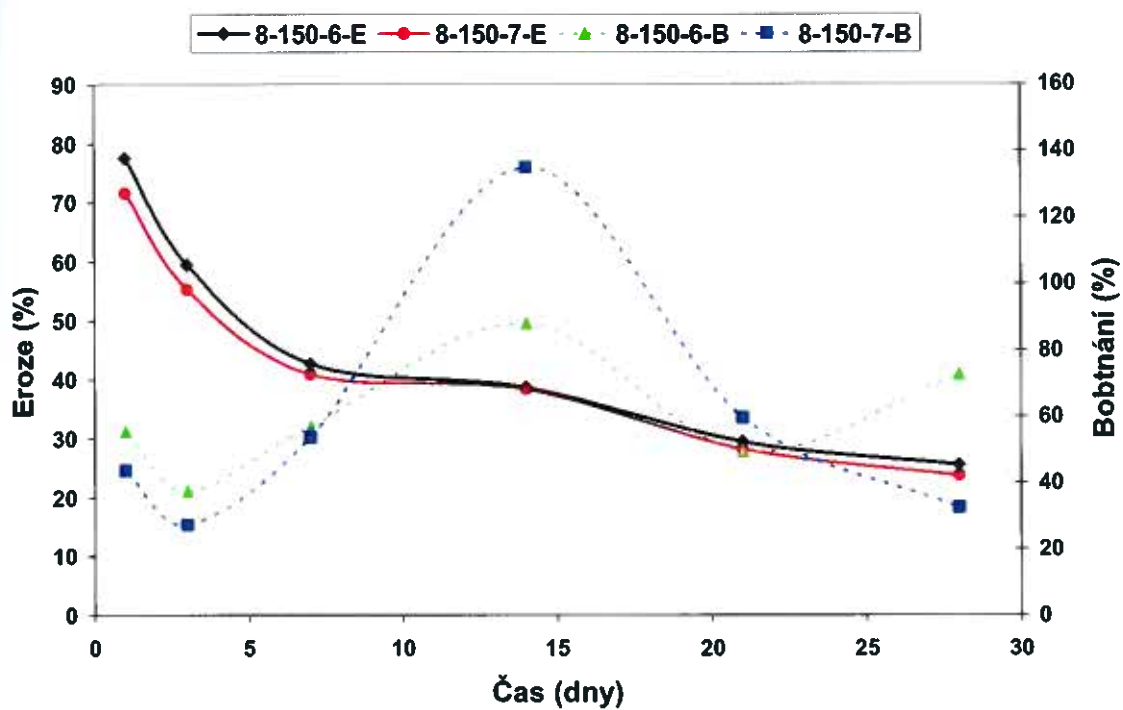
Obr. 22: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % TA. (Tab. 81)



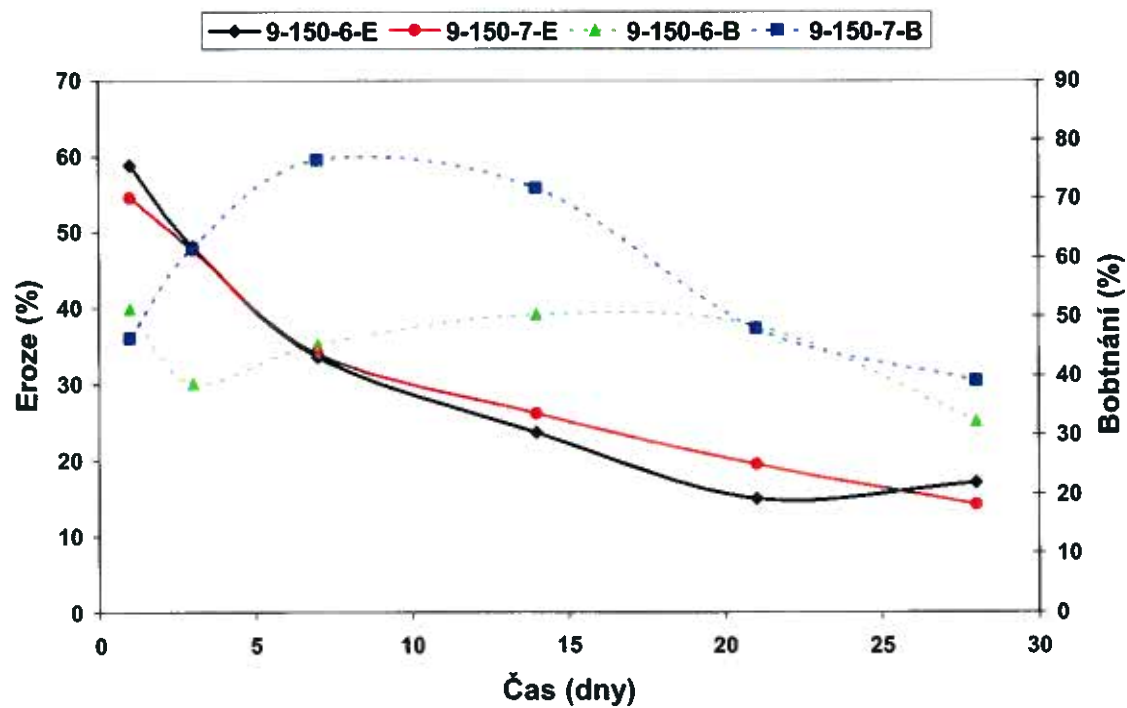
Obr. 23: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 30 % TA. (Tab. 82)



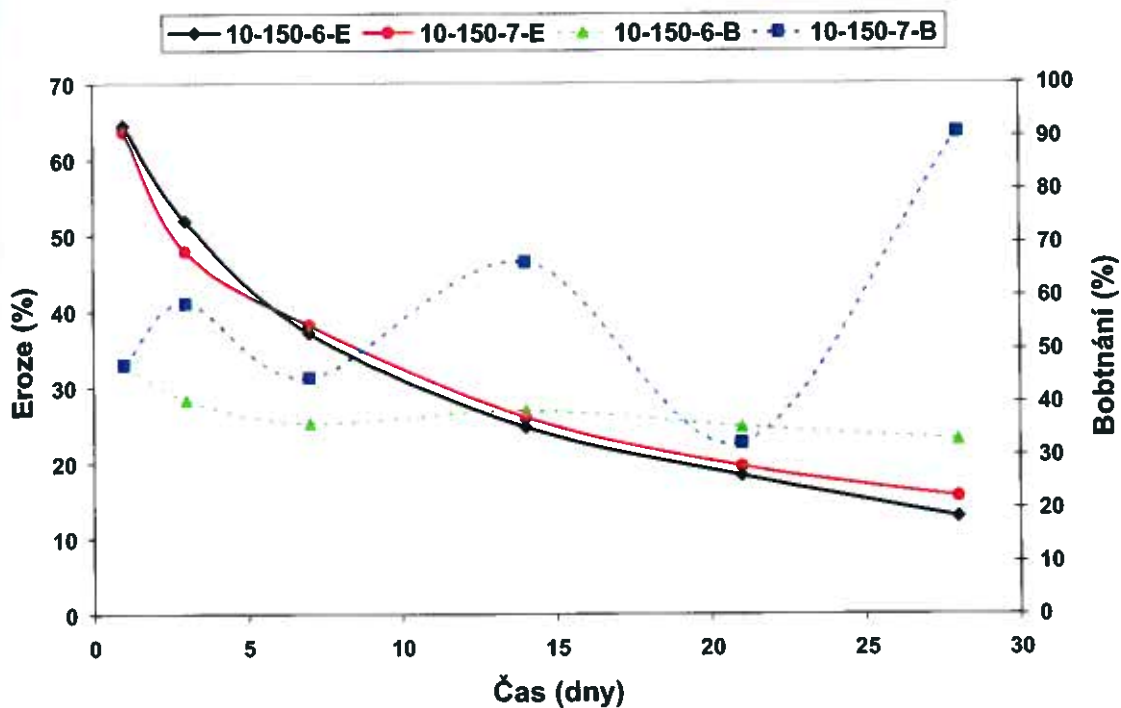
Obr. 24: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % TBC. (Tab. 83)



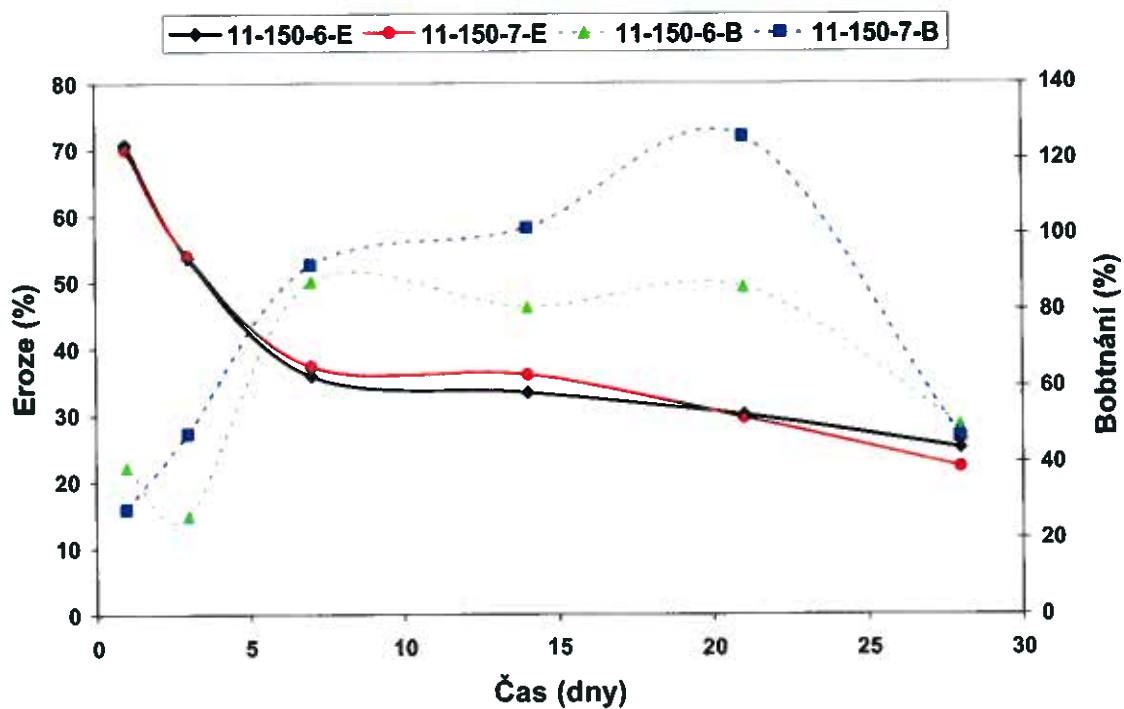
Obr. 25: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % BL. (Tab. 84)



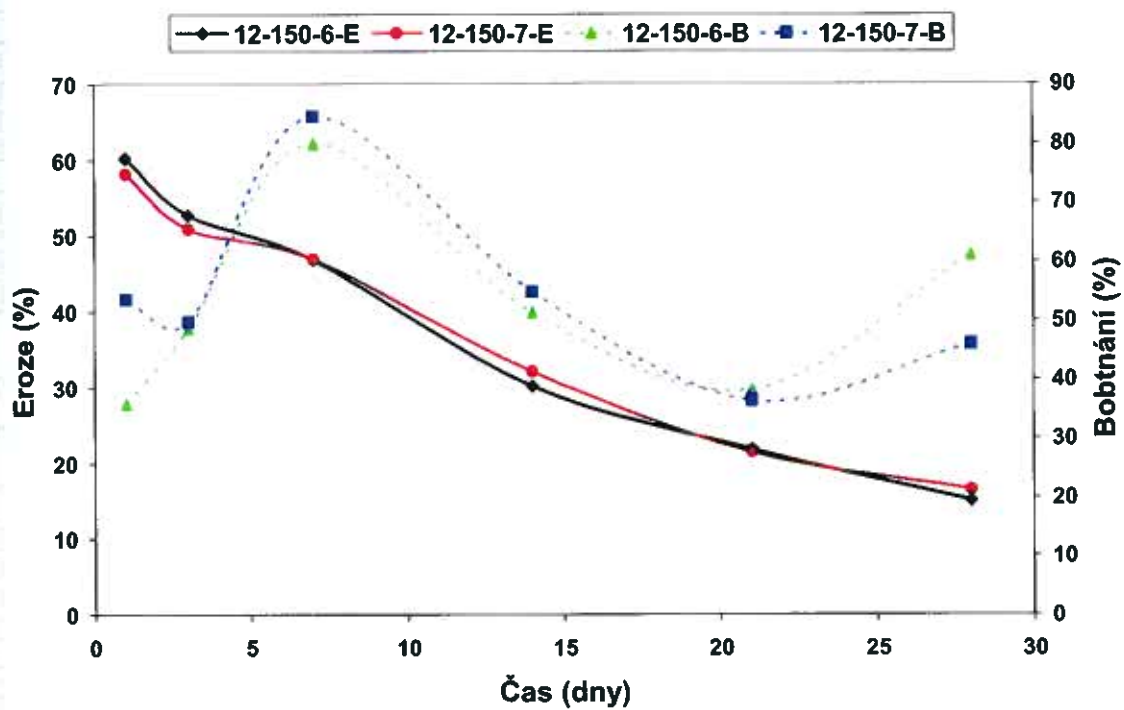
Obr. 26: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % EL. (Tab. 85)



Obr. 27: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % TB. (Tab. 86)



Obr. 28: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 15 % TEC, 15 % BL.  
(Tab. 87)





Tab. 75: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) bez plastifikátoru. (Obr. 16)

Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
1A-150-6	24,48	28,16	66,61	68,92	69,89	72,29	59,17	55,77	47,62	45,09	30,75	26,55
1B-150-6	31,83		71,23		74,68		52,36		42,55		22,34	
1A-150-7	44,12	42,67	54,13	50,69	29,03	28,93	46,77	47,66	50,95	53,53	60,05	64,02
1B-150-7	41,21		47,25		28,83		48,54		56,10		67,98	
<b>Eroze</b>												
1A-150-6	94,22	94,02	78,22	75,41	49,84	50,36	35,31	33,72	23,26	22,48	12,40	12,69
1B-150-6	93,81		72,59		50,88		32,13		21,70		12,97	
1A-150-7	91,45	92,07	78,10	76,61	57,89	56,21	35,29	36,01	20,47	20,94	18,16	17,80
1B-150-7	92,69		75,12		54,53		36,73		21,40		17,43	

Tab. 76: Bobtnání a eroze oligomerních matric (300 mg) bez plastifikátoru. (Obr. 17)

Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
1A-300-6	13,90	15,15	42,80	40,85	14,70	16,15	9,20	10,75	10,60	10,90	18,10	18,25
1B-300-6	16,40		38,90		17,60		12,30		11,20		18,40	
1A-300-7	19,50	18,85	54,70	54,80	31,60	32,65	29,10	26,90	17,10	19,40	31,10	32,05
1B-300-7	18,20		54,90		33,70		24,70		21,70		33,00	
<b>Eroze</b>												
1A-300-6	96,60	95,80	92,50	91,65	68,70	69,65	37,80	37,25	17,50	17,60	12,00	12,15
1B-300-6	95,00		90,80		70,60		36,70		17,70		12,30	
1A-300-7	95,10	95,25	88,60	90,25	65,00	65,20	33,30	34,55	22,80	23,10	18,00	17,80
1B-300-7	95,40		91,90		65,40		35,80		23,40		17,60	

Tab. 77: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 10 % TEC. (Obr. 18)

Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
2A-150-6	78,20	75,30	84,66	80,44	90,31	86,45	45,83	41,03	42,04	47,51	87,14	85,63
2B-150-6	72,40		76,21		82,59		36,22		52,97		84,11	
2A-150-7	75,99	78,78	55,49	57,75	105,01	101,56	39,10	34,78	40,68	36,36	94,01	91,33
2B-150-7	81,56		60,01		98,10		30,46		32,03		88,65	
<b>Eroze</b>												
2A-150-6	84,77	80,96	68,66	68,42	32,15	32,30	19,52	19,39	13,43	12,26	8,86	8,75
2B-150-6	77,14		68,17		32,44		19,26		11,09		8,64	
2A-150-7	76,95	79,25	59,12	61,20	30,01	33,42	21,73	21,79	14,88	15,13	10,96	10,97
2B-150-7	81,55		63,27		36,83		21,84		15,37		10,98	

Tab. 78: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % TEC. (Obr. 19)

Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
3A-150-6	68,35	71,84	67,91	70,87	57,46	58,10	40,89	45,38	41,43	45,33	57,70	54,08
3B-150-6	75,32		73,82		58,74		49,86		49,23		50,45	
3A-150-7	53,12	56,07	46,70	50,65	79,51	77,48	119,40	122,97	59,23	54,52	62,43	66,66
3B-150-7	59,01		54,59		75,45		126,54		49,81		70,89	
<b>Eroze</b>												
3A-150-6	81,55	81,75	65,65	66,16	39,76	38,92	25,94	23,15	15,55	14,62	10,87	10,51
3B-150-6	81,95		66,67		38,07		20,35		13,68		10,15	
3A-150-7	77,33	77,35	69,69	67,89	42,75	42,88	27,60	26,11	18,43	18,44	11,22	10,99
3B-150-7	77,37		66,08		43,00		24,61		18,44		10,76	

Tab. 79: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 30 % TEC. (Obr. 20)

Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
4A-150-6	75,11	71,11	65,91	70,35	65,74	61,33	79,64	75,51	39,95	36,03	50,55	55,83
4B-150-6	67,10		74,79		56,91		71,38		32,11		61,11	
4A-150-7	98,82	104,73	54,69	50,79	39,65	42,99	29,12	34,45	40,05	44,61	114,80	111,38
4B-150-7	110,63		46,89		46,32		39,78		49,16		107,96	
<b>Eroze</b>												
4A-150-6	82,23	81,77	46,65	48,99	41,94	38,04	33,98	30,56	20,02	20,49	13,07	12,51
4B-150-6	81,30		51,33		34,14		27,13		20,96		11,94	
4A-150-7	74,04	71,90	53,75	55,23	38,06	37,96	29,09	29,64	16,89	18,26	5,64	6,37
4B-150-7	69,75		56,71		37,86		30,18		19,63		7,10	

Tab. 80: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 10 % TA. (Obr. 21)

Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
5A-150-6	34,34	31,26	68,54	64,29	77,80	74,84	55,36	59,86	51,00	55,52	20,63	22,73
5B-150-6	28,17		60,03		71,87		64,35		60,04		24,82	
5A-150-7	49,33	47,83	75,56	72,90	73,47	69,61	59,98	62,70	70,73	66,28	130,64	132,66
5B-150-7	46,32		70,24		65,75		65,41		61,82		134,67	
<b>Eroze</b>												
5A-150-6	82,41	88,30	61,58	64,94	54,65	53,41	27,00	27,72	16,78	17,65	12,55	11,37
5B-150-6	94,19		68,30		52,16		28,43		18,52		10,19	
5A-150-7	88,86	85,69	66,07	70,56	52,67	51,51	29,74	30,35	18,59	18,61	14,77	14,03
5B-150-7	82,51		75,04		50,35		30,96		18,62		13,29	

Tab. 81: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % TA. (Obr. 22)

Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
6A-150-6	61,72	65,36	54,86	56,71	23,76	21,56	90,25	93,35	51,61	52,20	58,16	56,20
6B-150-6	69,00		58,55		19,35		96,44		52,78		54,24	
6A-150-7	61,00	63,02	45,23	46,61	35,40	32,55	57,61	60,54	125,20	123,01	46,59	48,31
6B-150-7	65,04		47,99		29,69		63,47		120,81		50,02	
<b>Eroze</b>												
6A-150-6	75,13	72,05	62,75	62,87	42,80	45,31	24,96	24,51	15,34	16,42	8,93	9,62
6B-150-6	68,97		62,98		47,81		24,05		17,50		10,31	
6A-150-7	77,61	77,11	63,99	61,85	46,27	45,96	26,00	26,11	17,38	16,27	11,00	11,58
6B-150-7	76,61		59,70		45,65		26,21		15,16		12,16	

Tab. 82: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 30 % TA. (Obr. 23)

Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
7A-150-6	43,76	46,56	85,40	84,08	105,00	100,20	43,09	46,48	30,39	35,25	72,25	69,65
7B-150-6	49,36		82,76		95,40		49,87		40,11		67,04	
7A-150-7	47,25	50,34	52,10	49,93	70,47	66,39	46,09	41,12	100,31	92,75	51,10	53,37
7B-150-7	53,42		47,76		62,31		36,15		85,19		55,64	
<b>Eroze</b>												
7A-150-6	81,65	79,23	73,07	71,40	40,97	45,47	21,98	23,27	16,31	15,74	13,31	13,73
7B-150-6	76,80		69,72		49,96		24,55		15,16		14,15	
7A-150-7	88,18	87,76	67,07	68,79	44,63	43,38	24,53	26,02	16,27	17,08	10,65	10,91
7B-150-7	87,33		70,51		42,12		27,50		17,89		11,17	

Tab. 83: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % TBC. (Obr. 24)

Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
8A-150-6	57,85	55,22	43,29	37,47	56,87	56,79	75,05	87,93	74,23	49,35	77,75	72,50
8B-150-6	52,58		31,64		56,71		100,80		24,46		67,25	
8A-150-7	45,99	43,56	26,16	27,33	52,60	53,59	150,60	134,95	44,53	59,41	24,79	32,43
8B-150-7	41,12		28,50		54,58		119,29		74,28		40,06	
<b>Eroze</b>												
8A-150-6	74,29	77,51	59,39	59,55	44,05	42,65	36,60	38,69	31,88	29,40	24,82	25,51
8B-150-6	80,73		59,71		41,24		40,78		26,91		26,20	
8A-150-7	69,96	71,47	55,73	55,21	41,56	40,86	38,02	38,36	26,50	27,99	23,04	23,63
8B-150-7	72,97		54,69		40,16		38,70		29,48		24,21	

Tab. 84: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % BL. (Obr. 25)

Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
9A-150-6	40,32	51,37	42,11	38,64	41,65	45,24	50,58	50,23	49,74	48,35	45,69	32,24
9B-150-6	62,42		35,17		48,83		49,87		46,95		18,79	
9A-150-7	30,81	46,32	50,69	61,60	57,70	76,50	71,80	71,69	58,82	47,94	41,78	39,07
9B-150-7	61,82		72,51		95,29		71,57		37,06		36,36	
<b>Eroze</b>												
9A-150-6	58,58	58,83	47,88	48,10	33,66	33,62	22,82	23,59	12,60	14,91	13,16	16,99
9B-150-6	59,07		48,31		33,57		24,35		17,21		20,82	
9A-150-7	54,89	54,48	47,64	47,64	34,15	33,99	25,57	26,01	17,92	19,39	14,92	14,06
9B-150-7	54,06		47,63		33,82		26,44		20,85		13,20	

Tab. 85: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % EL. (Obr. 26)

Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
10A-150-6	44,51	47,10	48,20	40,43	40,68	35,99	30,81	38,35	33,91	35,36	29,52	32,86
10B-150-6	49,69		32,65		31,30		45,88		36,80		36,20	
10A-150-7	47,08	47,16	69,97	58,58	43,59	44,62	47,57	66,37	30,43	32,22	89,66	90,81
10B-150-7	47,23		47,19		45,64		85,16		34,01		91,95	
<b>Eroze</b>												
10A-150-6	64,74	64,49	52,68	51,88	38,36	37,13	24,03	24,73	18,73	18,29	14,94	12,83
10B-150-6	64,23		51,08		35,90		25,43		17,84		10,72	
10A-150-7	63,52	63,66	47,95	47,82	37,10	38,12	26,03	25,90	19,58	19,41	15,41	15,43
10B-150-7	63,80		47,68		39,13		25,77		19,24		15,45	

Tab. 86: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 20 % TB. (Obr. 27)

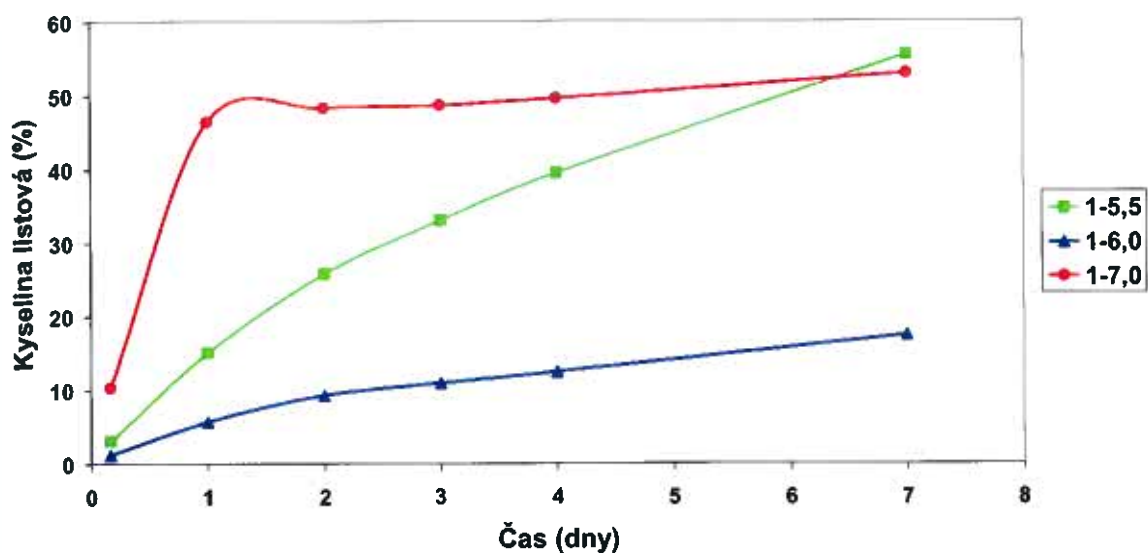
Vzorek	Čas (dny)											
	1	3	7	14	21	28						
<b>Bobtnání</b>												
11A-150-6	36,41	38,76	26,40	25,80	72,76	87,38	52,67	80,57	107,46	86,11	49,19	49,66
11B-150-6	41,10		25,19		102,00		108,46		64,76		50,13	
11A-150-7	28,18	27,77	44,76	47,63	56,57	91,96	74,59	101,66	105,16	125,77	40,88	46,48
11B-150-7	27,36		50,49		127,35		128,73		146,37		52,08	
<b>Eroze</b>												
11A-150-6	70,87	70,75	54,62	53,64	35,15	35,87	35,05	33,29	31,27	29,97	24,75	24,96
11B-150-6	70,63		52,66		36,59		31,53		28,66		25,16	
11A-150-7	72,26	69,93	53,95	53,83	37,83	37,26	36,11	35,95	29,04	29,50	23,58	22,03
11B-150-7	67,60		53,70		36,68		35,79		29,95		20,48	

Tab. 87: Bobtnání a eroze oligomerních matric (150 mg) s 15 % TEC, 15 % BL. (Obr. 28)

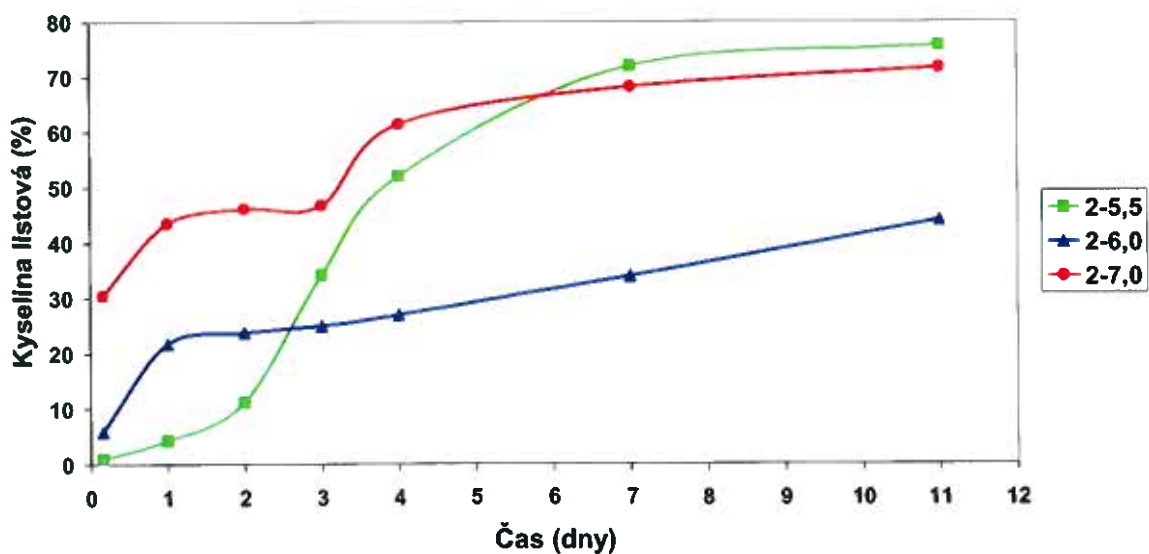
Vzorek	Čas (dny)											
	1		3		7		14		21		28	
<b>Bobtnání</b>												
12A-150-6	38,13	35,73	41,59	48,51	74,86	79,83	49,89	51,22	47,69	38,15	77,92	60,96
12B-150-6	33,33		55,42		84,79		52,54		28,61		44,00	
12A-150-7	43,17	53,55	48,68	49,69	83,45	84,51	62,60	54,74	36,45	36,29	52,79	45,98
12B-150-7	63,92		50,70		85,57		46,88		36,12		39,16	
<b>Eroze</b>												
12A-150-6	58,97	60,20	51,18	52,70	46,02	46,81	30,83	30,21	21,38	21,81	15,17	15,06
12B-150-6	61,43		54,21		47,60		29,59		22,24		14,94	
12A-150-7	59,11	58,16	50,03	50,91	47,00	46,91	32,59	32,09	20,93	21,39	15,48	16,47
12B-150-7	57,20		51,79		46,82		31,58		21,85		17,45	

### **4.3 LIBERACE KYSELINY LISTOVÉ Z OLIGOMERNÍCH FILMŮ**

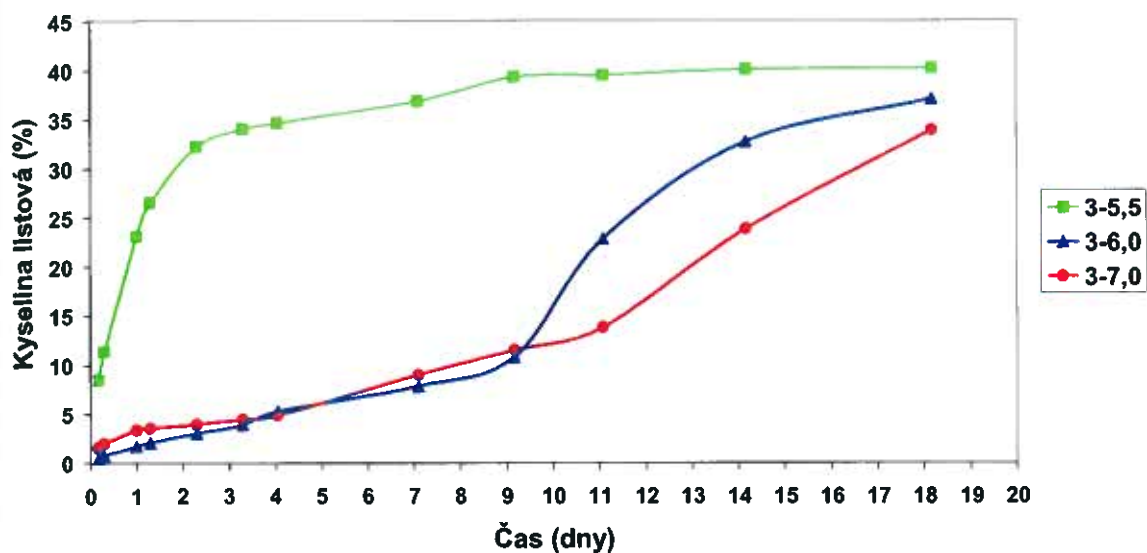
**Obr. 29: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních filmů - oligoester 73, 2 % FA. (Tab. 88)**



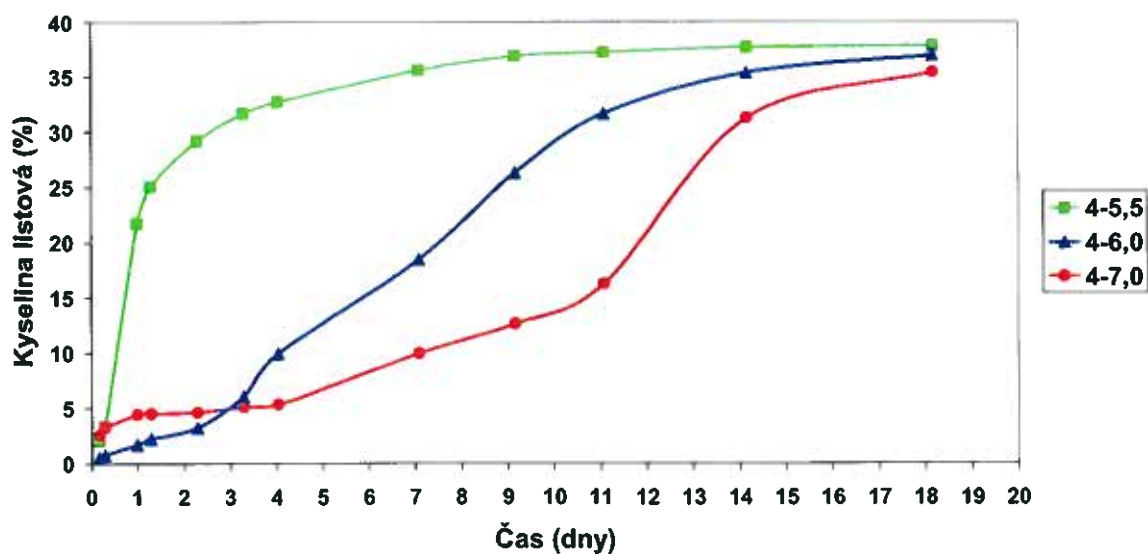
**Obr. 30: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních filmů – směs oligoesterů 73 a 71 (1:1), 2 % FA. (Tab. 89)**



Obr. 31: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních filmů - oligoester 73, 10 % FA. (Tab. 90)



Obr. 32: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních filmů – směs oligoesterů 73 a 71 (1:1), 10 % FA. (Tab. 91)



Tab. 88: Liberace kyseliny listové z oligomerních filmů - oligoester 73, 2 % FA. (Obr. 29)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)										
		0,17	1	2	3	4	7					
1A-5,5	0,0331	2,32	9,97	15,05	19,47	25,72	24,08	33,01	29,36	39,43	48,08	55,43
1B-5,5	0,0272	3,78	20,13	31,96	31,96	41,94	41,94	49,49	49,49	62,78	62,78	17,46
1A-6,0	0,0385	0,98	5,10	5,69	9,18	9,29	11,49	10,96	13,00	12,45	18,17	17,46
1B-6,0	0,0387	1,42	6,28	9,39	9,39	10,44	10,44	11,90	11,90	16,76	16,76	52,92
1A-7,0	0,0377	13,62	51,77	46,42	53,85	48,24	54,15	48,59	55,11	49,58	58,91	52,92
1B-7,0	0,0442	6,98	41,06	42,63	42,63	43,03	43,03	44,06	44,06	46,93	46,93	46,93

Tab. 89: Liberace kyseliny listové z oligomerních filmů – směs oligoesterů 73 a 71 (1:1), 2 % FA. (Obr. 30)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)										
		0,17	1	2	3	4	7	11				
2A-5,5	0,0260	1,06	4,51	12,15	30,40	34,12	50,17	52,04	72,57	71,94	74,50	75,58
2B-5,5	0,0296	0,89	3,96	10,24	11,20	37,83	53,91	53,91	71,31	71,31	76,65	76,65
2A-6,0	0,0247	6,96	32,18	34,83	23,71	35,95	37,48	26,90	43,72	33,91	48,84	43,93
2B-6,0	0,0267	4,69	11,08	12,59	13,95	24,95	16,32	24,09	24,09	39,02	39,02	43,93
2A-7,0	0,0263	24,16	40,38	43,21	43,97	46,67	61,73	61,36	69,76	68,11	74,52	71,52
2B-7,0	0,0265	36,55	46,48	48,86	49,38	46,67	60,98	61,36	66,47	68,11	68,51	71,52

Tab. 90a: Liberace kyseliny listové z oligomerních filmů - oligoester 73, 10 % FA. (Obr. 31)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)										
		0,17	1	2	3	4	7					
3A-5,5	0,0228	9,38	12,26	11,33	22,31	23,04	24,47	26,50	30,58	32,18	32,51	34,00
3B-5,5	0,0278	7,56	10,39	23,77	23,77	28,53	28,53	33,77	33,77	35,49	35,49	34,00
3A-6,0	0,0318	0,38	0,72	0,76	1,76	1,71	2,19	2,09	3,18	3,02	3,61	3,90
3B-6,0	0,0330	0,51	0,81	1,67	1,67	2,86	2,00	2,86	2,86	3,02	4,19	3,90
3A-7,0	0,0322	1,37	1,85	3,44	3,44	3,32	3,70	3,51	4,04	3,93	4,42	4,39
3B-7,0	0,0295	1,64	1,99	3,21	3,21	3,33	3,33	3,83	3,83	3,93	4,42	4,39



Tab. 90b: Liberace kyseliny listové z oligomerních filmů - oligoester 73, 10 % FA. (Obr. 31)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)										
		4,04		7,08		9,17		11,08		14,17		18,17
3A-5,5	0,0228	33,04	34,63	35,57	36,84	40,08	39,30	40,42	39,49	40,87	40,96	40,15
3B-5,5	0,0278	36,21		38,12		38,51		38,57		39,25	39,33	
3A-6,0	0,0318	4,37		7,63	7,84	11,90		26,22	22,84	35,16	39,55	37,04
3B-6,0	0,0330	6,11	5,24	8,05		9,76		19,46		30,29	34,54	
3A-7,0	0,0322	4,77	4,79	10,55	8,96	11,74	11,52	15,35	13,82	23,26	30,54	33,87
3B-7,0	0,0295	4,80		7,36		11,30		12,29		24,42	37,20	

Tab. 91a: Liberace kyseliny listové z oligomerních filmů - směs oligoesterů 73 a 71 (1:1), 10 % FA. (Obr. 32)

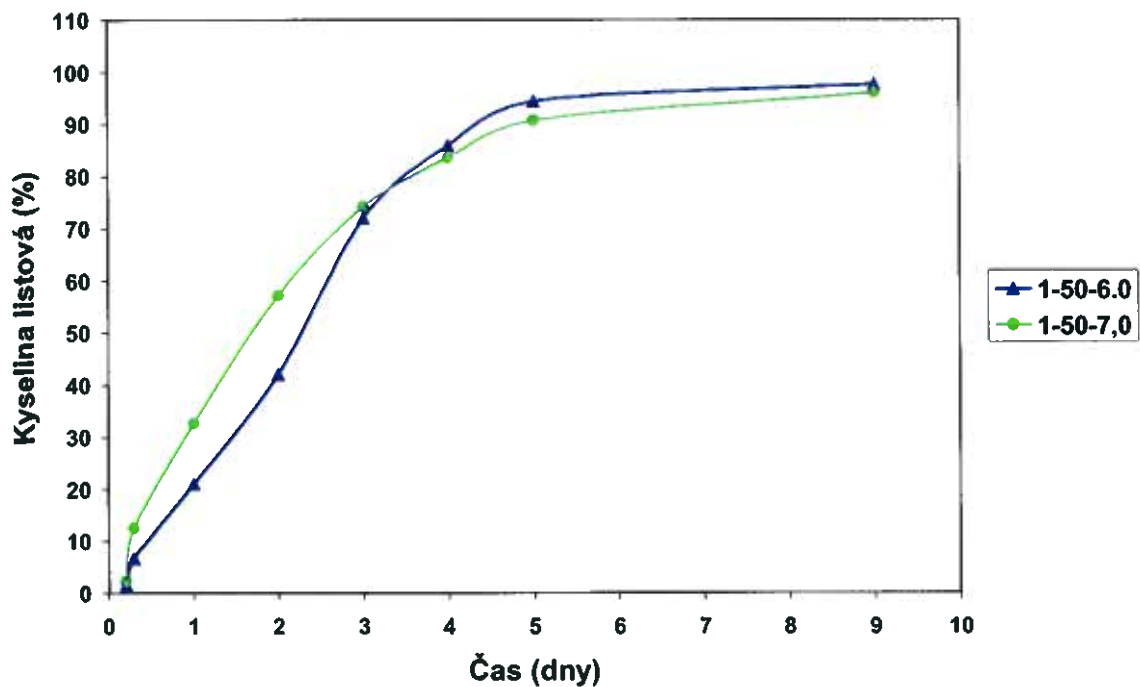
Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)										
		0,17		0,29		1		1,29		2,29		3,29
4A-5,5	0,0275	1,81	2,05	2,78	3,30	18,75	21,66	22,51	25,02	26,97	30,75	31,66
4B-5,5	0,0212	2,29		3,81		24,57		27,53		31,41	32,58	
4A-6,0	0,0272	0,58	0,52	0,82	0,75	1,65	1,72	2,17	2,24	3,38	6,83	6,07
4B-6,0	0,0291	0,46		0,67		1,79		2,31		3,10	5,31	
4A-7,0	0,0289	2,38	2,51	3,22	3,24	4,02	4,40	4,07	4,47	4,18	4,53	5,13
4B-7,0	0,0287	2,64		3,27		4,78		4,88		5,03	5,73	

Tab. 91b: Liberace kyseliny listové z oligomerních filmů - směs oligoesterů 73 a 71 (1:1), 10 % FA. (Obr. 32)

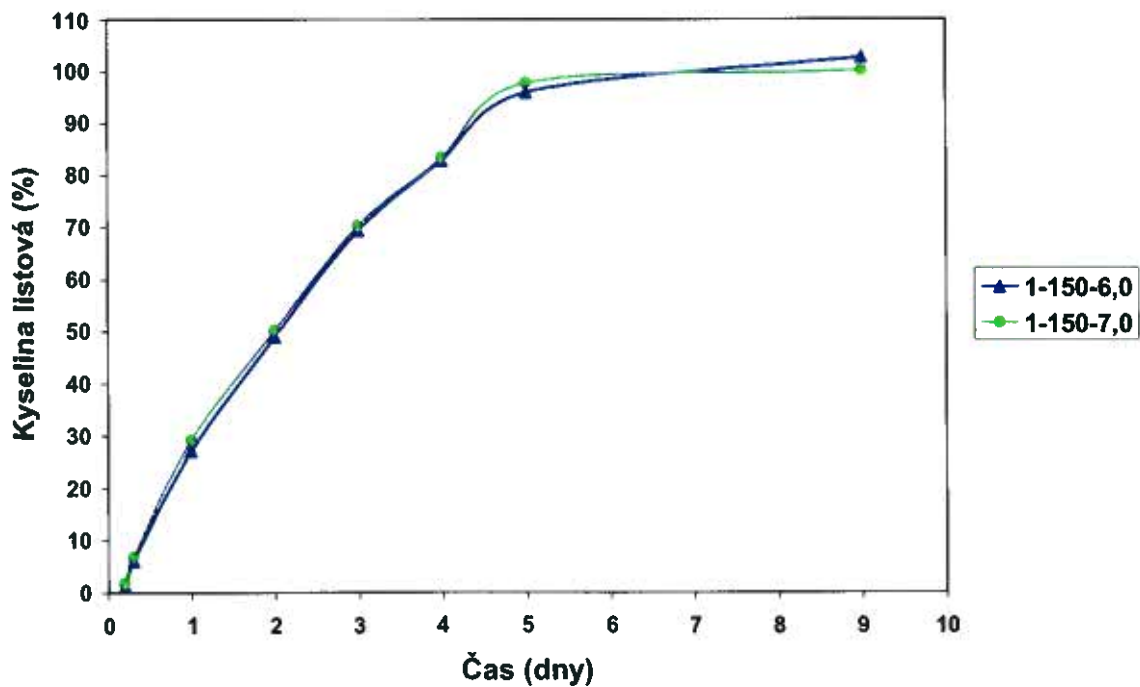
Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)										
		4,04		7,08		9,17		11,08		14,17		18,17
4A-5,5	0,0275	32,53	32,72	36,33	35,58	38,11	36,87	38,32	37,20	38,37	38,46	37,75
4B-5,5	0,0212	32,90		34,84		35,63		36,08		37,02	37,04	
4A-6,0	0,0272	10,56	9,94	16,59	18,44	21,18	26,25	27,98	31,63	33,94	36,42	36,93
4B-6,0	0,0291	9,32		20,28		31,31		35,28		36,78	37,44	
4A-7,0	0,0289	4,75	5,31	12,25	9,90	16,44	12,53	17,14	16,17	34,81	36,16	35,38
4B-7,0	0,0287	5,87		7,55		8,61		15,20		27,67	34,60	

## **4.4 LIBERACE KYSELINY LISTOVÉ Z OLIGOMERNÍCH MATRIC**

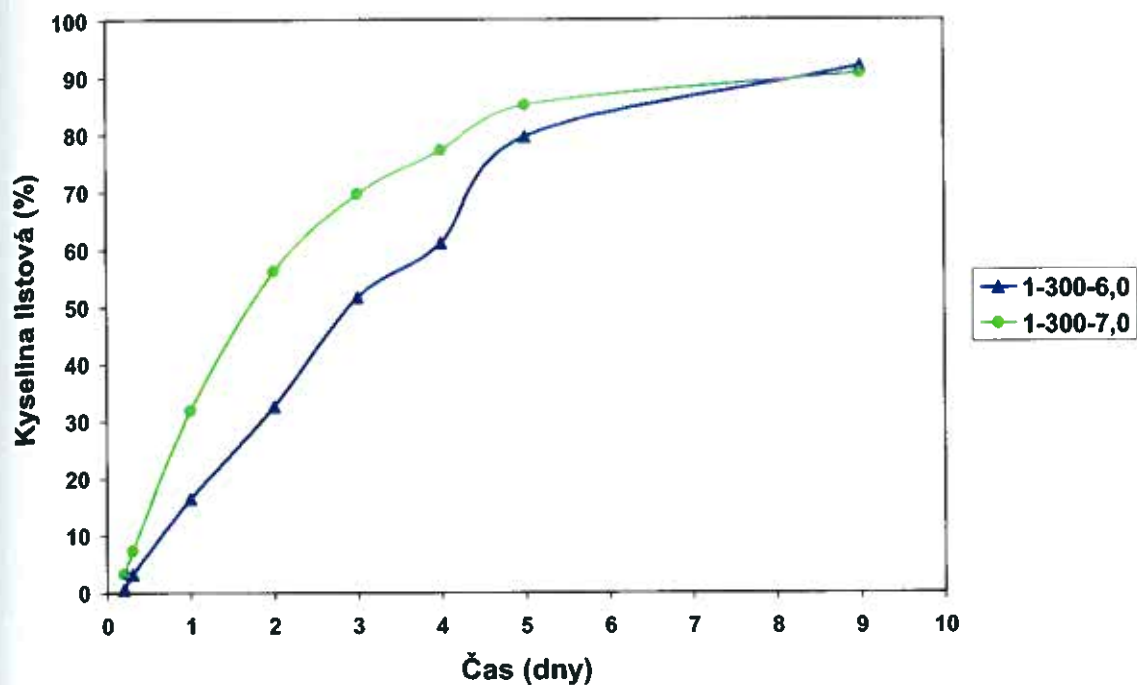
Obr. 33: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50 mg) s 10 % BL, 3 % FA. (Tab. 92)



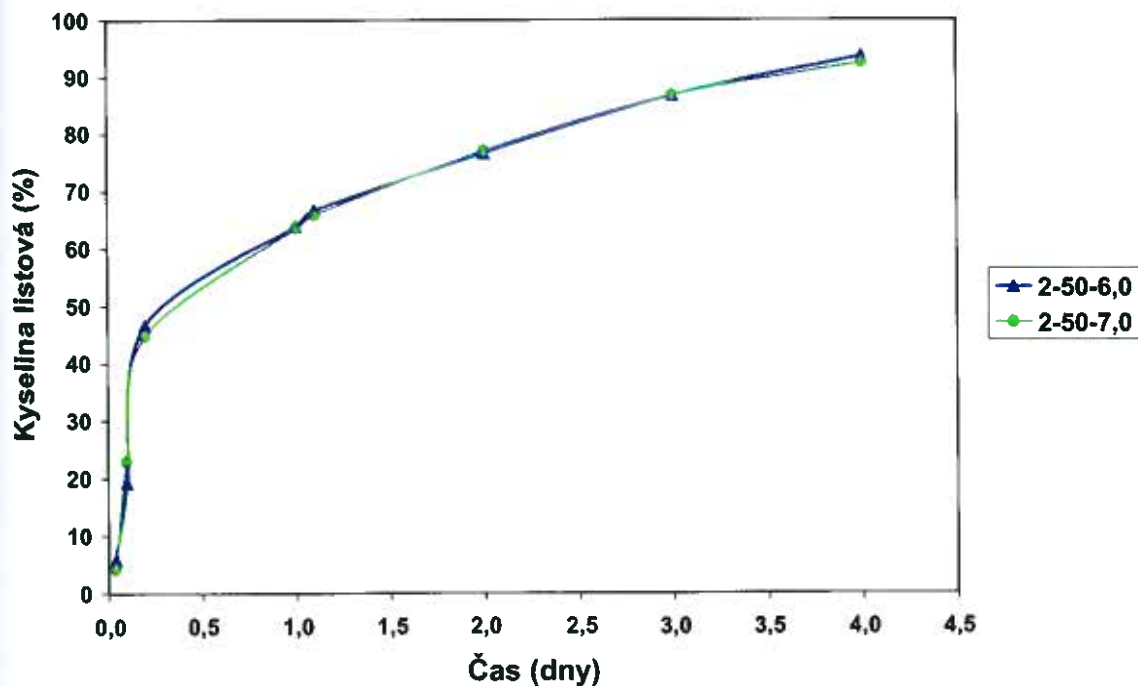
Obr. 34: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 10 % BL, 3 % FA. (Tab. 92)



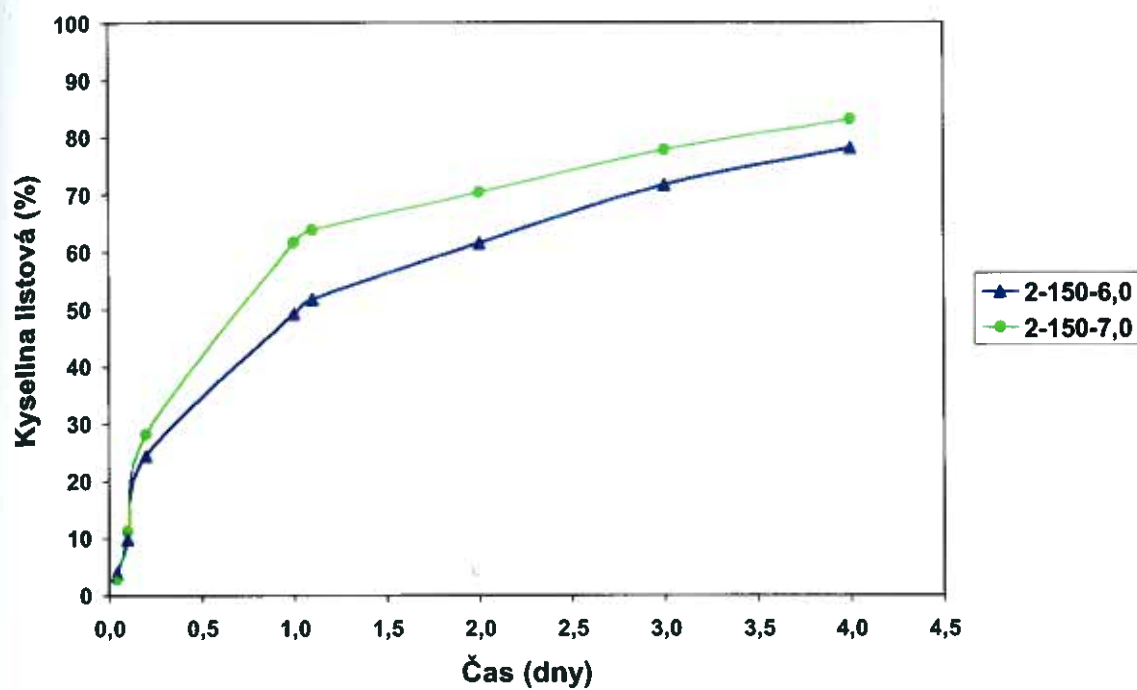
Obr. 35: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (300 mg) s 10 % BL, 3 % FA. (Tab. 92)



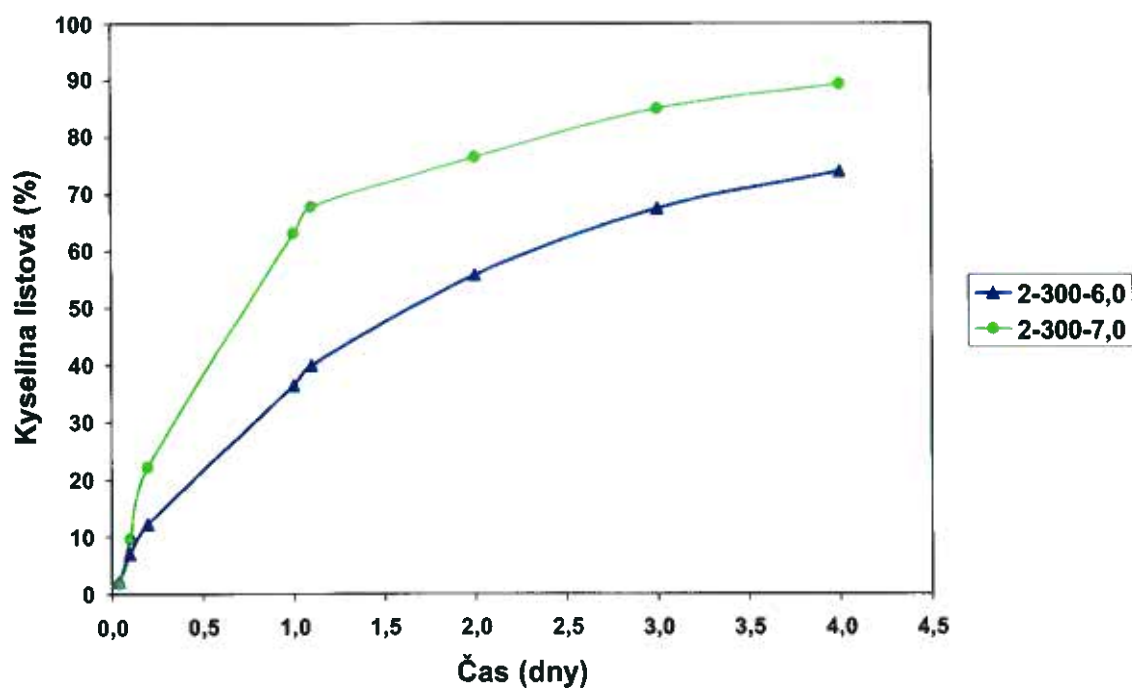
Obr. 36: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50 mg) s 20 % BL, 3 % FA. (Tab. 93)



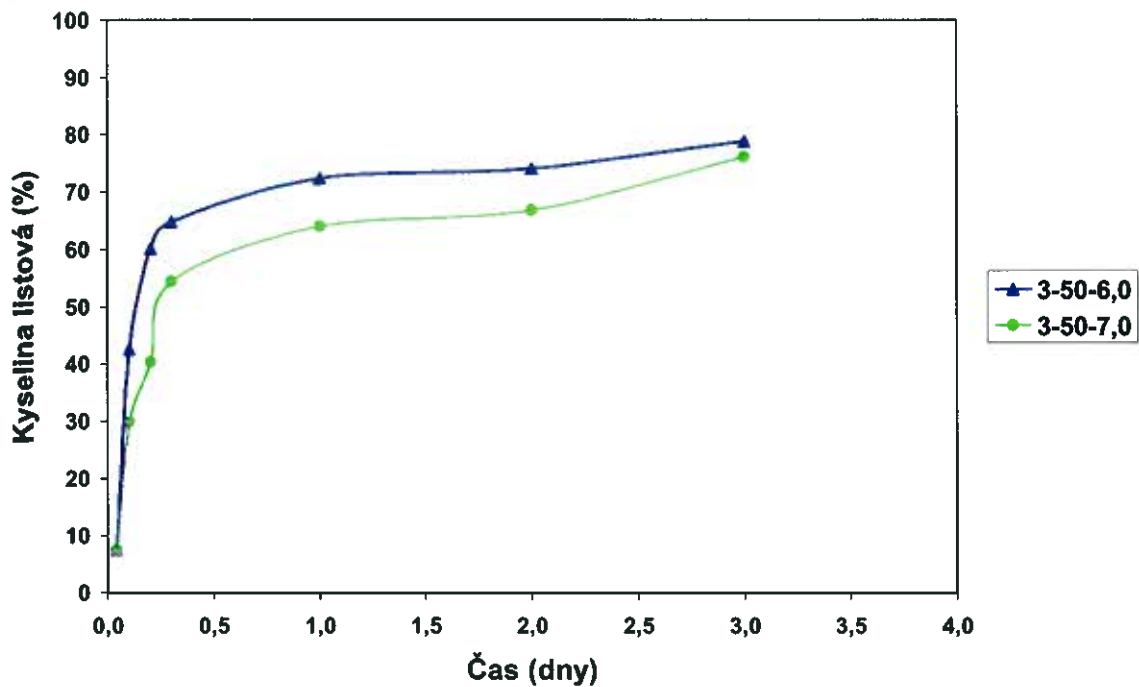
Obr. 37: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 20 % BL, 3 % FA. (Tab. 93)



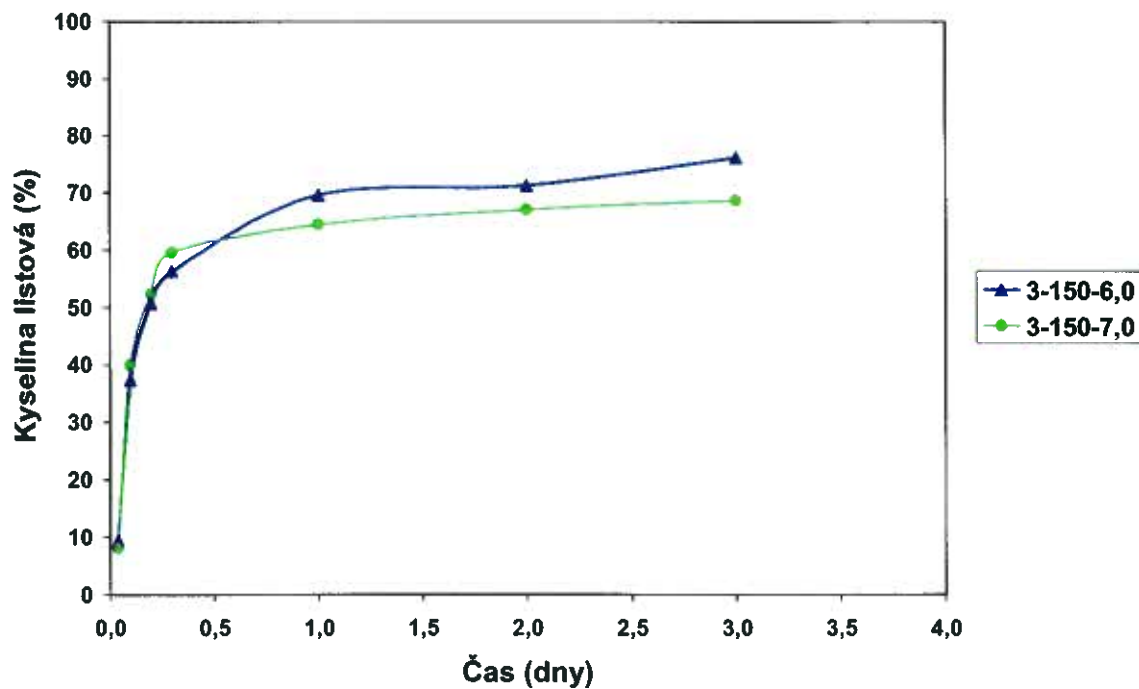
Obr. 38: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (300 mg) s 20 % BL, 3 % FA. (Tab. 93)



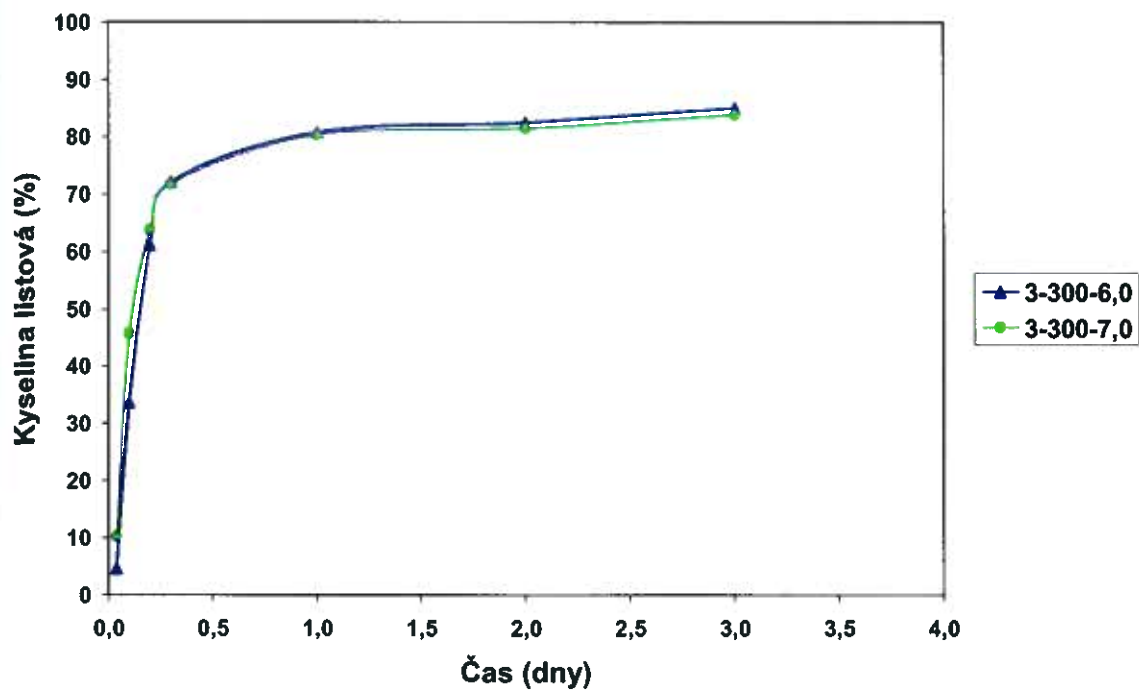
Obr. 39: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50 mg) s 30 % BL, 3 % FA. (Tab. 94)



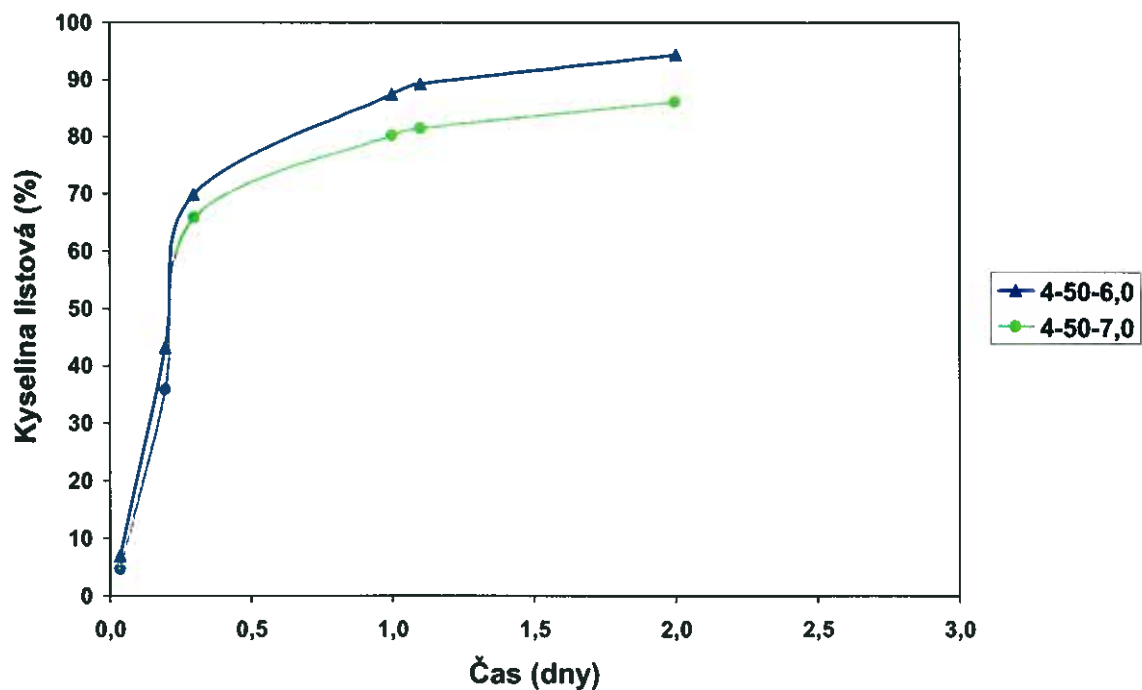
Obr. 40: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 30 % BL, 3 % FA. (Tab. 94)



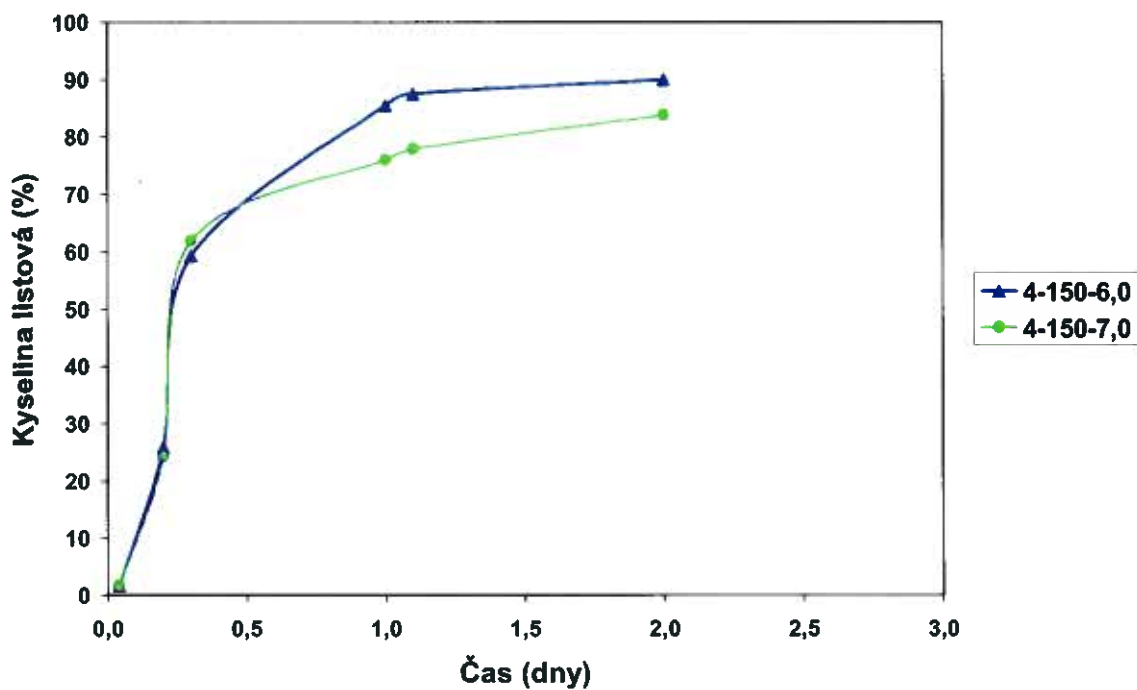
Obr. 41: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (300 mg) s 30 % BL, 3 % FA. (Tab. 94)



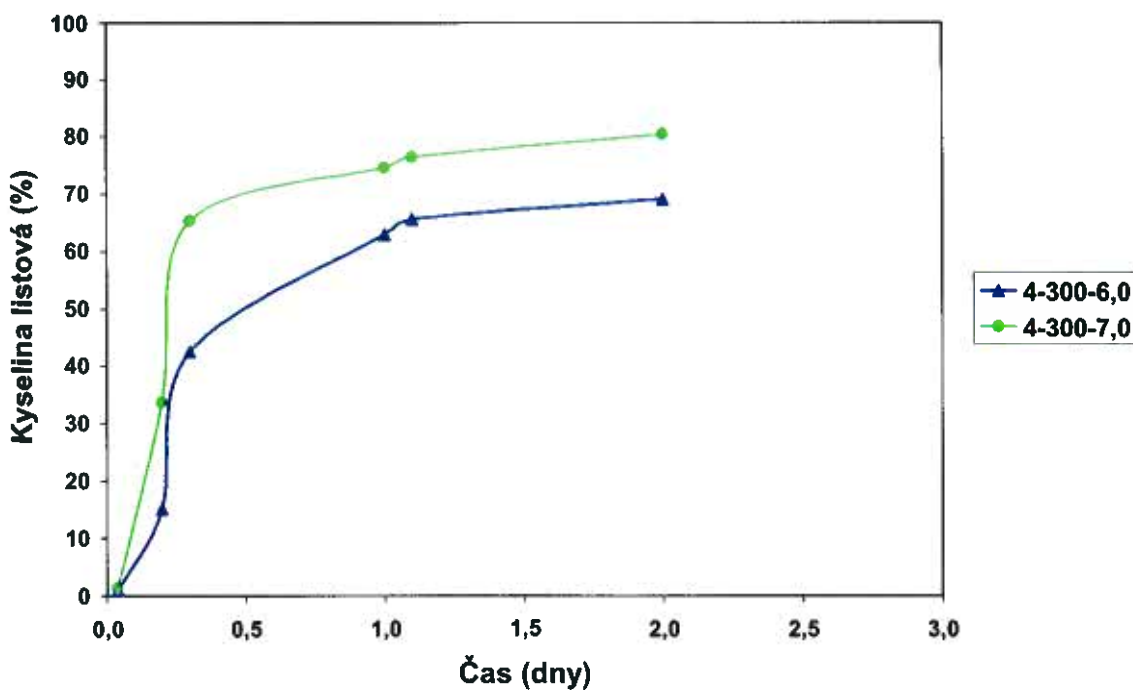
Obr. 42: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50 mg) s 15 % TEC, 15 % BL, 3 % FA. (Tab. 95)



Obr. 43: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 15 % TEC, 15 % BL, 3 % FA. (Tab. 95)

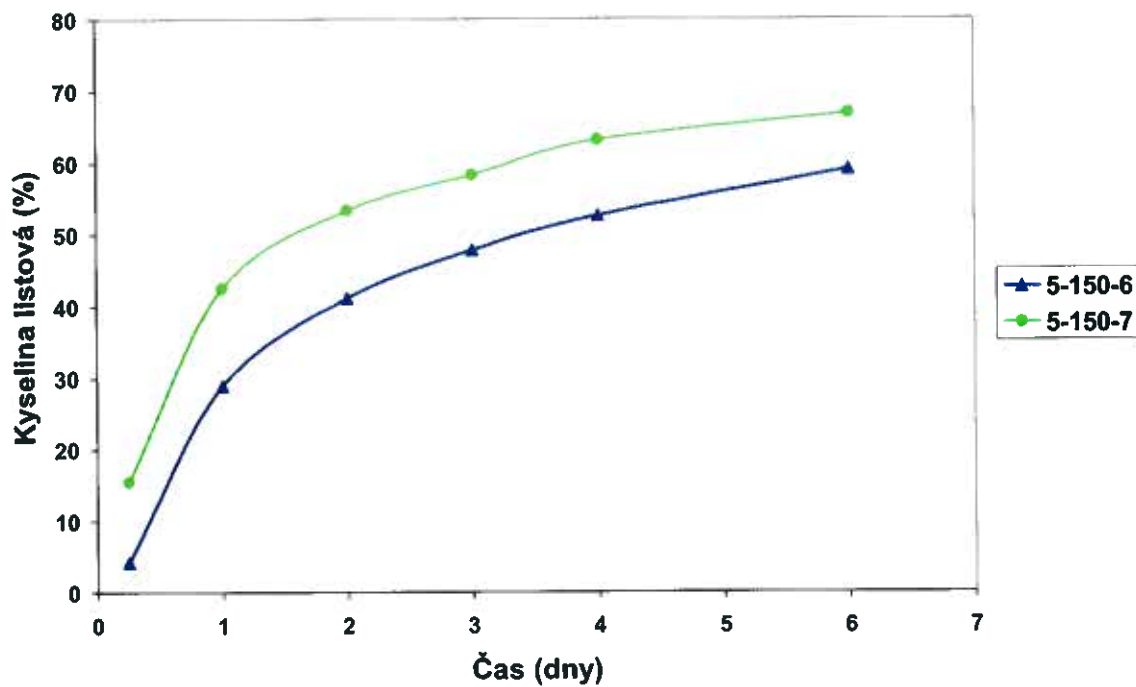


Obr. 44: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (300 mg) s 15 % TEC, 15 % BL, 3 % FA. (Tab. 95)

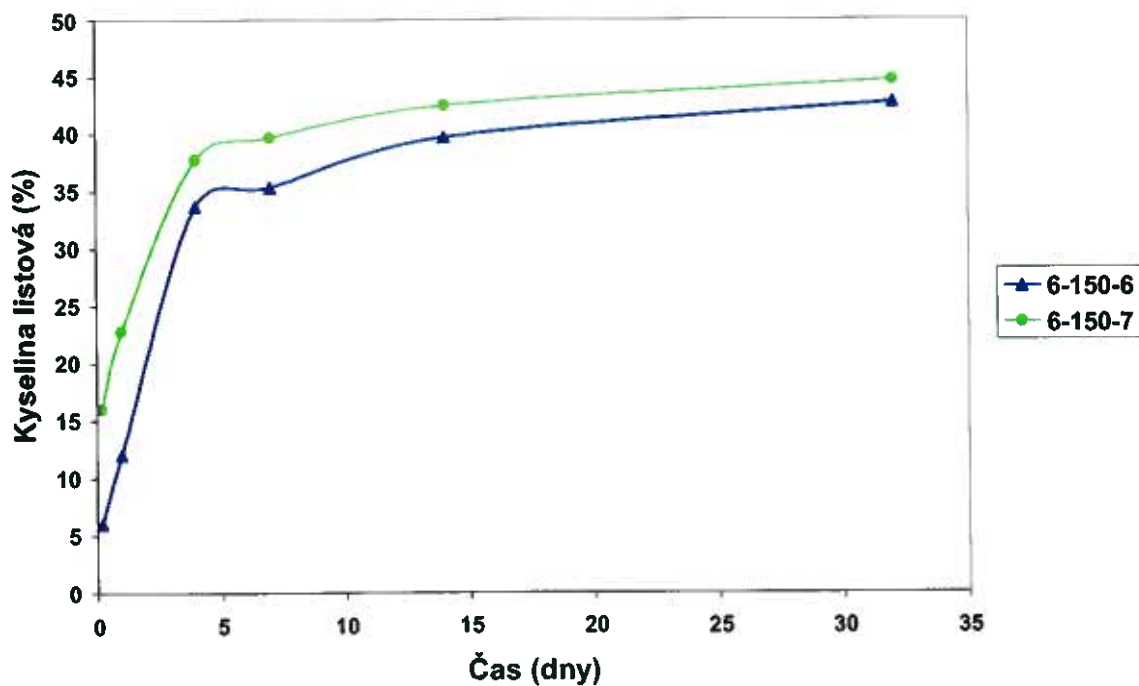




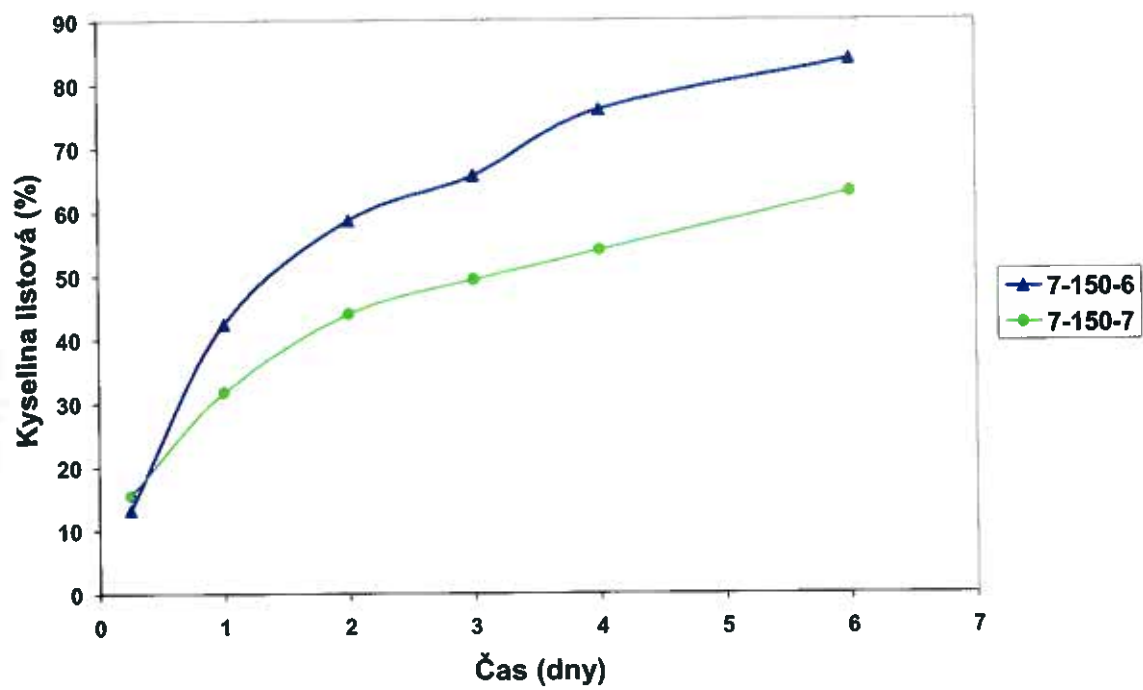
Obr. 45: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 20 % TEC, 3 % FA. (Tab. 96)



Obr. 46: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 20 % TA, 3 % FA. (Tab. 97)



Obr. 47: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 20 % EL, 3 % FA. (Tab. 98)



Tab. 92: Liberační kyseliny listové z oligomerních matric (50, 150 a 300 mg) s 10 % BL, 3 % FA. (Obr. 33, 34, 35)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)													
		0,20	0,30	1	2	3	4	5	9						
1A-50-6,0	0,0479	1,45	7,41	25,49	20,91	43,96	41,98	71,96	71,98	85,20	85,90	93,76	94,37	97,88	97,68
1B-50-6,0	0,0498	1,51	5,64	16,34	20,91	40,01	41,98	72,00	72,00	86,59	85,90	94,98	94,37	97,49	97,68
1A-50-7,0	0,0492	1,92	13,98	34,02	32,51	56,79	57,06	74,53	74,12	85,27	83,61	91,39	90,68	94,63	96,01
1B-50-7,0	0,0493	2,36	10,77	31,01	32,51	57,34	57,06	73,72	73,72	81,95	83,61	89,96	90,68	97,38	96,01
1A-150-6,0	0,1527	0,78	4,83	27,56	27,08	48,79	48,91	70,23	69,34	82,83	82,65	98,55	95,88	104,30	102,63
1B-150-6,0	0,1481	1,58	7,18	26,60	27,08	49,02	48,91	68,45	69,34	82,46	82,65	93,21	95,88	100,96	102,63
1A-150-7,0	0,1489	1,87	8,71	33,92	29,17	54,57	50,18	76,55	70,20	90,11	83,27	96,45	97,65	100,12	100,08
1B-150-7,0	0,1468	1,68	4,94	24,43	29,17	45,80	50,18	63,85	70,20	76,43	83,27	98,84	97,65	100,04	100,08
1A-300-6,0	0,2965	0,65	3,19	13,93	16,45	29,73	32,47	51,58	51,55	60,88	61,05	80,73	79,67	95,46	91,94
1B-300-6,0	0,3021	0,55	3,07	18,97	16,45	35,22	32,47	51,51	51,55	61,22	61,05	78,62	79,67	88,43	88,43
1A-300-7,0	0,3013	5,26	10,97	41,72	31,84	62,39	56,12	75,95	69,61	81,29	77,17	87,33	85,11	92,43	90,66
1B-300-7,0	0,3018	1,32	3,66	21,96	31,84	49,86	56,12	63,26	69,61	73,05	77,17	82,89	85,11	88,90	88,90

Tab. 93: Liberační kyseliny listové z oligomerních matric (50, 150 a 300 mg) s 20 % BL, 3 % FA. (Obr. 36, 37, 38)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)											
		0,04	0,10	0,20	1	1,1	2	3	4				
2A-50-6,0	0,0532	6,50	15,67	45,23	62,14	65,01	66,70	76,63	76,63	88,90	86,72	94,52	93,52
2B-50-6,0	0,0482	5,09	22,89	48,00	65,76	68,40	66,70	76,48	76,48	84,54	86,72	92,52	93,52
2A-50-7,0	0,0502	3,90	17,69	43,51	62,27	63,94	65,86	74,72	74,72	87,61	86,77	93,50	92,40
2B-50-7,0	0,0516	4,41	28,08	45,93	64,88	67,77	65,86	79,33	79,33	85,93	86,77	91,30	92,40
2A-150-6,0	0,1491	3,83	8,00	31,18	56,47	58,18	51,78	69,52	69,52	77,55	71,74	84,79	78,11
2B-150-6,0	0,1505	3,86	11,54	17,75	41,97	45,38	51,78	53,59	53,59	65,92	71,74	71,44	78,11
2A-150-7,0	0,1517	2,54	15,38	18,93	55,13	57,87	63,81	63,73	63,73	71,56	77,84	75,97	83,03
2B-150-7,0	0,1509	3,03	6,90	37,36	68,14	69,75	63,81	77,09	77,09	84,12	77,84	90,09	83,03
2A-300-6,0	0,2991	2,34	8,73	14,49	39,01	41,79	39,97	51,02	51,02	59,68	67,39	67,28	73,94
2B-300-6,0	0,2967	1,87	5,09	9,94	33,89	38,16	39,97	60,32	60,32	75,10	67,39	80,60	73,94
2A-300-7,0	0,3015	1,77	9,63	21,36	60,12	66,34	67,76	73,31	73,31	84,20	84,95	88,03	89,17
2B-300-7,0	0,3030	1,75	9,45	22,79	66,03	69,18	67,76	79,48	79,48	85,69	84,95	90,30	89,17

Tab. 94: Liberační kyseliny listové z oligomerních matric (50, 150 a 300 mg) s 30 % BL, 3 % FA. (Obr. 39, 40, 41)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)												
		0,04		0,10		0,20		0,30		1		2		3
3A-50-6,0	0,0483	6,19	48,45	42,52	67,40	60,13	71,33	64,80	77,26	72,48	79,27	74,16	85,50	78,97
3B-50-6,0	0,0498	8,82	36,59		52,87		58,27		67,70		69,05		72,44	
3A-50-7,0	0,0506	7,16	41,90	29,83	51,54	40,33	55,06	54,44	64,00	64,02	68,53	66,82	80,07	76,24
3B-50-7,0	0,0523	7,54	17,77		29,12		53,81		64,04		65,12		72,40	
3A-150-6,0	0,1514	7,41	33,93	37,25	48,60	50,68	54,03	56,19	65,65	69,65	67,44	71,25	73,65	76,05
3B-150-6,0	0,1503	11,31	40,58		52,75		58,35		73,65		75,06		78,44	
3A-150-7,0	0,1527	9,09	59,38	39,95	71,69	52,33	76,44	59,45	77,98	64,44	78,25	66,99	79,55	68,63
3B-150-7,0	0,1543	6,91	20,51		32,96		42,46		50,91		55,74		57,72	
3A-300-6,0	0,3013	5,28	36,20	33,66	63,12	61,19	75,88	72,17	82,52	80,84	83,24	82,48	86,14	85,02
3B-300-6,0	0,2990	3,84	31,13		59,25		68,46		79,17		81,72		83,90	
3A-300-7,0	0,2985	10,56	43,67	45,67	69,07	63,75	77,51	71,70	86,09	80,34	86,86	81,48	88,47	83,79
3B-300-7,0	0,3013	9,79	47,67		58,43		65,88		74,59		76,11		79,12	

Tab. 95: Liberační kyseliny listové z oligomerních matric (50, 150 a 300 mg) s 15 % TEC, 15 % BL, 3 % FA. (Obr. 42, 43, 44)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)											
		0,04		0,20		0,30		1		1,1		2	
4A-50-6,0	0,0519	6,42	50,26	7,00	43,15	76,07	69,81	90,70	87,38	92,95	89,15	98,36	94,24
4B-50-6,0	0,0501	7,58	36,04		63,56		84,06		84,06		85,36		90,12
4A-50-7,0	0,0540	4,02	48,72	4,67	35,82	71,17	65,77	85,84	80,13	87,20	81,33	91,88	85,99
4B-50-7,0	0,0514	5,31	22,93		60,37		74,42		74,42		75,46		80,10
4A-150-6,0	0,1505	1,07	25,88	1,66	25,74	53,26	59,26	82,78	85,48	85,21	87,53	87,91	90,02
4B-150-6,0	0,1488	2,24	25,59		65,25		88,18		88,18		89,84		92,12
4A-150-7,0	0,1482	0,97	15,50	1,59	24,08	57,81	61,95	72,01	75,99	73,32	77,90	80,14	83,81
4B-150-7,0	0,1537	2,20	32,66		66,08		79,98		79,98		82,48		87,47
4A-300-6,0	0,2985	1,48	15,10	1,06	15,05	44,41	42,44	59,43	62,87	63,27	65,57	68,56	69,07
4B-300-6,0	0,2967	0,64	15,00		40,47		66,32		67,86		67,86		69,58
4A-300-7,0	0,3014	1,01	42,55	1,31	33,66	68,44	65,27	75,04	74,59	76,46	76,36	79,42	80,41
4B-300-7,0	0,2964	1,60	24,76		62,10		74,15		74,15		76,25		81,40

Tab. 96: Liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 20 % TEC, 3 % FA. (Obr. 45)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)											
		0,25		1		2		3		4		6	
5A-150-6	0,1506	3,63	4,12	26,73	28,84	39,34	41,13	48,02	47,81	53,54	52,61	60,74	59,09
5B-150-6	0,1548	4,61		30,94		42,91		47,59		51,67		57,43	
5A-150-7	0,1511	20,02	15,43	45,98	42,49	56,91	53,32	63,02	58,25	69,72	63,15	74,98	66,86
5B-150-7	0,1552	10,83		39,00		49,73		53,47		56,57		58,74	

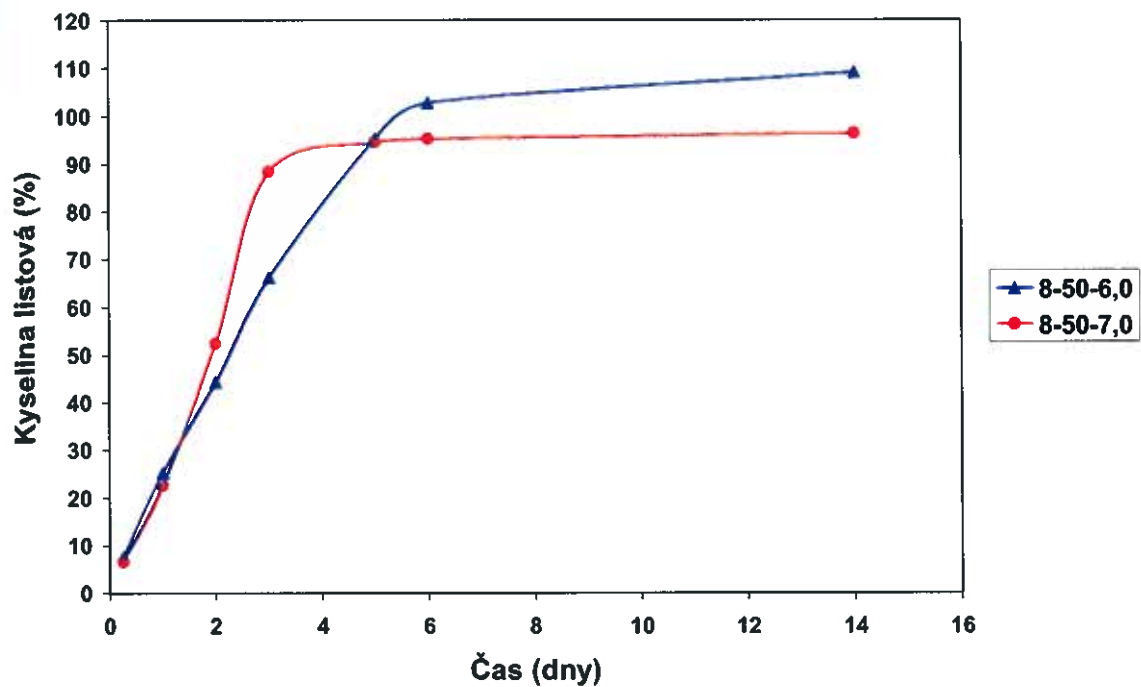
Tab. 97: Liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 20 % TA, 3 % FA. (Obr. 46)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)											
		0,20		1		4		7		14		32	
6A-150-6	0,1590	5,90	6,05	7,60	12,00	32,90	33,65	34,30	35,30	38,10	39,65	42,10	42,70
6B-150-6	0,1500	6,20		16,40		34,40		36,30		41,20		43,30	
6A-150-7	0,1526	19,20	15,95	23,20	22,75	38,20	37,70	40,10	39,65	42,90	42,45	45,10	44,65
6B-150-7	0,1552	12,70		22,30		37,20		39,20		42,00		44,20	

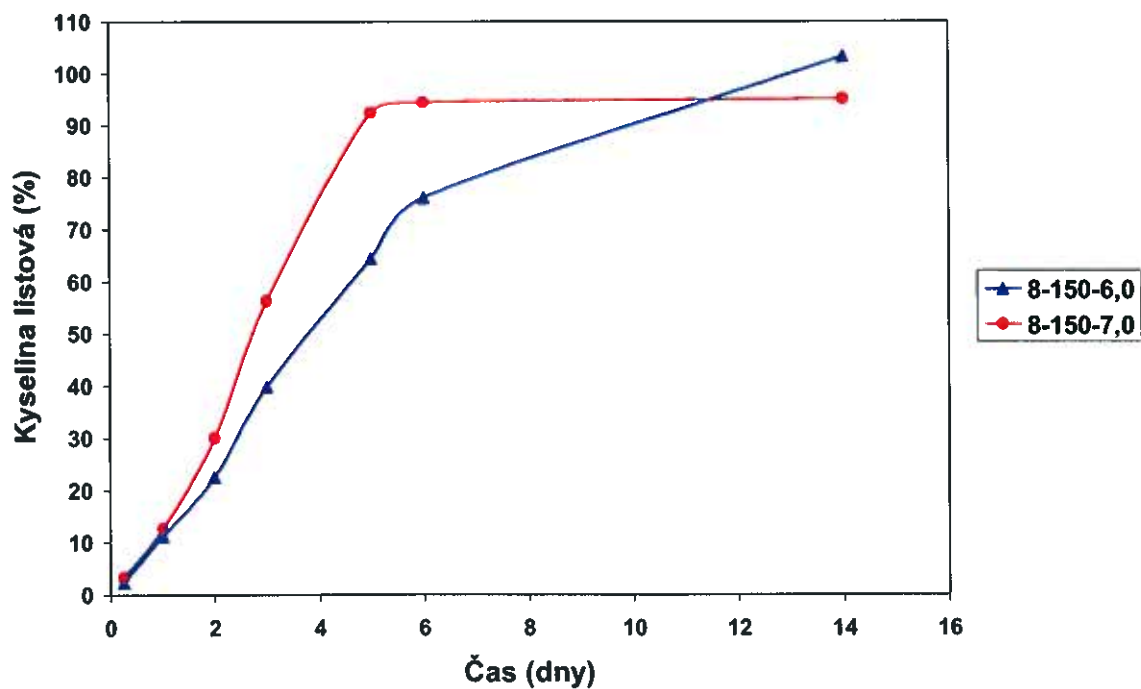
Tab. 98: Liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 20 % EL, 3 % FA. (Obr. 47)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)											
		0,25		1		2		3		4		6	
7A-150-6	0,1552	23,54	13,18	65,22	42,40	88,60	58,60	96,80	65,62	101,16	75,98	107,90	83,82
7B-150-6	0,1529	2,81		19,57		28,60		34,44		50,79		59,73	
7A-150-7	0,1513	16,32	15,38	33,49	31,61	43,98	44,00	48,57	49,34	54,21	53,93	64,03	63,02
7B-150-7	0,1538	14,44		29,72		44,01		50,10		53,64		62,00	

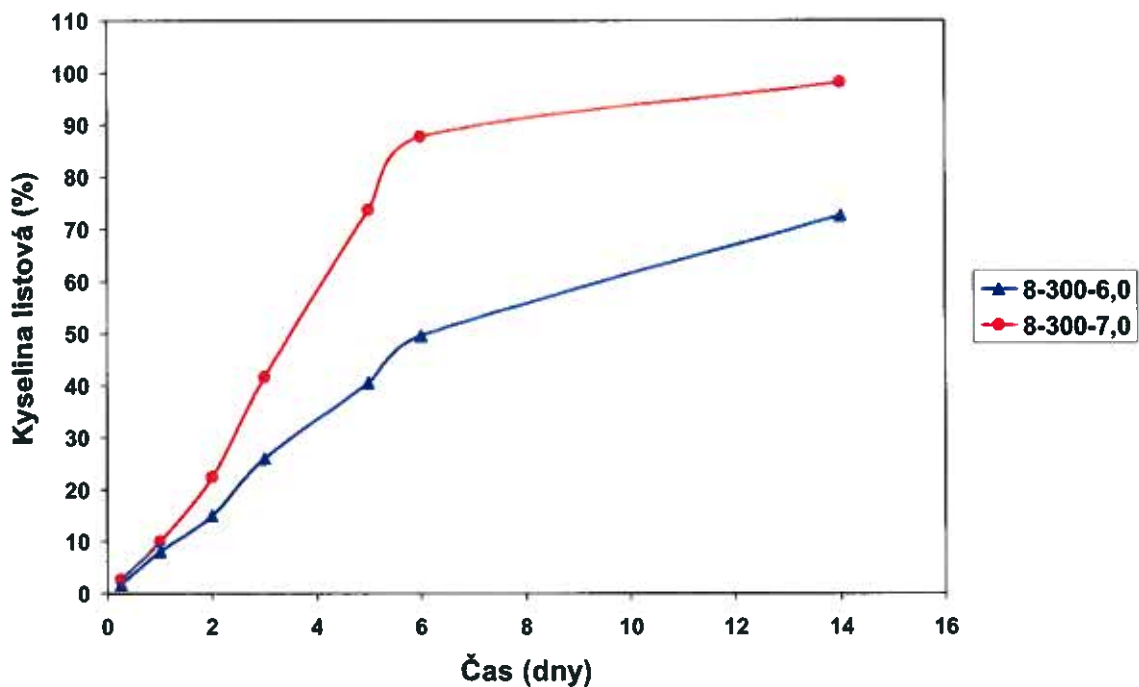
Obr. 48: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50 mg) s 3 % PEI-1, 3 % FA. (Tab. 99)



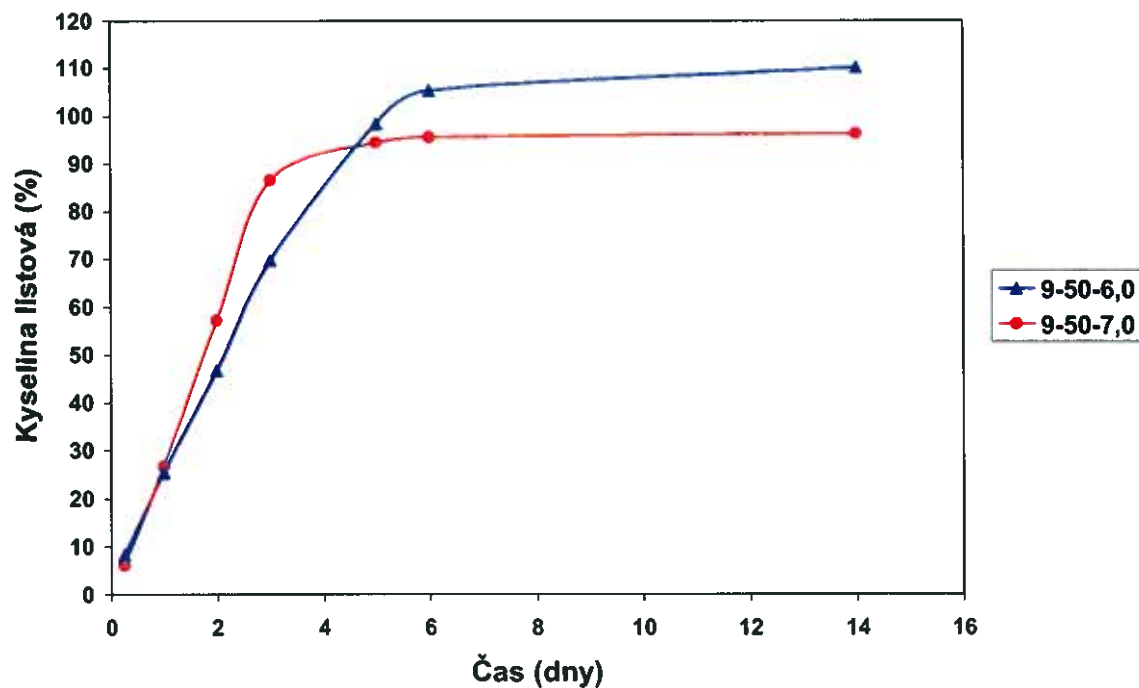
Obr. 49: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 3 % PEI-1, 3 % FA. (Tab. 99)



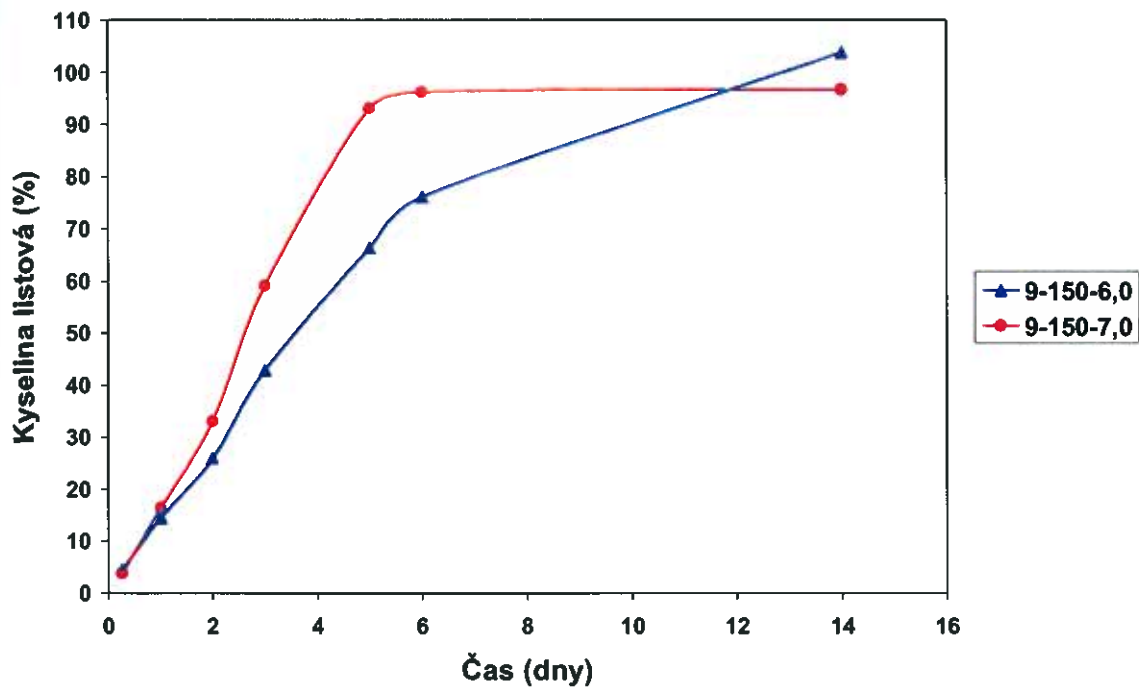
Obr. 50: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (300 mg) s 3 % PEI-1, 3 % FA. (Tab. 99)



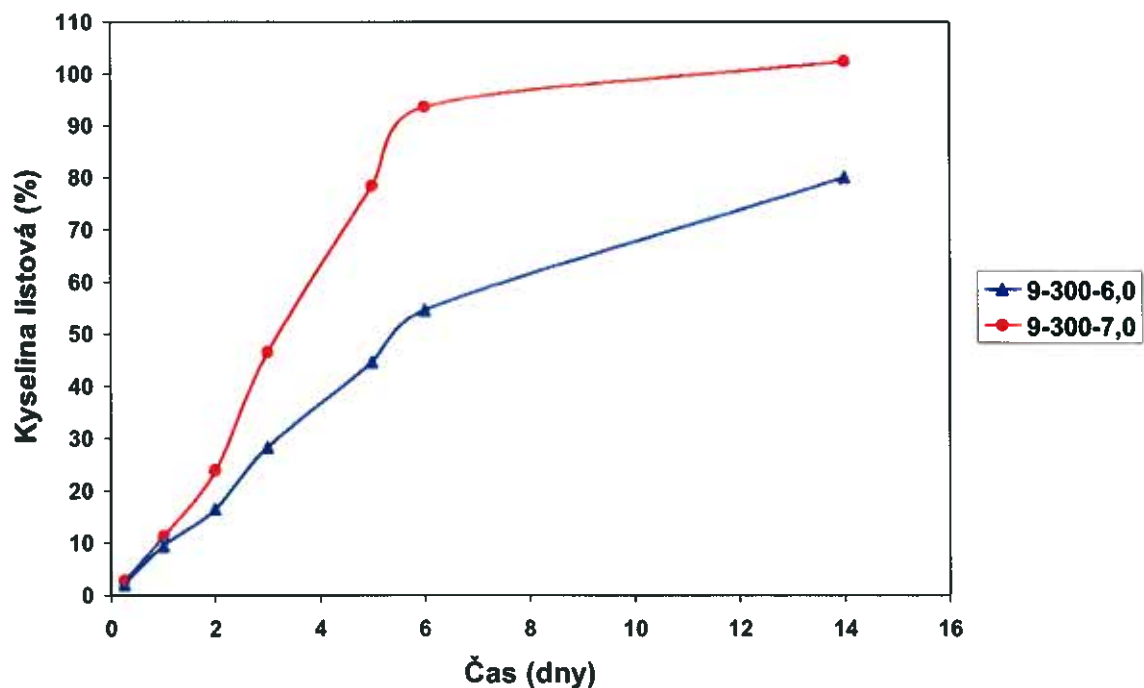
Obr. 51: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50 mg) s 3 % PEI-2, 3 % FA. (Tab. 100)



Obr. 52: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 3 % PEI-2, 3 % FA. (Tab. 100)

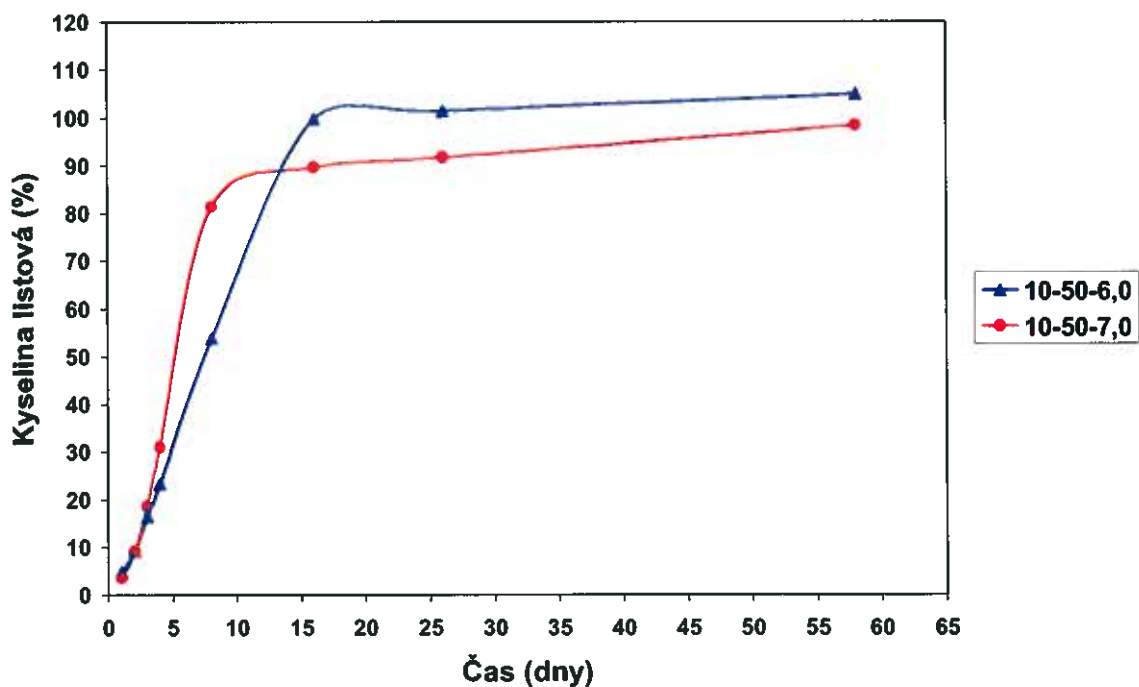


Obr. 53: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (300 mg) s 3 % PEI-2, 3 % FA. (Tab. 100)

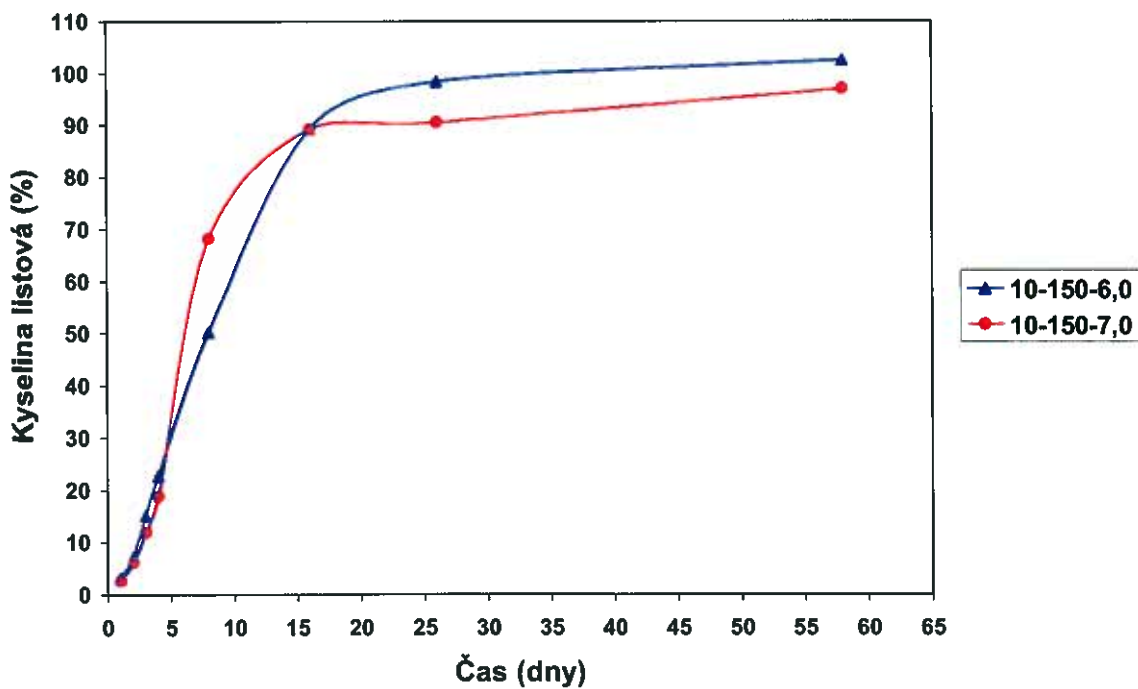




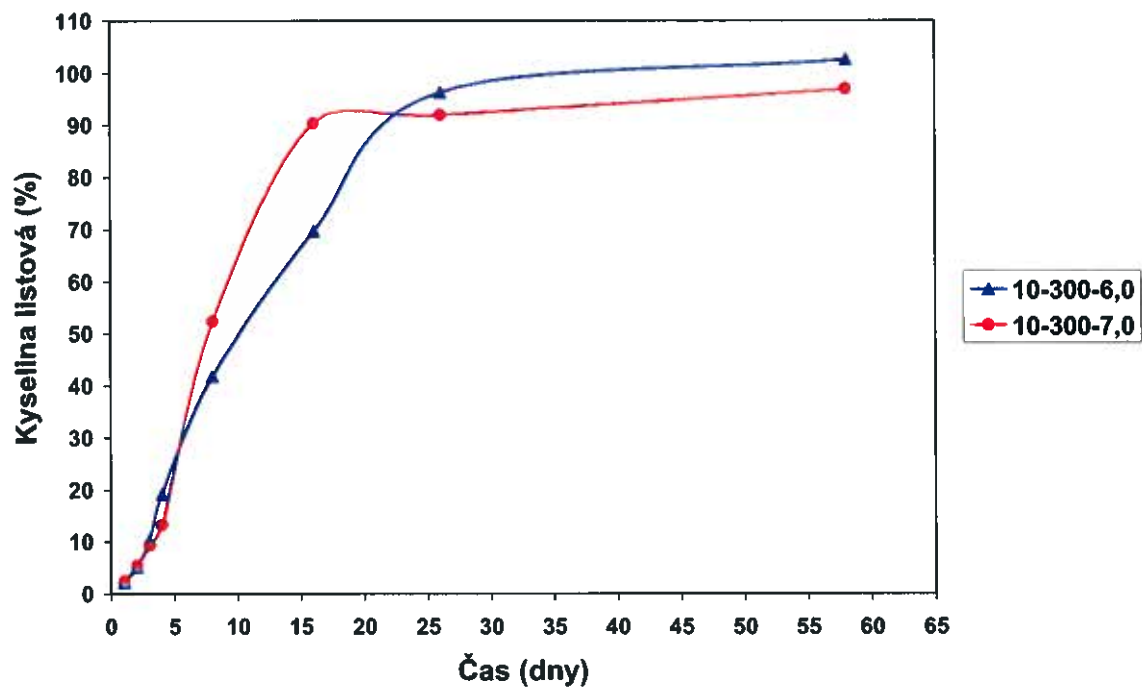
Obr. 54: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50 mg) s 3 % PEI-3, 3 % FA. (Tab. 101)



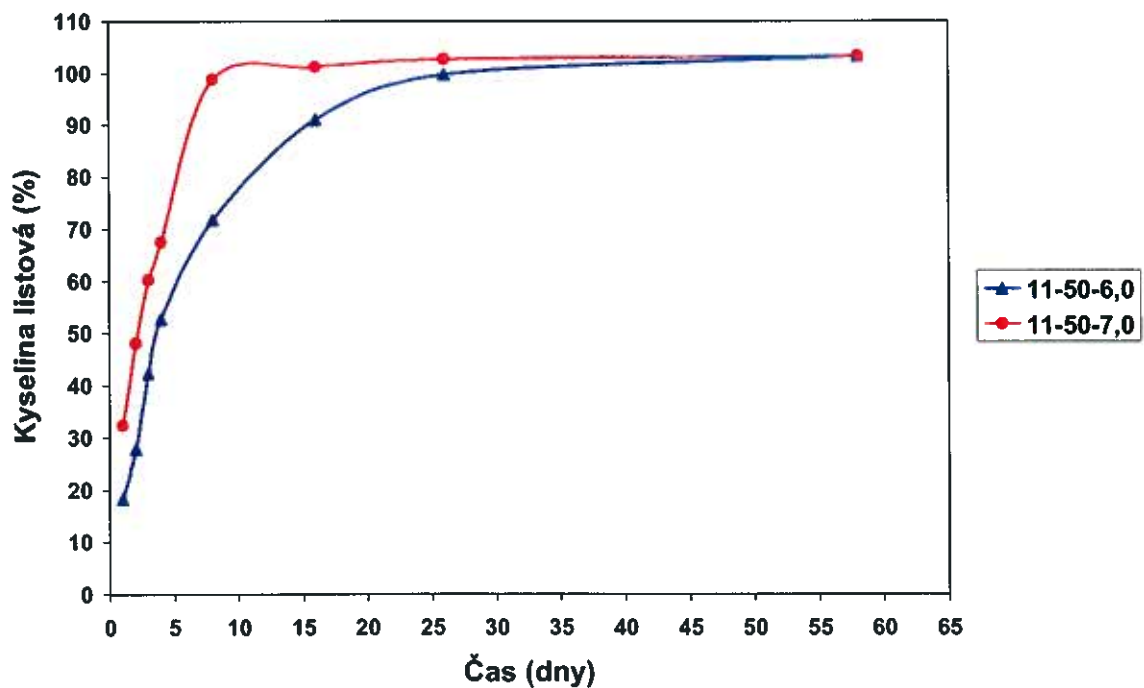
Obr. 55: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 3 % PEI-3, 3 % FA. (Tab. 101)



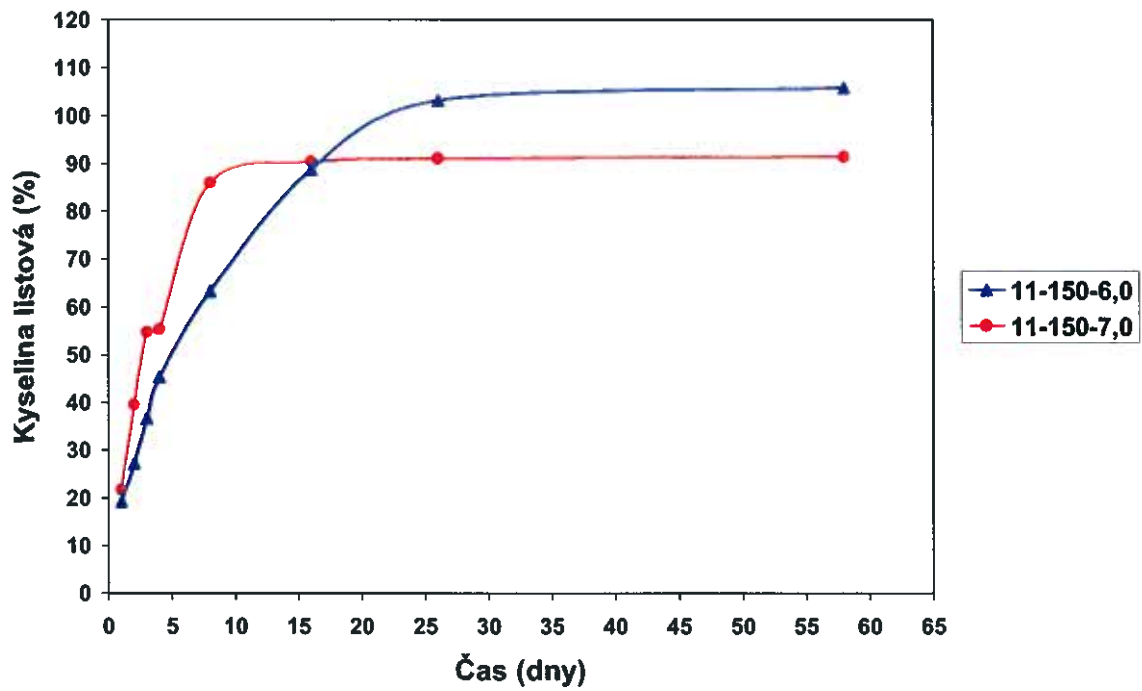
Obr. 56: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (300 mg) s 3 % PEI-3, 3 % FA. (Tab. 101)



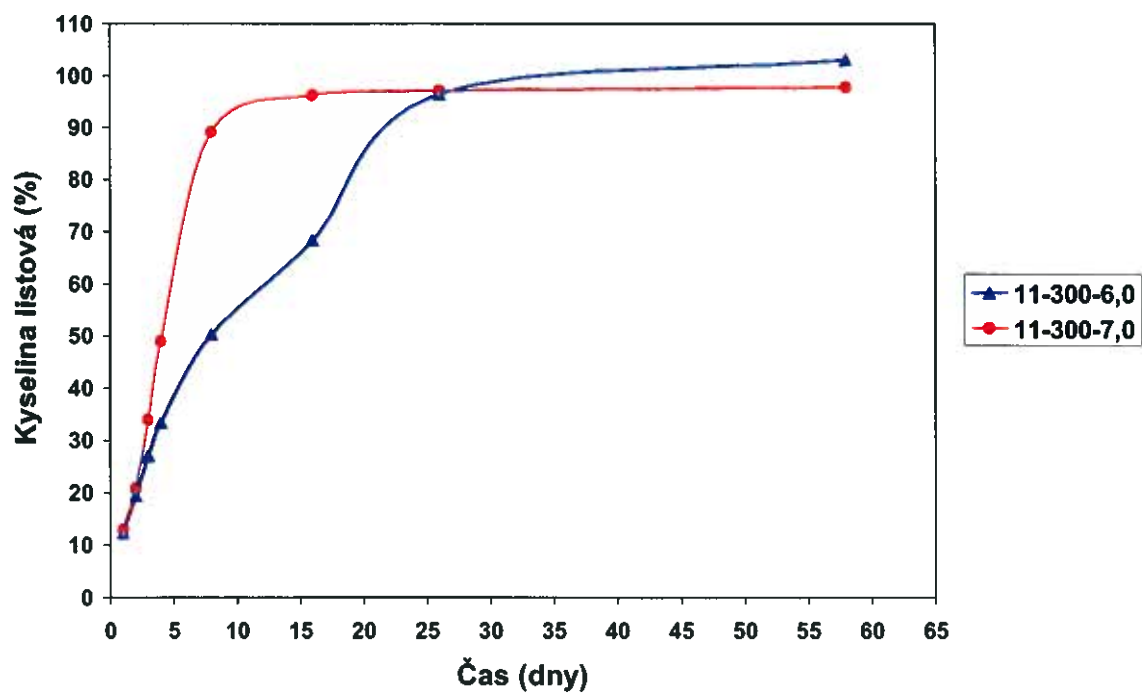
Obr. 57: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50 mg) s 3 % PEI-4, 3 % FA. (Tab. 102)



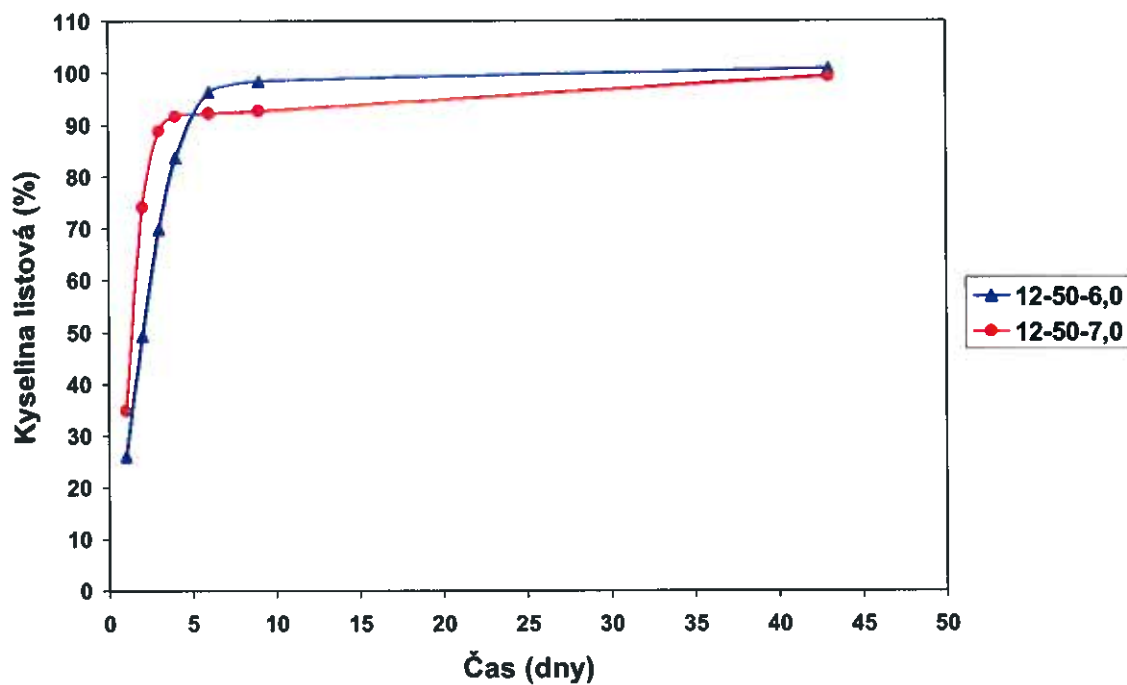
Obr. 58: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 3 % PEI-4, 3 % FA. (Tab. 102)



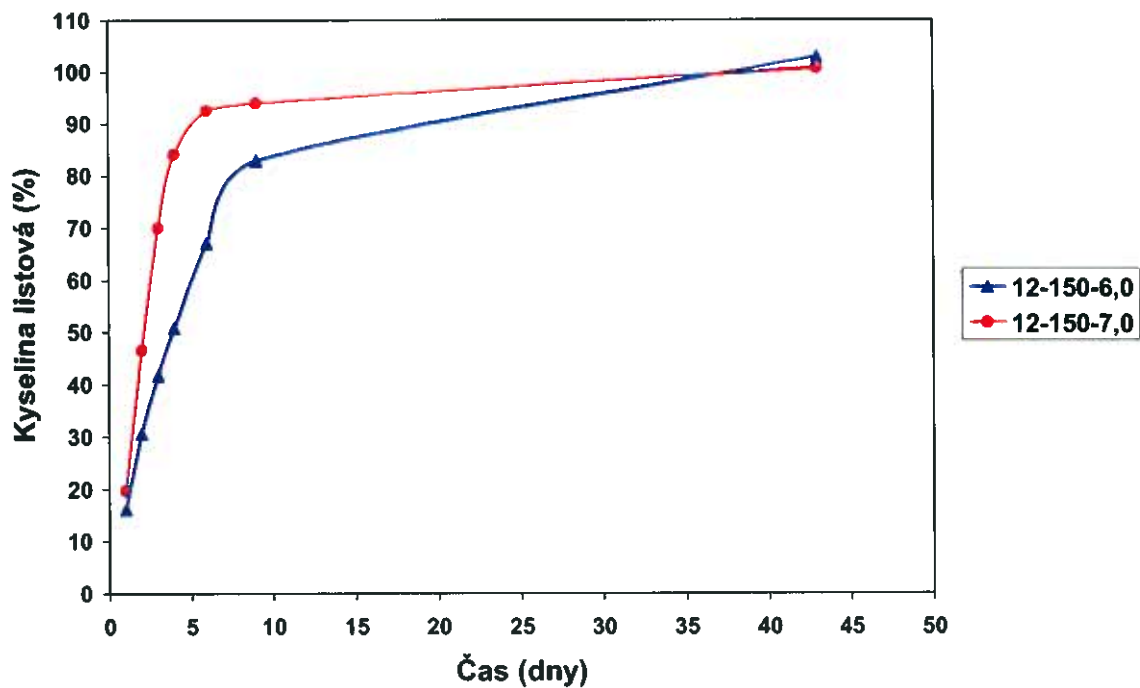
Obr. 59: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (300 mg) s 3 % PEI-4, 3 % FA. (Tab. 102)



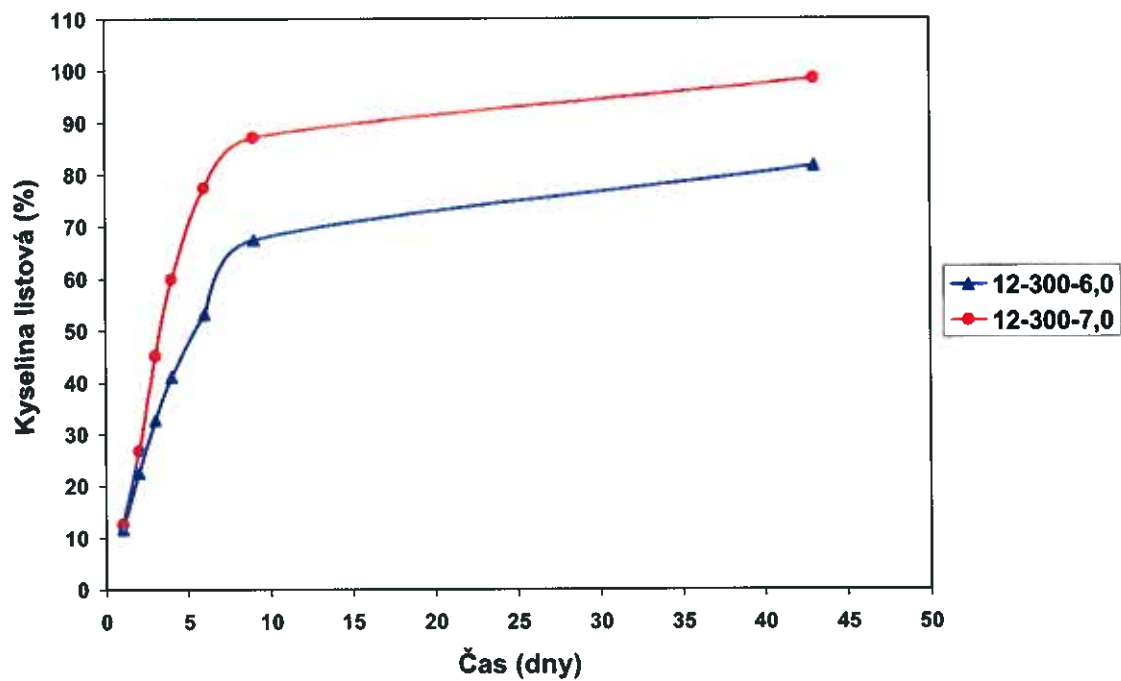
Obr. 60: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50 mg) s 3 % PEI-5, 3 % FA. (Tab. 103)



Obr. 61: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (150 mg) s 3% PEI-5, 3 % FA. (Tab. 103)



Obr. 62: Průběh liberace kyseliny listové z oligomerních matric (300 mg) s 3 % PEI-5, 3 % FA. (Tab. 103)



Tab. 99: Liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50, 150 a 300 mg) s 3 % PEI-1, 3 % FA. (Obr. 48, 49, 50)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)													
		0,25		1		2		3		5		6		14	
8A-50-6,0	0,0481	7,65	7,38	25,38	25,19	44,48	44,27	65,95	66,20	94,15	95,19	102,62	102,72	107,42	109,11
8B-50-6,0	0,0492	7,11		25,01	25,01	44,07	44,07	66,44	66,44	96,23	96,23	102,82	102,82	110,79	110,79
8A-50-7,0	0,0546	6,07	6,50	20,50	22,51	49,10	52,22	86,39	88,30	94,37	94,45	95,03	95,20	96,20	96,33
8B-50-7,0	0,0534	6,93		24,52	22,51	55,55	52,22	90,22	88,30	94,54	94,45	95,37	95,20	96,46	96,33
8A-150-6,0	0,1572	2,73	2,31	11,78	11,16	23,54	22,48	41,90	39,79	67,56	64,26	79,93	76,02	105,04	103,20
8B-150-6,0	0,1576	1,90		10,54	11,16	21,42	22,48	37,67	37,67	60,96	60,96	72,10	72,10	101,36	101,36
8A-150-7,0	0,1434	2,92	3,24	12,04	12,63	30,37	29,97	56,80	56,15	92,60	92,27	93,80	94,28	94,59	95,00
8B-150-7,0	0,1557	3,55		13,21	12,63	29,57	29,97	55,49	56,15	91,94	92,27	94,76	94,28	95,40	95,00
8A-300-6,0	0,3083	1,70	1,72	7,92	8,02	14,83	14,98	25,32	26,00	39,20	40,55	47,05	49,64	68,97	72,69
8B-300-6,0	0,3056	1,74		8,13	8,02	15,13	14,98	26,67	26,00	41,90	40,55	52,22	49,64	76,40	72,69
8A-300-7,0	0,2959	2,66	2,61	10,28	9,92	22,48	22,28	40,88	41,57	72,06	73,71	87,45	87,67	99,65	98,22
8B-300-7,0	0,2972	2,56		9,57	9,92	22,07	22,28	42,27	41,57	75,35	73,71	87,89	87,67	96,79	98,22

Tab. 100: Liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50, 150 a 300 mg) s 3 % PEI-2, 3 % FA. (Obr. 51, 52, 53)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)													
		0,25		1		2		3		5		6		14	
9A-50-6,0	0,0492	5,06	8,17	21,02	25,32	41,03	46,59	63,18	69,73	90,86	98,38	97,18	105,32	103,87	110,20
9B-50-6,0	0,0536	11,28		29,61	25,32	52,16	46,59	76,27	69,73	105,89	98,38	113,46	105,32	116,53	110,20
9A-50-7,0	0,0529	6,04	5,95	26,99	26,65	59,60	56,98	89,77	86,47	95,43	94,39	96,14	95,41	96,86	96,16
9B-50-7,0	0,0501	5,86		26,32	26,65	54,36	56,98	83,18	86,47	93,36	94,39	94,67	95,41	95,45	96,16
9A-150-6,0	0,1476	3,62	4,41	13,66	14,48	25,29	25,99	41,09	42,96	62,65	66,37	71,64	76,22	102,63	103,95
9B-150-6,0	0,1512	5,20		15,30	14,48	26,70	25,99	44,84	42,96	70,09	66,37	80,79	76,22	105,27	103,95
9A-150-7,0	0,1514	3,65	3,83	16,32	16,37	32,49	33,05	60,59	59,19	94,12	93,13	95,22	96,25	95,82	96,89
9B-150-7,0	0,1551	4,00		16,41	16,37	33,61	33,05	57,79	59,19	92,14	93,13	97,29	96,25	97,96	96,89
9A-300-6,0	0,3049	2,09	2,05	9,19	9,38	15,98	16,33	28,33	28,24	45,58	44,58	55,52	54,49	80,30	80,01
9B-300-6,0	0,2973	2,02		9,57	9,38	16,68	16,33	28,15	28,24	43,58	44,58	53,47	54,49	79,72	80,01
9A-300-7,0	0,3056	2,61	2,67	10,06	11,19	22,84	23,72	40,97	46,31	71,82	78,34	88,08	93,55	97,48	102,35
9B-300-7,0	0,2987	2,72		12,31	11,19	24,59	23,72	51,66	46,31	84,86	78,34	99,02	93,55	107,21	102,35

Tab. 101: Liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50, 150 a 300 mg) s 3 % PEI-3, 3 % FA. (Obr. 54, 55, 56)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)											
		1	2	3	4	8	16	26	58				
10A-50-6,0	0,0555	4,41	9,10	16,40	23,55	50,33	96,56	98,34	102,08				
10B-50-6,0	0,0550	5,07	9,10	16,52	22,85	57,35	102,83	104,35	107,74				
10A-50-7,0	0,0511	4,06	9,11	19,59	32,08	83,59	89,20	91,92	98,68				
10B-50-7,0	0,0497	2,93	8,95	17,67	30,04	79,02	90,08	91,37	98,00				
10A-150-6,0	0,1504	3,32	7,45	16,06	23,42	53,38	93,80	98,28	103,05				
10B-150-6,0	0,1434	2,81	6,74	14,15	22,12	46,89	84,41	98,28	101,70				
10A-150-7,0	0,1510	2,35	5,43	11,63	18,98	68,55	87,56	88,61	94,46				
10B-150-7,0	0,1537	2,88	6,66	12,04	18,42	67,39	90,56	92,24	99,19				
10A-300-6,0	0,2979	2,28	5,18	10,40	20,91	45,16	71,28	95,96	100,78				
10B-300-6,0	0,3006	2,03	5,12	10,07	17,54	38,48	68,07	96,66	104,29				
10A-300-7,0	0,3008	2,18	5,30	8,93	12,43	43,98	90,41	92,47	97,45				
10B-300-7,0	0,3028	2,24	5,08	9,24	13,98	60,59	90,23	91,34	96,31				

Tab. 102: Liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50, 150 a 300 mg) s 3 % PEI-4, 3 % FA. (Obr. 57, 58, 59)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (dny)											
		1	2	3	4	8	16	26	58				
11A-50-6,0	0,0502	9,68	18,96	35,86	48,98	73,23	92,95	95,47	99,82				
11B-50-6,0	0,0515	26,58	36,57	48,61	56,23	70,04	88,84	103,72	106,59				
11A-50-7,0	0,0473	29,48	47,64	61,59	69,20	98,46	98,67	99,21	100,04				
11B-50-7,0	0,0531	34,98	48,12	58,52	65,43	98,83	103,48	105,84	106,21				
11A-150-6,0	0,1505	18,72	26,63	36,78	44,65	62,69	89,01	102,24	104,74				
11B-150-6,0	0,1524	19,53	27,69	36,51	45,84	63,75	88,54	104,11	107,07				
11A-150-7,0	0,1473	21,14	38,61	53,28	55,12	90,43	91,63	92,56	92,96				
11B-150-7,0	0,1495	21,99	40,29	55,85	55,35	81,25	88,98	89,45	90,02				
11A-300-6,0	0,3014	11,59	18,62	24,70	30,46	46,74	63,47	95,09	102,22				
11B-300-6,0	0,2990	13,04	20,20	29,30	36,18	53,73	73,28	97,79	103,94				
11A-300-7,0	0,2993	12,22	18,86	31,71	46,02	90,39	94,81	95,70	96,45				
11B-300-7,0	0,2999	13,45	22,61	36,06	51,82	87,80	97,53	98,42	99,13				

Tab. 103: Liberace kyseliny listové z oligomerních matric (50, 150 a 300 mg) s 3 % PEI-5, 3 % FA. (Obr. 60, 61, 62)

Vzorek	Hmotnost (g)	Čas (diny)													
		1	2	3	4	6	9	43							
12A-50-6,0	0,0479	23,70	26,04	46,35	49,29	66,07	69,95	79,48	83,63	94,92	96,38	98,17	98,30	100,76	100,85
12B-50-6,0	0,0499	28,38	52,23	52,23	49,29	73,82	73,82	87,79	87,79	97,84	97,84	98,42	98,42	100,94	100,94
12A-50-7,0	0,0483	37,99	34,81	77,99	74,18	90,81	88,87	91,37	91,64	91,66	92,23	91,95	92,64	98,44	99,36
12B-50-7,0	0,0486	31,63	70,38	70,38	74,18	86,93	88,87	91,91	91,64	92,80	92,23	93,34	92,64	100,28	100,28
12A-150-6,0	0,1515	16,21	16,05	30,13	30,51	41,10	41,64	50,04	50,69	65,73	67,02	81,68	82,85	102,15	102,85
12B-150-6,0	0,1447	15,88	30,89	30,89	30,51	42,18	51,33	51,33	68,31	68,31	67,02	84,02	84,02	103,56	103,56
12A-150-7,0	0,1491	19,30	19,66	46,09	46,42	73,42	69,84	87,31	84,04	94,42	92,39	94,72	93,84	101,48	100,68
12B-150-7,0	0,1522	20,03	46,76	46,76	46,42	66,25	69,84	80,77	84,04	90,37	92,39	92,96	93,84	99,89	100,68
12A-300-6,0	0,2923	10,56	11,59	20,01	22,54	29,52	32,63	37,84	41,09	48,91	53,10	62,89	67,46	77,14	81,67
12B-300-6,0	0,2894	12,63	25,06	25,06	22,54	35,75	35,75	44,35	44,35	57,30	53,10	72,02	72,02	86,20	86,20
12A-300-7,0	0,3018	13,26	12,51	24,85	26,78	42,97	45,13	57,61	59,88	77,09	77,43	86,94	87,18	96,80	98,49
12B-300-7,0	0,2987	11,76	28,71	28,71	26,78	47,29	45,13	62,14	59,88	77,78	77,43	87,41	87,18	100,18	100,18



## 5. DISKUZE

### 5.1 ZAMĚŘENÍ A METODIKA PRÁCE

Účinek mnoha léčiv je možno modulovat dobou trvání jejich uvolňování (liberace) ze struktury aplikovaného přípravku. Dobu a rychlost liberace je možno předpovídat a řídit za předpokladu znalosti jejího mechanismu. Při uvolňování léčiv se uplatňuje mechanismus difúze, permeace, rozpouštění, konvekce, desorpce a okluze. Liberace z biodegradabilních systémů je složitější, protože se uplatňují parametry vnitřního prostředí přípravku při degradaci nosiče. Při hydrolýze alifatických polyesterů se jedná o koincidenci degradace a liberace danou změnami v aktuální aciditě, iontové síle, polaritě nosiče a také o postupné snižování množství nosiče jeho erozí. Proto se dosavadní snahy o zobecnění různých modelů uvolňování léčiv setkaly pouze s částečnými úspěchy.

Implantáty *in situ* jsou jednou z nejnovějších aplikačních forem léků, které přinesl intenzivní výzkum a vývoj ve farmaceutické technologii v 90. letech. Z několika možných variant řešení byl na školícím pracovišti ve spolupráci s firmou Pliva-Lachema vyvinut systém chráněný světovým patentem<sup>154</sup>. Jedná se o větvené polyestery a oligoestery alifatických hydroxykyselin plastifikované kapalinou s dobrou mísitelností v nosiči a s omezenou mísitelností ve vodě. Významnou výhodou řešení je biokompatibilita nosičů syntetizovaných z polyhydričních alkoholů a z alfa hydroxykyselin bez použití katalyzátoru. Nižší viskozita tavenin, plastifikovaných systémů a roztoků větvených nosičů je předpokladem nejen lepší zpracovatelnosti, ale také snadnější aplikace injekční jehlou o menším průměru. Nižší hodnoty teploty skelného přechodu mohou také zlepšit zpracovatelnost systémů zvýšenou kompatibilitou mísených složek. Mohou být také podmínkou standardního chování systému po aplikaci. Větvené molekuly nosiče mají vyšší koncentraci koncových skupin, což může být výhodou při interakci povrchů implantátu a biologické tkáně.

První systém implantátů *in situ*, který byl vyvinut a je chráněn mnoha patenty firmy Atrix Laboratories, je založen na roztoku biodegradabilního polymeru v rozpouštědle dobře mísitelném ve vodě, jako je např. N-methyl-2-pyrrolidon<sup>116</sup>. Rozpouštědlo je výrazně majoritní složkou. V této práci studované implantáty obsahují málo téžavá rozpouštědla zpravidla v minoritním množství, jsou to tedy klasické plastifikátory. Omezená nebo velmi malá mísitelnost těchto kapalin ve vodě podmiňuje interakce s biologickým prostředím. Průběh a mechanismus liberace má specifické rysy dané

pomalým rozdělováním plastifikátoru do vodné okolní tkáně, která je v kontaktu s implantovaným systémem.

Viskozita implantabilních systémů je parametr, který souvisí nejen s jejich aplikovatelností, ale je také indikací kompatibility nosiče s plastifikátorem. Sledování a vyhodnocení vlivu teploty na viskozitu má význam pro praktické využití poznatků. Před aplikací je totiž výhodné systém zahřát. Jako maximální teplota, která nesnižuje komfort pacienta je obecně tradována hodnota 53 °C. Viskozita systémů spočívajících ve struktuře plastifikovaných polyesterů nebo oligoesterů může být také faktorem, který souvisí s průběhem liberace léčiva. Eroze nosiče je velmi důležitý faktor, který limituje maximálně dosažitelnou dobu liberace, paralelní průběh eroze a liberace je ideální situace. Bobtnání nosiče je děj, který významně moduluje průběh liberace změnou poměrů pro rozpouštění a difúzi molekul nebo iontů léčiva.

Liberaci léčiv z biodegradabilních implantátů *in situ* je možno modifikovat dalšími aditivami. Jako zajímavé a dosud neprozkoumané se jeví polyethyleniminy, které našly uplatnění jako látky umožňující nebo zvyšující transfekci genetického materiálu do buněk.

## 5.2 VISKOZITA PLASTIFIKOVANÝCH NOSIČŮ

Implantáty *in situ* by měly mít při aplikaci minimální viskozitu. Z hlediska fyzikální stability je však při dlouhodobém skladování nutné, aby nedocházelo k sedimentaci částic léčiva nebo k jejich agregaci. Proto může být výhodné, když systém výrazně snižuje viskozitu při zvýšení teploty. S ohledem na termolabilitu mnoha léčiv se jedná o vývoj systémů, které sniží viskozitu již po mírném zahřátí. Kromě lability léčiva při zvýšené teplotě jsou důležitým aspektem termické limity pro poškození tkáně a hranice pro vnímání bolesti. Z těchto důvodů je nutno při termické úpravě implantabilního systému před jeho aplikací uvažovat o teplotě jen těsně převyšující 50 °C. Proto byly pro měření viskozity zvoleny tři ekvidistantní úrovně potenciálního faktoru teploty – 37 °C, 45 °C a 53 °C. Byly hodnoceny různé biokompatibilní plastifikátory esterového typu a jejich binární směsi použité v koncentraci od 10 % do 30 %. Byl použit Brookfieldův jednobodový rotační viskozimetr. Rozšíření možností měření systémů s širokým rozmezím viskozit a také vícebodová informace z hlediska tečného napětí byly získány při nastavení různé frekvence otáček vřetena. Vypočtené průměrné hodnoty viskozit pro teplotu 37 °C, 45 °C a 53 °C jsou shrnuty v Tab. 104.

Tab. 104: Průměrné hodnoty viskozit plastifikovaných matric při různých teplotách.

Vzorek	Aditivum	Průměrná hodnota $\eta$ (Pa.s)		
		37 °C	45 °C	53 °C
1	-	-	-	2086,33
2	10 % TEC	-	1210,00	275,11
3	20 % TEC	667,96	162,78	48,25
4	30 % TEC	69,88	21,46	8,00
5	10 % TBC	-	799,34	198,36
6	20 % TBC	850,46	294,75	61,81
7	30 % TBC	579,82	168,49	-
8	10 % TA	-	1025,75	236,44
9	20 % TA	356,74	91,72	28,43
10	30 % TA	39,78	13,20	5,13
11	10 % BL	610,05	155,20	47,67
12	20 % BL	18,68	7,31	3,29
13	30 % BL	3,29	1,61	-
14	10 % EL	619,76	162,31	47,00
15	20 % EL	26,11	9,64	4,07
16	30 % EL	2,70	1,33	-
17	10 % TB	-	663,80	164,50
18	20 % TB	358,37	65,79	19,51
19	30 % TB	198,86	-	-
20	5 % TEC, 5 % BL	1268,00	289,36	81,69
21	10 % TEC, 10 % BL	73,75	24,25	9,23
22	15 % TEC, 15 % BL	9,75	4,00	1,88
23	15 % BL, 15 % EL	2,38	-	-
24	15 % TA, 15 % BL	8,54	3,53	1,63
25	15 % TBC, 15 % BL	11,96	4,60	2,06

## 5.2.1 VISKOZITA PŘI 37 °C

Na obrázcích 10 a 11 jsou hodnoty dynamické viskozity oligoesteru kyseliny DL-mléčné, glykolové a mannitolu plastifikovaného různými kapalnými estery při 37 °C. Kromě informace o viskozitě při aplikaci se takto získá také údaj o viskozitě systému ve tkáni těsně po aplikaci. Vzhledem k širokému rozmezí hodnot byl celý soubor dat rozdělen do dvou obrázků s různou frekvencí otáček vřetena. Pro vzorky s vyšší viskozitou byla využita frekvence do 6 ot/min (obr. 10), pro systémy s nižší viskozitou frekvence od 10 do 100 ot/min (obr. 11). Změny hodnot viskozity při různé frekvenci otáček jsou způsobeny vlivem toku materiálu na strukturu systému.

Z obr. 10 a 11 je patrný vliv zvoleného plastifikátoru a jeho koncentrace na viskozitu. Nejvyšší naměřenou viskozitu měl systém plastifikovaný směsí stejných dílů triethylcitrátu a butyllaktátu v celkové koncentraci 10 %. Po zvýšení koncentrace této směsi na dvojnásobek se viskozita snížila o více než jeden řád, z 1270 Pa.s na 75 Pa.s. Směs použitá v koncentraci 30 % měla viskozitu jen 10 Pa.s. Dvakrát až třikrát nižší

viskozitu měly systémy se samotným butyllaktátem použitým ve stejné koncentraci jako jeho binární směs s triethylcitrátem. To tedy znamená, že butyllaktát je méně termodynamicky dobrým rozpouštědlem, méně solvatuje náhodné klubko. Naopak triethylcitrát je v dané trojici plastifikátorů nejlepším rozpouštědlem. Po přidání triethylcitrátu jsou molekuly nosiče v konformaci náhodného klubka nejvíce relaxované, mají nejvyšší hodnoty gyrálního poloměru. V rozmezí koncentrací od 10 % do 30 % byla takto jednoznačně prokázána aditivita v solvatační síle plastifikátorů. Stoupající termodynamická kvalita byla v řadě: butyllaktát < směs butyllaktátu a triethylcitrátu < triethylcitrát.

Termodynamicky nejlepším rozpouštědlem v daném souboru plastifikátorů byl tributylcitrát. Na obrázku 10 jsou velmi vysoké hodnoty viskozity jeho 20 % a 30 % směsí. V obou systémech lišících se koncentrací esteru klesala viskozita se stříhovou silou. Tento výrazný jev si vysvětlujeme špatnou kompatibilitou s nosičem a následným vytěsňováním plastifikátoru ze systému. U 30 % triethylcitrátu se tento méně výrazný jev dá vysvětlit propletením oligoesterových řetězců v jejich vysoce solvovaném a relativně relaxovaném stavu.

Nosič plastifikovaný triestery glycerolu, triacetinem a tributyrinem, měl viskozitu prakticky stejnou, oproti systémům s triethylcitrátem přibližně poloviční. Nejnižší viskozitu měly systémy plastifikované estery kyseliny mléčné – ethyllaktát a butyllaktát. V 10 % koncentraci měly systémy viskozitu okolo 600 Pa.s. Tyto systémy měly atypické chování, při zvyšování frekvence otáček vřetena se viskozita mírně zvyšovala. Pro tento slabý náznak dilatantního chování je možno vyslovit hypotézu o relativní rigiditě asymetrických vysoce zbobtnalých molekul, analogicky k obecně známému dilatantnímu toku vysoce koncentrovaných suspenzí. Po zvýšení koncentrace ethyllaktátu a butyllaktátu z 10 % na 20 % klesla viskozita velmi výrazně, přibližně třicetinásobně, po dalším zvýšení z 20 % na 30 % klesla viskozita asi na desetinu. Jedná se o velmi příznivý jev pro injekční aplikaci léčiv v implantátech *in situ*, teplota 37 °C je z hlediska dosažené viskozity systému (2,7 Pa.s) dostačující, ale je nutno vyvinout při injekční aplikaci větší tlak. Také směsi stejných dílů plastifikátorů s estery kyseliny mléčné v celkové koncentraci 30 % je možno hodnotit jako velmi výhodné z viskozitního hlediska vzhledem k silnému vlivu alkylaktátů na snížení viskozity systémů.

## 5.2.2 VISKOZITA PŘI 45 °C

Na obrázcích 12 a 13 je přehled naměřených hodnot dynamické viskozity nosiče plastifikovaného stejnými kapalnými estery jako při 37 °C. Odlišná je možnost použití 10 % koncentrace všech plastifikátorů vzhledem k vlivu teploty na snížení viskozity systémů. Z hlediska dosažených hodnot je možno soubor vzorků rozdělit na tři pásma. První obsahuje nejvíce viskózní vzorky s hodnotami od 600 do 1200 Pa.s, druhé středně viskózní s hodnotami od 60 do 350 Pa.s a třetí s nejnižšími viskozitami od 1 do 25 Pa.s.

V zóně nejvyšších viskozit jsou vzorky s 10 % plastifikátorem. Zcela zřetelně je vidět vliv snížení solvatační mohutnosti delším alkylem a také vliv vyšší schopnosti trialkylcitrátů solvatovat nosič než triacylglycerolů.

Ve středním pásmu jsou různé systémy obsahující od 10 % do 30 % plastifikátorů. Relativně vysokou viskozitu má tributylcitrát nejen ve 20 %, ale také ve 30 % koncentraci. Také systémy s 20 % triethylcitrátem, tributyrinem a triacetinem náleží do této střední reologické skupiny. Systémy s 10 % ethyllaktátem a butyllaktátem byly v podobné relaci k obdobně viskózním systémům s 20 % triethylcitrátem a 20 % triacetinem. Relace ve viskozitách byly podobné jako při 37 °C, rozdíly však byly nižší, absolutní hodnoty viskozity byly přibližně třikrát nižší. Totéž platí i o systémech s 30 % triestery a 20 % monoestery, které měly obdobnou viskozitu a patřily do skupiny systémů s nejnižšími hodnotami. Také při 45 °C platí aditivita vlivu plastifikátorů v jejich směsích na viskozitu. Nejnižší viskozitu měly matrice s monoestery použitými ve 30 % koncentraci. Jejich směsi s triestery v poměru 1:1 měly viskozitu aditivně mezi viskozitami složek.

## 5.2.3 VISKOZITA PŘI 53 °C

Po zvýšení teploty ze 45 °C na 53 °C došlo k několikanásobnému snížení viskozity všech plastifikovaných systémů. Při této teplotě byla také v oblasti měřitelných hodnot viskozita taveniny samotného oligoesterového nosiče. Na obr. 14 je vidět, jak výraznému snížení viskozity došlo po přidání různých plastifikátorů v 10 % koncentraci. Relace v pořadí byly při 53 °C stejné jako při 45 °C, byl však snížen rozdíl ve viskozitách. Po přidání laktátu do směsi s triesterem byla viskozita při zachování celkové 10 % koncentrace plastifikátoru snížena.

Také při 20 % koncentraci klesala viskozita v pořadí plastifikátorů: tributylcitrát, triethylcitrát, triacetin a tributyrin. Nejnižší viskozitu měly systémy s estery kyseliny mléčné. Ethyllaktát v 10 % koncentraci snížil viskozitu nosiče z 2100 Pa.s na přibližně

50 Pa.s., po dalším zvýšení koncentrace ethyllaktátu na 20 % byla viskozita přibližně 4 Pa.s.

## 5.2.4 AKTIVAČNÍ ENERGIE VISKÓZNÍHO TOKU

Klasickou Arrheniovu rovnici platnou pro teplotní závislost kinetiky chemické reakce je možno využít pro studium mechanismu souvisících difúzních jevů látek a viskozitního chování systémů<sup>155</sup>. Viskózní tok je pokládán za difúzní jev<sup>156</sup>, jeho rychlost závisí na teplotě. Arrheniův vztah je možno využít k usuzování na mechanismus liberace léčiva z polymerních systémů<sup>157</sup>. Z výpočtu korelace tří bodů Arrheniova vztahu modifikovaného pro viskozitu je možno vyvodit, zda při zahřívání systémů nedochází v rozmezí teplot 37 °C až 53 °C ke změně struktury systému. Hodnoty koeficientů korelace, které jsou uvedeny v Tab. 105, mají hodnoty až na výjimku mezi 0,99 a 0,9999. Jednalo se o koeficient korelace pro tributylcitrát (0,9845) z důvodu omezené mísitelnosti složek. Diskontinuity v reologickém chování parafinu odhalené z Arrheniových grafů byly výraznější a sloužily k odhalení strukturálních jevů<sup>158</sup>.

Tab. 105: Logaritmus průměrných hodnot  $\eta$  při různých teplotách a korelace linearity jejich hodnot.

Vzorek	Aditivum	ln průměru $\eta$			Korelační koeficient
		37 °C	45 °C	53 °C	
3	20 % TEC	6,504	5,092	3,876	0,9992
4	30 % TEC	4,247	3,066	2,080	0,9986
6	20 % TBC	6,746	5,686	4,124	0,9845
9	20 % TA	5,877	4,519	3,347	0,9992
10	30 % TA	3,683	2,580	1,636	0,9991
11	10 % BL	6,414	5,045	3,864	0,9992
12	20 % BL	2,927	1,989	1,192	0,9989
14	10 % EL	6,429	5,090	3,850	0,9999
15	20 % EL	3,262	2,266	1,403	0,9993
18	20 % TB	5,882	4,186	2,971	0,9936
20	5 % TEC, 5 % BL	7,145	5,668	4,403	0,9991
21	10 % TEC, 10 % BL	4,301	3,188	2,223	0,9993
22	15 % TEC, 15 % BL	2,277	1,385	0,631	0,9989
24	15 % TA, 15 % BL	2,145	1,260	0,489	0,9994
25	15 % TBC, 15 % BL	2,481	1,525	0,723	0,9987

Hodnoty entalpie ( $\Delta H$ ) a entropie ( $\Delta S$ ) viskózního toku byly vypočteny dle Subramaniana<sup>159</sup>. Se zvyšováním koncentrace triethylcitrátu, triacetinu a ethyllaktátu se aktivační entalpie viskózního toku snižuje (Tab. 106). Snížení hodnoty se pro jednotlivé

plastifikátory liší, nejsilnější vliv teploty na změnu aktivační energie viskózního toku je u matric s 10 % a 20 % ethyllaktátem a butyllaktátem. Entalpie, jako odvozená hodnota aktivační energie, byla u systémů plastifikovaných 10 % estery kyseliny mléčné srovnatelná se systémy s 20 % estery glycerolu nebo kyseliny citronové. Hodnoty se pohybovaly kolem  $135 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ . Podobná shoda hodnot entalpie viskózního toku byla pozorována mezi 20 % laktáty a 30 % triacetinem a triethylcitrátem, hodnoty entalpie byly v rozmezí od 91 do  $113 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ . Existují různé modely pro popis růstu viskozity systémů s poklesem teploty. V modelu volného objemu se vychází z omezených prostorových možností pro změnu pozice molekuly, v entropickém modelu se vychází z poklesu konfigurační entropie systému<sup>160</sup>. U systémů, které nelze popsat Arrheniovou rovnicí, lze podle Adama a Gibbse dát viskozitu do relace s konfigurační entropií jako konstantou nezávislou na teplotě<sup>161</sup>.

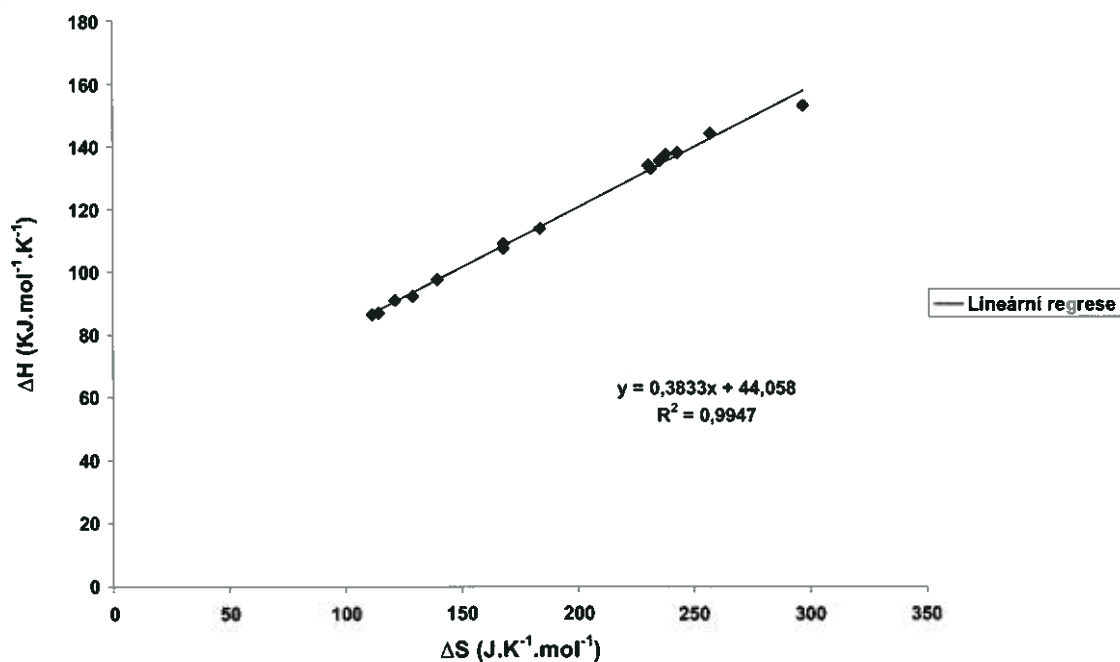
**Tab. 106: Hodnoty entalpie ( $\Delta H$ ) a entropie ( $\Delta S$ ) viskózního toku.**

Vzorek	Aditivum	$\Delta H$ ( $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ )	$\Delta S$ ( $\text{J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$ )
3	20 % TEC	138,2	243,3
4	30 % TEC	113,9	183,9
6	20 % TBC	137,6	238,3
9	20 % TA	133,0	231,8
10	30 % TA	107,7	168,4
11	10 % BL	134,1	230,7
12	20 % BL	91,3	121,7
14	10 % EL	135,6	235,4
15	20 % EL	97,8	139,9
18	20 % TB	153,2	297,2
20	5 % TEC, 5 % BL	144,2	257,4
21	10 % TEC, 10 % BL	109,3	168,3
22	15 % TEC, 15 % BL	86,6	111,9
24	15 % TA, 15 % BL	87,1	114,7
25	15 % TBC, 15 % BL	92,5	129,3

V tzv. arrheniovských systémech, s vysokou mírou korelace mezi logaritmem viskozity a reciprokou teplotou, což je případ daného souboru vzorků a jejich chování, je možno z hodnot aktivační energie usuzovat na mechanismus viskózního toku. Bylo odvozeno, že aktivační energii z Arrheniovy rovnice je možno u viskózního toku chápat jako entalpickou složku a srážkovou konstantu jako entropickou složku<sup>162</sup>. Mezi těmito dvěma složkami byla u mikroemulzí prokázána korelace s vysokou hodnotou koeficientu 0,9954. Systémy s vyššími absolutními hodnotami  $\Delta H$  a  $\Delta S$  jsou více uspořádané než systémy s nižšími hodnotami<sup>159</sup>.

Na obr. 63 je graf souvislosti mezi entalpickou a entropickou složkou teplotní závislosti viskózního toku podle Arrheniovy rovnice. Zobrazení se týká těch vzorků, které byly měřitelné v celém rozmezí teplot a dávaly závislost viskozity na třech teplotách. Byla prokázána velmi těsná korelace s hodnotou koeficientu 0,9947, která byla prakticky stejná jako v práci Subramaniana<sup>159</sup>. Z výsledků plyne závěr, že v teplotním rozmezí 37 °C až 53 °C nedochází v systému k žádným strukturálním změnám. Afinity nosiče k plastifikátorům se mění u všech systémů lišících se kvalitou a kvantitou složek prakticky stejně. Růst bariérové energie viskózního toku je doprovázen stejnou mírou změny v uspořádanosti systému.

**Obr. 63: Souvislost mezi entalpickou a entropickou složkou teplotní závislosti viskózního toku podle Arrheniovy rovnice.**



### 5.3 INTERAKCE IMPLANTABILNÍCH SYSTÉMŮ S HYDROFILNÍM MÉDIEM

Implantáty jsou jedinou lékovou formou, která je určena k dlouhodobému uvolňování léčiva do biologického systému. Formulace implantátů je proces, který je velmi náročný z hlediska složení a struktury systémů. Jejich nevýhodou je invazivní charakter aplikace spočívající v porušení tkáně skalpelem, v mechanickém vsunutí tělíska a



v uzavření rány chirurgickými stehy. Diskomfort pacienta při implantaci je možno řešit dvěma přístupy. První vychází z přípravy částicových systémů. Pro liberaci hydrofilních látek, jako jsou mnohé peptidy, proteiny, nukleové kyseliny a jejich fragmenty, je často nemožné inkorporovat tyto látky v dostatečném množství pro zajištění dlouhodobé liberace. Řešením mohou být v některých případech implantáty *in situ*. Jedná se o kapalinu, která nějakým mechanismem přechází do stavu vysoce viskózního nebo tuhého. Kapalinu je možno do tkáně aplikovat dutou jehlou. Nejčastěji se využívá tzv. systém Atrigel, což je patentovaný systém léčiva a polymeru rozpuštěného v hydrofilním biokompatibilním rozpouštědle. Po aplikaci systému dochází k rozdělování rozpouštědla do okolní tkáně za vzniku polymerního tělesa. Podmínkou je biodegradabilita polymeru, tj. jeho schopnost rozkládat se v biologickém prostředí.

Systém Atrigel byl modifikován použitím větvených oligoesterů jako nízkoviskózních složek dovolujících použití rozpouštědla v malé koncentraci, tedy ve funkci plastifikátoru. Několikanásobně nižší koncentrace plastifikátoru, než tomu je u systému Atrigel, s sebou nese nižší parametry toxicity systémů. V některých případech je výhodné, když je viskozita systému snížena zahřátím. Uvedené řešení bylo uznáno jako původní udělením patentu.

Implantáty mohou být v nejjednodušším případě tvořeny oligoesterovým nosičem, plastifikátorem a léčivem. Studium interakcí plastifikovaných oligoesterů s hydrofilním médiem je základem pro další formulační studie, zahrnující liberaci léčiva *in vitro* a *in vivo*. Interakce zahrnují dva parametry degradace nosičů, jejich erozi a bobtnání. Eroze a bobtnání jako samostatné projevy degradace, případně jejich kombinace, mohou být podstatou mechanismu liberace léčiva.

### 5.3.1 EROZE

Eroze je úbytek hmotnosti nebo objemu tělesa jako důsledek degradačních procesů. Degradace je obecnější pojem popisující snižování molekulové hmotnosti polymeru, eroze je také definována jako ztráta materiálu ve formě monomerů nebo oligomerů<sup>163</sup>. Degradace může být příčinou bobtnání a eroze. V případě oligoesterů alifatických hydroxykyselin se při erozi jedná o rozpouštění hydrofilních nízkomolekulárních fragmentů molekul z celého objemu tělesa (homogenní) nebo z jeho povrchu (heterogenní). Homogenní eroze je ovlivněna velikostí erodujícího tělesa, protože při ní ve vodě rozpustné degradační produkty musí difundovat tímto tělesem<sup>164</sup>. Dalším faktorem ovlivňujícím erozi je stupeň bobtnání tělesa. Pro využití biodegradabilních nosičů při formulaci léčivých přípravků je

důležitá standardnost eroze. Výhodné je, když proces není ovlivněn aktuální aciditou prostředí.

Vliv velikosti erodujícího tělesa je na obr. 16 a 17. Po zvýšení hmotnosti potenciálního implantátu ze 150 mg na dvojnásobek se sníží rychlost eroze v její počáteční fázi, která trvá přibližně tři dny. Vliv pH pufru byl malý, za pozornost stojí nižší rychlost eroze ve finálním stádiu. Po 28 dnech bylo prokázáno 10 % až 20 % neerodovaného nosiče.

Po přidání 10 % triethylcitrátu došlo k pozoruhodnému zrychlení eroze. 20 % úbytek hmotnosti tělesa zahrnoval jednak eluovaný plastifikátor, jednak rozpuštěnou nízkomolekulární frakci. Poločas eroze se snížil proti samotnému nosiči asi na polovinu. Příčina může být ve vyšší rozpustnosti a v rychlejší difúzi nízkomolekulární frakce zčásti přítomné v produktu syntézy, zčásti vytvořené po degradaci. Po týdenním intervalu se eroze zpomalí. Zvýšením koncentrace triethylcitrátu na 20 % (obr. 19) se překvapivě sníží rychlost v první týdenní fázi, ve druhé následující fázi je eroze rychlejší. Na konci pokusu za 4 týdny je neerodovaný zbytek prakticky stejný. Po dalším zvýšení koncentrace plastifikátoru na 30 % (obr. 20) se v pufru pH 6,0 výrazně zrychlí eroze v intervalu prvních tří dnů, po 20. dnu se vliv pH projeví opačně. V intervalu 28 dní zbývá v pufru pH 7,0 asi 7 % neerodovaného nosiče. Je možno předpokládat, že zpočátku se vlivem zpomalení eroze projeví více tvorba solí koncových karboxylů<sup>165</sup> při pH 7,0, v pozdější fázi může být dominantním faktorem velikost tělíska a kyselá hydrolyza<sup>164</sup>.

Triacetin, který je ve vodě méně rozpustný než triethylcitrát, vede v 10 % koncentraci k pomalejší erozi v počáteční fázi, poté je rychlost vyšší, takže na konci pokusu je zbývající podíl materiálu prakticky stejný (obr. 21). Totéž se týká matric s 20 % a 30 % plastifikátorem. Rozdělování triacetinu z 30 % systémů bylo velmi pomalé, trvalo podle odhadu nejméně 4 dny. Zajímavé je, že celková bilance eroze je téměř stejná jako u samotného neplastifikovaného nosiče (obr. 16 a 23).

Složitější je průběh eroze matric plastifikovaných 20 % tributylcitrátem (obr. 24). V prvním týdnu probíhala eroze rychle, potom se ve druhém týdnu téměř zastavila a ve třetí fázi pokračovala nízkým tempem tak, že za 28 dní zbývalo asi 25 % neerodovaného nosiče. Z hlediska průběhu eroze je možno pokládat nosič plastifikovaný tributylcitrátem za nevhodný.

Více hydrofilní butyllaktát ve 20 % koncentraci se projevil specificky tím, že se velmi rychle uvolnil z matric do média a zároveň také s sebou strhl nízkomolekulární frakci oligoesterového nosiče. Z obr. 25 je patrné, že za první den ubylo 40 % až 45 %

původní hmotnosti systému. Takto byl poločas eroze kratší než 3 dny. Po 7. dnu se eroze podstatně zpomalila. Erozi nosiče plastifikovaného ethyllaktátem, který je neomezeně mísitelný s vodou, doprovázela také eluce nízkomolekulární frakce, i když překvapivě nižší než u systému s butyllaktátem (obr. 26 a 25).

Tributyryn je kapalina, která byla ze všech použitých plastifikátorů nejméně rozpustná ve vodě. Třífázový průběh eroze systému s 20 % tributyrinem (obr. 27) je velmi podobný chování matric s tributylcitrátem (obr. 24). V uvedených systémech dochází patrně k rozpuštění nízkomolekulární frakce v počáteční fázi. Takto vytvořená méně polární frakce soustavy ochuzená o plastifikátor a hydrofilnější složku potom v úseku jednoho týdne téměř neeroduje a eroze pokračuje poté, co se začnou tvořit další nízkomolekulární ve vodě rozpustné fragmenty. Eroze matrice se strukturně analogickým, ale více polárním triacetinem probíhá odlišně (obr. 22).

Směs 15 % triethylcitrátu s 15 % butyllaktátem (obr. 28) se lišila od chování systémů s 30 % triethylcitrátem (obr. 20) a 20 % butyllaktátem (obr. 25). Binární plastifikátor solubilizoval v prvních třech dnech frakci oligoesteru, což mělo výše popsany efekt v následné pomalejší erozi, včetně jejího krátkodobého zastavení.

Výsledky dosažené v daném souboru vzorků je možno hodnotit jako velmi příznivé z hlediska rychlosti eroze a jejich kontinuálního charakteru. Válečky z vysokomolekulárních lineárních kopolymerů kyseliny mléčné a glykolové s molekulovou hmotností nad 100000 erodují diskontinuálně ve střední fázi procesu<sup>166</sup>, vlákna Dexonu, která degradují více než 12 týdnů, ztratí skokem 55 % své hmotnosti v intervalu mezi 2. a 4. týdnem při 85 % poklesu molekulové hmotnosti<sup>167</sup>. Začátek eroze je ovlivněn polaritou polymeru a jeho molekulovou hmotností. Zvýšením molekulové hmotnosti  $M_w$  poly(DL-mléčné) kyseliny z 25000 na 100000 se tento lag-time zvýší ze 100 dní na 200 dnů<sup>168</sup>. U váleček z oligomerní PLGA  $M_w$  4500 byla zaznamenána celková doba eroze do 30 dnů s lag-time v simulované cerebrospinální kapalině do 5 dnů, ve fosfátovém pufru pH 7 došlo k erozi prakticky ihned, při  $M_w$  22000 to byla prodleva v obou médiích přibližně 5 dní<sup>169</sup>. Hydrofilizace kyseliny poly(DL-mléčné) blokovou kopolymerizací s PEG vedla k materiálu s nástupem eroze zdánlivě paradoxně až za 77 dní<sup>170</sup>.

Hřebenovité kopolymery s polyvinylalkoholem měly i při vyšší molekulové hmotnosti vyšší rychlost eroze. Ke změně mechanismu děje z homogenního na heterogenní došlo po snížení molekulové hmotnosti větvících oligoesterových řetězců pod 1000<sup>171</sup>. Uvedený vliv větvení na změnu charakteru eroze byl popsán již dříve<sup>172</sup>. Vysokomolekulární hřebenovité kopolymery s dextranem erodovaly na rozdíl od

lineárních rychleji a kontinuálně přibližně 50 dnů<sup>173</sup>. Kopolymery lineární a analogické větvené na polyethylenoxidech se 4 nebo 8 větvemi erodovaly v závislosti na molekulové hmotnosti a stupni větvení. Větvené měly příznivější průběh děje<sup>174</sup>.

V Tab. 107 jsou výsledky výpočtů lineární regrese ze semilogaritmické sítě závislosti logaritmu podílu matrice na čase. Hlavním cílem bylo zjistit míru korelace modelu s lineární závislostí obou veličin. V případě dostatečně těsné korelace má smysl diskutovat hodnotu směrnice, která vyjadřuje rychlostní konstantu podle prvního řádu. Kinetice eroze větvených oligoesterů nebyla v literatuře věnována pozornost na rozdíl od kinetiky degradace, která zpravidla probíhá podle prvního řádu.

**Tab. 107: Hodnoty rychlostní konstanty, korelačního koeficientu a poločasu eroze oligoesterových matic.**

Vzorek	Aditivum	k	Korelační koeficient	Poločas eroze (dny)	
				$t_{1/2 r}$	$t_{1/2 g}$
1-150-6	-	0,0707	0,9910	8,76	7,1
1-150-7		0,0631	0,9790	9,49	8,9
1-300-6	-	0,0820	0,9893	9,96	11,0
1-300-7		0,0665	0,9803	10,64	10,1
2-150-6	10 % TEC	0,0831	0,9537	4,83	4,7
2-150-7		0,0713	0,9499	4,66	4,3
3-150-6	20 % TEC	0,0762	0,9737	5,69	5,0
3-150-7		0,0713	0,9887	6,31	5,6
4-150-6	30 % TEC	0,0603	0,9481	5,21	2,9
4-150-7		0,0801	0,9533	5,25	3,9
5-150-6	10 % TA	0,0748	0,9914	7,40	7,9
5-150-7		0,0684	0,9882	7,83	7,4
6-150-6	20 % TA	0,0748	0,9966	5,69	5,8
6-150-7		0,0708	0,9909	6,04	5,8
7-150-6	30 % TA	0,0698	0,9504	6,37	6,1
7-150-7		0,0755	0,9845	6,79	5,6
8-150-6	20 % TBC	0,0376	0,9109	7,87	4,7
8-150-7		0,0372	0,9269	6,33	4,0
9-150-6	20 % BL	0,0494	0,8929	1,14	2,6
9-150-7		0,0487	0,9851	1,32	2,3
10-150-6	20 % EL	0,0579	0,9825	3,47	3,4
10-150-7		0,0504	0,9692	2,89	2,6
11-150-6	20 % TB	0,0332	0,8249	4,65	3,6
11-150-7		0,0368	0,8973	5,26	3,7
12-150-6	15 % TEC, 15 % BL	0,0513	0,9969	4,65	5,0
12-150-7		0,0477	0,9925	4,29	3,6

$t_{1/2 r}$  ..... poločas eroze vypočtený z rovnice regrese

$t_{1/2 g}$  ..... poločas eroze odečtený z grafu

Koeficienty korelace byly rozděleny na tři třídy: 1) 0,99 a výše, 2) 0,95 až 0,99 a 3) pod 0,95. Přibližně čtvrtina vzorků patřila do první skupiny nejtěsnější korelace. Malá korelace s modelem kinetiky prvního řádu byla především u vzorků, které měly iniciální burst způsobený vymytím nízkomolekulární frakce rozpustné ve směsi média a plastifikátoru nebo třífázovou erozí s rychlou první fází, velmi pomalou druhou fází a pomalou třetí fází. Třífázová eroze probíhala v systémech plastifikovaných hydrofobním tributylcitrátem nebo tributyrinem.

Hodnoty poločasu eroze jsou přehledně shrnuty v Tab. 107. Vzorec pro výpočet poločasu eroze ( $t_{1/2}$ ) z kinetiky podle prvního řádu ( $\ln 2/k$ ) je zpravidla nepoužitelný i při relativně těsné korelaci, především s ohledem na diskontinuální procesy v iniciální fází. Při dostatečné shodě s modelem byly výsledky vypočtených hodnot  $t_{1/2}$  a hodnot odečtených přímo z grafu poměrně blízké. Obecně je možno shrnout, že plastifikace nosiče vedla ke zkrácení poločasu eroze, vliv pH média nebyl jednoznačný.

### 5.3.2 BOBTNÁNÍ

Bobtnání je první fází rozpouštění polymerů, je to proces toku rozpouštědla do polymerního tělesa na základě solvatačních, osmotických nebo kapilárních jevů. Dochází k němu na základě relaxace sítě tvořené jednotlivými řetězci polymeru nebo svazky řetězců, tzv. trámci. Proti relaxaci řetězců působí elastické síly řetězců polymeru<sup>175</sup>. Hnací silou bobtnání je především osmotický tlak složený z 1) interakce molekul s rozpouštědlem a 2) tlaku způsobeného entropickou mobilitou iontů. Druhá složka bývá významnější a je vždy pozitivní, smysl účinku první složky závisí na podmínkách<sup>176</sup>. Pokud jsou intermolekulární síly dané zesítním, krystalinitou nebo vodíkovými vazbami dostatečně intenzivní, potom se proces bobtnání zastaví v rovnovážném stavu<sup>177</sup>. Ve vysoce zbobtnalém systému se potom tvoří struktura jednofázového nebo dvoufázového gelu. Některé gely mohou vypudit rozpouštědlo (odbobtnat) různým mechanismem. U sodné soli polyakrylátů a u alginátových gelů bylo odbobtnání vyvoláno mechanickým stříhovým působením<sup>178</sup>. Odbobtnání kationických metakrylátových gelů zvýšením pH bylo navrženo jako řešení modulované liberace léčiv<sup>179</sup>.

Již dříve bylo na pracovišti školitele prokázáno, že stupeň bobtnání je v případě oligoesterových nosičů s lineární i větvenou konstitucí molekuly velmi citlivý na mnoho faktorů daných nejen složením systému, ale také parametry hydrofilního média. I v těchto slabě ionizovaných polymerech má velmi silný vliv na bobtnání přítomnost elektrolytu v polymerním tělese nebo v jeho kapalném okolí<sup>180</sup>. Bylo prokázáno, že rovnováha

v polyakrylátových gelech je velmi citlivá a může se výrazně změnit typem protiiontů karboxylu, které fungují jednak při neutralizaci náboje, jednak při elektrostatické (dipolární) agregaci iontových párů<sup>181</sup>. Při bobtnání se zpravidla malé kationty projeví zvýšeným bobtnáním a malé anionty vedou spíše k odbobtnání gelů. Vliv iontů na hydrataci polyallylaminu a polyvinylalkoholu byl interpretován prostřednictvím ovlivnění vodíkových vazeb<sup>182</sup>. Byl sledován vliv velikosti polymerního tělíska, vliv složení matric, koncentrace plastifikátoru a vliv aktuální acidity média. Hodnoty stupně bobtnání jsou přehledně shrnuty v Tab. 108.

**Tab. 108: Hodnoty stupně bobtnání oligoesterových matric.**

Vzorek	Aditivum	Stupeň bobtnání (%)					
		1.den	3.den	7.den	14.den	21.den	28.den
1-150-6	-	28,16	68,92	72,29	55,77	45,09	26,55
1-150-7		42,67	50,69	28,93	47,66	53,53	64,02
1-300-6	-	15,15	40,85	16,15	10,75	10,90	18,25
1-300-7		18,85	54,80	32,65	26,90	19,40	32,05
2-150-6	10 % TEC	75,30	80,44	86,45	41,03	47,51	85,63
2-150-7		78,78	57,75	101,56	34,78	36,36	91,33
3-150-6	20 % TEC	71,84	70,87	58,10	45,38	45,33	54,08
3-150-7		56,07	50,65	77,48	122,97	54,52	66,66
4-150-6	30 % TEC	71,11	70,35	61,33	75,51	36,03	55,83
4-150-7		104,73	50,79	42,99	34,45	44,61	111,38
5-150-6	10 % TA	31,26	64,29	74,84	59,86	55,52	22,73
5-150-7		47,83	72,90	69,61	62,70	66,28	132,66
6-150-6	20 % TA	65,36	56,71	21,56	93,35	52,20	56,20
6-150-7		63,02	46,61	32,55	60,54	123,01	48,31
7-150-6	30 % TA	46,56	84,08	100,20	46,48	35,25	69,65
7-150-7		50,34	49,93	66,39	41,12	92,75	53,37
8-150-6	20 % TBC	55,22	37,47	56,79	87,93	49,35	72,50
8-150-7		43,56	27,33	53,59	134,95	59,41	32,43
9-150-6	20 % BL	51,37	38,64	45,24	50,23	48,35	32,24
9-150-7		46,32	61,60	76,50	71,69	47,94	39,07
10-150-6	20 % EL	47,10	40,43	35,99	38,35	35,36	32,86
10-150-7		47,16	58,58	44,62	66,37	32,22	90,81
11-150-6	20 % TB	38,76	25,80	87,38	80,57	86,11	49,66
11-150-7		27,77	47,63	91,96	101,66	125,77	46,48
12-150-6	15 % TEC, 15 % BL	35,73	48,51	79,83	51,22	38,15	60,96
12-150-7		53,55	49,69	84,51	54,74	36,29	45,98

Pulzní chování je intenzivně studováno u nedegradabilních gelů. Polyakrylamidové gely se smršťují po záměně destilované vody za mořskou. Doba cyklu bobtnání a odbobtnání byla 4 dny<sup>183</sup>. Rychleji reagovala zesíťená kyselina polyasparagová po změně pH nebo druhu soli, dosáhla podle prezentovaného exponenciálního vztahu rovnováhy za 8 hodin<sup>184</sup>. Reverzibilita procesu bobtnání a odbobtnání a co nejkratší doba cyklu, což jsou

pro praktické aplikace uvedeného chování dvě podmínky, byla u hydrogelů z poly(N-isopropylakrylamidu) zajištěna dvoufázovou polymerizací při různých teplotách<sup>185</sup>. Takto bylo dosaženo zkrácení cyklu z 5 hodin na 1 minutu. Gely reagovaly na zahřátí smrštěním, modifikací molekuly byla nastavena vhodná kritická teplota přechodu kolem 33 °C<sup>186</sup>.

Oscilace objemu změnou pH byla zaznamenána nejen u zesíťovaných struktur, ale také hřebenovitých molekul<sup>187</sup>. Změny vyvolávající děje byly popsány mechanismem reakce podle Zhabotinského<sup>188</sup>. Stejný typ reakce sloužil k popisu chování nového biomimetického gelu složeného ze zesíťovaného poly(N-isopropylakrylamidu) s kovalentně navázaným ruthenium tris(2,2'-bipyridinem). Reversibilní cyklus samooscilujícího gelu trval 5 minut<sup>189</sup>.

### 5.3.2.1 VLIV VELIKOSTI MATRIC

Průběh bobtnání oligoesterových matric ve dvou různých navážkách (150 mg a 300 mg) je na obr. 16 a 17. Při pH média 6,0 se chovají různě velké matrice podobně. Do 3. dne hodnoty stupně bobtnání stoupají, potom následuje pokles. U větších dochází ke slabému růstu hodnot po 21. dnu. Po změně aktuální acidity média z pH 6,0 na pH 7,0 došlo v případě 150 mg matric k poklesu a u 300 mg k nárůstu hodnot charakteristiky při stejném profilu v čase (obr. 17). V případě matric poloviční hmotnosti (150 mg) se při pH 7,0 projevilo za tři dny maximum následované krátkodobým odbobtnáním a další fází bobtnání. U těchto matric se vliv pH média značně měnil s časem. V intervalu 7 dní bylo prokázáno více než dvojnásobné bobtnání při pH média 6,0. Tato skutečnost je překvapivá a v této fázi obtížně vysvětlitelná. Jako pracovní hypotézu je možno vyslovit odlišný vývoj konformačních změn vedoucích k většímu propletení řetězců při pH 7,0. V intervalu 18 až 28 dní byl vliv pH opačný, dvojnásobné bobtnání bylo při pH 7,0, což je podle obecných předpokladů projev zvýšeného stupně ionizace koncových karboxylů. Vyšší stupeň bobtnání se týkal přibližně 20 % zbytku neerodovaného nosiče, ve kterém je možno předpokládat vyšší podíl větvených molekul.

### 5.3.2.2 VLIV KONCENTRACE TRIETHYLCITRÁTU

Po přidání 10 % triethylcitrátu do matric došlo ke změnám v průběhu bobtnání (obr. 18). V pufru pH 6,0 se maximum bobtnání projevilo dříve a v menším rozsahu. Může to být důsledek zvýšené eluce nízkomolekulární frakce s následným snížením vlivu osmotických jevů. Při pH 7,0 se projevilo bobtnání ve dvou maximech, těsně po začátku působení média a kolem 7. dne a ve dvou minimech, kolem 3. a 17. dne. Bobtnání při

různých pH mezi 1. a 3. dnem, 3. a 7. dnem není v relaci s erozí. Rychlejší eroze je doprovázena odbobtnáním, pomalejší zvýšeným bobtnáním. Může se jednat o hysterezi nebo o vliv eluce zbytků plastifikátoru.

Po zvýšení koncentrace plastifikátoru z 10 % na 20 % se průběh bobtnání výrazně změnil. Při pH 7,0 se druhé maximum zvýraznilo a posunulo ze 7. dne na 14. den (obr. 19). Podle průběhu eroze je možno předpokládat dlouhodobější perzistenci plastifikátoru v systému a jeho dlouhodobější solubilizaci nízkomolekulárních fragmentů. Po skončení tohoto jevu může dojít k hromadění osmoticky aktivních malých molekul oligoesterů a jejich zvýšenému osmotickému působení. Ve 14. dni je bobtnání natolik značné (120%), že došlo k difúzi ve vodě rozpustných fragmentů do okolí doprovázené odbobtnáním. Zajímavá je malá odezva degradace při bobtnání v pH 6,0. V intervalu mezi 1. a 28. dnem se stupeň bobtnání pohyboval mezi 45 % a 72 %.

Na obr. 20 je popis chování matric s obsahem 30 % triethylcitrátu. V intervalu 1. dne podle křivek eroze zbyl v systémech ještě triethylcitrát. Vyšší podíl zbyl při pH 6,0, ve kterém byl prokázán nižší stupeň bobtnání. Ten se měnil v undulační křivce se dvěma minimy. Zcela jinak probíhalo bobtnání v pufru pH 7,0. Po počátečním krátkodobém mohutnějším bobtnání došlo ke stejně výraznému odbobtnání ze 105 % na necelou polovinu během dvou dnů. Proces odbobtnání probíhal za pomalejší eroze s nižším podílem triethylcitrátu. Vysvětlení může být v difúzi osmoticky aktivní nízkomolekulární frakce z matric a v následném kolapsu struktury. Až po 15. dnu se vytvoří v málo zbobtnalé matrici (35 %) vyšší koncentrace osmoticky aktivních molekul. Rychlejší eroze ve finální fázi je doprovázena zvýšeným bobtnáním.

### 5.3.2.3 VLIV KONCENTRACE TRIACETINU

O silném vlivu kvality plastifikátoru na bobtnání oligoesterové matrice svědčí změna z 10 % triethylcitrátu (obr. 18) na 10 % triacetin (obr. 21). Triacetin je méně polární. Jeho vliv se projeví pomalejším bobtnáním v iniciální fázi, potom se stupeň bobtnání téměř nemění až do 20. dne. V konečné fázi týkající se eroze 10 % až 15 % zbytku dochází k mohutnému bobtnání při pH 7,0 a odbobtnání při pH 6,0, což je možno vysvětlit ionizací karboxylů.

Také po zvýšení koncentrace triacetinu z 10 % na 20 % se matrice projevovaly v pufrch lišících se aktuální aciditou z hlediska bobtnání odlišně (obr. 22). V prostředí pH 6,0 byla 2 maxima a 2 minima hodnot stupně bobtnání. Přitom průběh eroze v obou médiích byl prakticky stejný. Na obr. 23 je bobtnání matric připravených s 30 %



triacetinem. Největší rozdíl je v časovém úseku mezi 1. a 7. dnem. V matricích s 20 % triacetinem (obr. 22) probíhá odbobtnání, v matricích s 30 % triacetinem (obr. 23) probíhá bobtnání. V matricích obsahujících vyšší podíl plastifikátoru je po 1. dni při pH 6,0 patrně intenzivní bobtnání. Pracovní hypotéza vychází z možného vlivu odlišné konformace molekul ovlivněné různou koncentrací plastifikátoru.

#### **5.3.2.4 VLIV 20 % TRIBUTYLCITRÁTU**

Jako zajímavý výsledek je možno hodnotit velmi obdobný průběh hodnot stupně bobtnání matric obsahujících 20 % tributylcitrát (obr. 24) a 20 % triethylcitrát (obr. 19) při pH 7,0. Solubilizaci nízkomolekulární frakce tributylcitrátem je možno prokázat vyšší erozí po 1. dni a po 3. dni. Tributylcitrát v matricích vedl ke sníženému bobtnání v iniciální fázi, zvláště v pufru pH 7,0. Další fáze zvyšování stupně bobtnání s maximem kolem 14. dne je patrně reakce na zvýšenou koncentraci osmoticky aktivních molekul vzniklých rychlejší erozí při malém stupni bobtnání. Při pH 7,0 probíhalo bobtnání velmi podobně jako v matricích s 20 % triethylcitrátem až do 20. dne, potom byl průběh odlišný patrně v souvislosti s nižší rychlostí eroze v systému s tributylcitrátem.

#### **5.3.2.5 VLIV 20 % BUTYLLAKTÁTU A 20 % ETHYLLAKTÁTU**

Stejně jako u výše popsané dvojice plastifikátorů (triethylcitrát a tributylcitrát) je možno podobné rysy interakcí popsat v homologické dvojici ethyllaktát-butyllaktát. Ethyllaktát je neomezeně mísitelný s vodou, proto se velmi rychle uvolní do okolí. Na obr. 26 je průběh děje zobrazen. Při pH 6,0 se hodnota charakteristiky prakticky neměnila, podobně jako u triethylcitrátu (obr. 19). Při pH 7,0 je v počáteční fázi zvýšené bobtnání doprovázeno rychlejší erozí, odbobtnání naopak pomalejší erozí. Další undulující průběh neprobíhá v relaci s erozí. 20 % butyllaktát (obr. 25) ovlivnil bobtnání matric obdobně. Rozdíly vycházejí především z odlišné eroze. Byl prokázán mohutný účinek butyllaktátu na solubilizaci téměř 20 % frakce nosiče během 1. dne. Zbylý nosič zvyšoval hodnoty charakteristiky postupným bobtnáním. Bobtnání při pH 7,0 bylo vyšší vlivem ionizace karboxylů. Fáze odbobtnání nastala dříve při pH 6,0 než při pH 7,0.

#### **5.3.2.6 VLIV 20 % TRIBUTYRINU**

Další dvojicí homologických esterů jsou triestery glycerolu – triacetin (obr. 22) a tributyrin (obr. 27). Stejně jako u 20 % butyllaktátu (obr. 25) byl u méně polárního tributyrinu prokázán z křivky eroze solubilizační účinek na nízkomolekulární frakci nosiče.

Při pH pufru 6,0 byl typ křivky vyjadřující průběh hodnot stupně bobtnání pro tributyrin a triacetin podobný. Rozdíly jsou v hodnotě primárního maxima kolem 1. dne, v poloze následného minima a maxima a v následné fázi. Rychlejší undulace matric s tributyrinem při pH 6,0 měla za následek dosažení tří maxim stupně bobtnání – těsně po začátku, kolem 7. a 20. dne. Při pH 7,0 hodnoty stupně bobtnání monotónně rostly od 30 % po 1. dnu, až po maximum kolem 20. dne. Rozdíl v chování je patrně způsoben polaritou nosiče, výrazné odbobtnání po 20. dnu může být způsobeno zvýšeným bobtnáním a difúzí frakce osmoticky aktivních molekul, což koresponduje s vyšší rychlostí eroze. Je možno shrnout, že vliv plastifikátorů použitých ve 20 % koncentraci v oligoesteru je dán nejen jejich polaritou, ale také typem jejich struktury. Typ plastifikátoru a jeho koncentrace ovlivní bobtnání matric v iniciální fázi. Historie systému v jeho iniciální fázi má vliv na další průběh děje. Na něm se může podílet míra větvení molekul, podíl větvených a lineárních struktur, koncentrace nízkomolekulární osmoticky aktivní frakce a také strukturální typ plastifikátoru.

#### 5.3.2.7 VLIV 30 % SMĚSI DVOU PLASTIFIKÁTORŮ

Interakce nosiče plastifikovaného směsí 15 % triethylcitrátu a 15 % butyllaktátu s roztoky pufrů z hlediska jejich bobtnání je na obr. 28. Zajímavé je, že v tomto případě se neprojevil vliv pH. Další zajímavostí je podobnost průběhu bobtnání s matricemi plastifikovanými tributylcitrátem ve smyslu jednoho výrazného maxima. Toto maximum se však projevilo přibližně za poloviční dobu, kolem 7. dne. Zajímavá je také finální fáze bobtnání, která může mít příčinu ve zvýšení podílu větvených struktur nebo v hromadění osmoticky aktivních nízkomolekulárních produktů hydrolytického štěpení.

#### 5.3.2.8 SHRNUÍ STUDIA BOBTNÁNÍ

Systematické studium nerovnovážného bobtnání biodegradabilních polymerů je náročné, informace jsou vzácné a útržkovité. Komplikujícím faktorem studia bobtnání matric daného složení je především současná eroze, která může mít podobný průběh jako bobtnání<sup>190</sup> nebo může probíhat zcela odlišně od eroze, např. tak, že kontinuální bobtnání nekopíruje diskontinuální erozi<sup>166</sup>. Za této podmínky je dosažení stavu rovnovážného bobtnání nedosažitelné. U gelů degradujících malou rychlostí, jako jsou chitosanové, byla ireverzibilita bobtnání způsobena přeskupováním hydrofobních vazeb<sup>191</sup>. Bylo studováno bobtnání kopolymeru kyseliny mléčné a glykolové plastifikovaného PEG, využitého pro obalování kovových stentů. Plastifikátor mírně zvyšoval stupeň bobtnání<sup>192</sup>.

Průběh bobtnání polymerního a gelového tělesa je popisován ve dvou diametrálně odlišných typech – jednak klasicky jako progresivní bobtnání do dosažení rovnovážného stavu, jednak jeho oscilační průběh v nekonečném počtu period bobtnání a odbobtnání. Při rovnovážném bobtnání je kinetika děje pokládána za podružnou, hlavní je konečný stav, který bývá prezentován jako např. bobtnací index, stupeň bobtnání, kapacity vychytávání rozpouštědla, v odbobtnalém stavu jako retence rozpouštědla<sup>193</sup>. Kinetika bobtnání je dána i tvarem tělesa, gely z poly(N-isopropylakrylamidu) tvaru válečku bobtnaly podle vztahu:  $s = k \cdot t^{1/2}$ <sup>194</sup>. Průběh hodnot vychytávání vody roubovaného kopolymeru polyvinylalkoholu (PVA) a kyseliny mléčné a glykolové (PLGA) měl po celou dobu 14-ti denního experimentu stoupající tendenci až do 60 %, resp. 90 %<sup>171</sup>, totéž platí pro bobtnání lineárního kopolymeru kyseliny DL-mléčné s kyselinou glykolovou (PDLLGA)<sup>166</sup>. Tablety z nízkomolekulární ( $M_w$  2600) kyseliny poly(DL-mléčné) připravené polykondenzací zbobtnaly na 340 % původní suché hmotnosti za 20 dní, potom byl zaznamenán pokles hodnot do prakticky nulové na konci experimentu. Pokus trval 45 dní, v této fázi zbývalo přibližně 30 % neerodovaného materiálu. Autoři vysvětlují fázi bobtnání a odbobtnání degradací oligomeru<sup>195</sup>.

## 5.4 LIBERACE KYSELINY LISTOVÉ

Jedním z cílů formulačních zásahů do struktury lékové formy je modulace uvolňování léčiva. Jedná se především o prolongaci, méně často se využívá pulzní průběh nebo retardace. Liberace je děj, který může mít mechanismus složený z řady jevů, potom je podmíněný řadou vlivů. Vždy se jedná o difúzi v různých podobách, může se jednat také o rozpouštění, desorpci, obstrukční jevy, rozdělování nebo i o fyzikální, chemický nebo biologický impulz. Difúze molekul nebo iontů léčiva závisí na viskozitě kontinua, může být podmíněna nebo facilitována procesem bobtnání. Liberace z biodegradabilních systémů je podstatně ovlivněna procesem eroze. Liberaci je možno ovlivnit volbou parametrů nosiče, skladbou aditiv a možnostmi modifikace léčiva. Z těchto tří možností, včetně optimalizace výrobních postupů a způsobu aplikace, plyne velký počet možností pro rozhodovací proces formulátora, tedy farmaceutického technologa.

Plastifikování implantabilních přípravků je opatření, které vede ke snadnější aplikaci méně viskózních systémů injekční jehlou. Proces může mít vliv na průběh liberace léčiva. Vhodný plastifikátor použitý ve vhodné koncentraci v dostatečné míře sníží viskozitu, ovlivní degradační procesy a interakce s léčivem buď v minimálním rozsahu nebo

požadovaným způsobem. Součástí rozhodování o vhodném plastifikátoru je jeho biokompatibilita.

Kyselina listová byla zvolena jako modelová substance z několika důvodů. Jedním z nich byla její střední molekulová hmotnost, dalším byl amfoterní charakter sloučeniny. Kyselina listová v pokusech *in vitro* dobře reprezentuje priotinádorovou látku methotrexat, který je strukturně velmi podobný.

Při liberaci, neboli přenosu léčiv ze studovaných systémů se jedná o řadu jevů, z nichž je možno vyjmenovat: 1) penetraci vody do systému, 2) rozpouštění léčiva a s ním spojené strukturální jevy, 3) rozpouštění nebo degradaci nosiče tvořícího matrix, 4) změny aktuální acidity, 5) difúze léčiva, 6) osmotické jevy, 7) konvekce penetrantu, 8) adsorpční a desorpční jevy<sup>196</sup>.

Existují různé parametry liberace, jako jsou podíl látky liberovaný za určitou dobu (lékopisný přístup) nebo doba, za kterou se uvolní určitý podíl léčiva, efektivita disoluce, různé indexy a parametry<sup>197</sup>. Matematické modelování fyzikálního transportu hmoty bylo řešeno v mnoha podmínkách a souvislostech. Jednou z cest je komplexní přístup k teoretickému popisu dějů, druhou zjednodušený přístup, jehož výhodou je větší šíře použitelnosti. Mezi empirické a semiempirické matematické modely liberace léčiv je dosazování vztahů pro kinetiku chemických reakcí. Vztahy pro kinetiku nultého, prvního nebo druhého řádu mohou vystihovat průběh uvolňování, Weibullova nebo Baker-Lonsdalleova funkce mohou dobře vystihovat průběh děje<sup>198,197</sup>. Pro dané vztahy je možnost grafického řešení<sup>199</sup>. Existuje řada prací, v nichž je hledána shoda s nevhodnějším modelem, např. matrice z lisovaného methylmetakrylátu byly testovány na liberaci theofylinu a průběh děje byl hodnocen z hlediska různých modelů<sup>200</sup>.

Při liberaci léčiv obvykle dochází současně k bobtnání systému. Průběh uvolňování za těchto podmínek je nejčastěji charakterizován pomocí jednoduché semiempirické exponenciální rovnice  $M_t/M_\infty = K \cdot t^n$  uvedené v monografii Cranka<sup>201</sup>, kterou pro bobtnající matrice odvodili Korsmeyer a Peppas<sup>202</sup> a v mnoha dalších pracích aplikoval a rozvinul z různých aspektů konkrétních systémů s uvolňováním léčiv Peppas<sup>203</sup>. Levá strana rovnice vyjadřuje podíl uvolněného léčiva, na pravé jsou čas  $t$  a dva koeficienty, z nichž  $K$  je konstanta zahrnující strukturální a geometrické charakteristiky systému,  $n$  je mocninný koeficient nazývaný „exponent liberace“, který podle Peppase vyjadřuje v souvislosti s tvarem tělesa mechanismus liberace. Pokud je hodnota  $n$  mezi 0,43 a 0,50, potom je liberace řízena pouze difúzí a řídí se druhým Fickovým zákonem. Bývá také nazývána jako Fickovská difúze nebo transport Case-I<sup>203</sup>. Kinetika se takto shoduje s průběhem známého

zákonu druhé odmocniny času podle Higuchiho<sup>204</sup>. Pokud bobtnání matrice je tak intenzivní, že difúze je zanedbatelná, potom se hodnota  $n$  těsně blíží 1 a hovoříme o tzv. Case-II transportu. Liberace probíhá podle známé kinetiky 0. řádu<sup>205,206</sup>. Případy, kdy je nalezena hodnota  $n$  mezi oběma limity jsou četné a znamenají, že mechanismus liberace je dán tzv. anomálním transportem při současné difúzi a konvekci systému. Byl odvozen dvouparametrový vztah zahrnující dvě rychlostní konstanty složky difúzní ( $k_d$ ) a relaxační ( $k_r$ ) v jedné rovnici:  $M_t/M_\infty = k_d t^n + k_r t^{2n}$ <sup>207</sup>.

Biodegradabilní nosiče nejen bobtnají, ale dochází zároveň i k jejich degradaci. Důsledkem je posun rovnováhy. Válečky z PLGA měly pro daný systém typickou třífázovou liberaci s iniciálním burstem, potom následovala sekundární fáze pomalé liberace v trvání tří týdnů. Poslední fáze rychlé liberace byla podmíněna erozí nosiče<sup>208</sup>. O silném vlivu koncentrace léčiva v biodegradabilních nosičích na iniciální fázi liberace svědčí liberace 5-fluorouridinu z filmů PLGA<sup>209</sup>. Léčivo inkorporované v 3 % koncentraci mělo týdenní lag-time, jednodenní burst byl u matric s 9 % léčivem přibližně 30 %. Byla hledána míra shody profilů liberace progesteronu z mikroporézních matric z poly( $\epsilon$ -kaprolaktonu) s kinetikou podle nultého řádu, podle druhé odmocniny času a podle vztahu Korsmeyera a Peppase<sup>210</sup>. Obdobně byla zaměřena práce srovnávající liberační profily buserelinu z implantátů *in vitro* a *in vivo*<sup>211</sup>. Modelování uvolňování léčiv z biodegradabilních systémů dané mechanismem difúze, bobtnání a eroze je věnováno mnoho prací, klasický vztah platný pro různé tvary matric odvodil Hopfenberg:  $M_t/M_\infty = 1 - (1 - k_0 t / c_0 a)^n$ , ve kterém  $a$  je rozměrový parametr,  $n$  je tvarový faktor,  $k_0$  je rychlostní konstanta eroze. Vztah je platný pro povrchovou erozi matric<sup>212,197</sup>.

Při liberaci z biodegradabilních matric s nízkými hodnotami teploty skelného přechodu se mění velikost erodujícího tělesa nepravidelně. Dalšími komplikujícími faktory jsou změny tvaru matric a jejich bobtnání. Byla demonstrována důležitost faktoru osmotického tlaku uvnitř matric z nízkomolekulárního kopolymeru  $\epsilon$ -kaprolaktonu a trimethylenkarbonátu regulovaného trehalosou pro liberaci vitamínu B<sub>12</sub><sup>213</sup>. Rozpustnost různých modelových léčiv, bobtnání a eroze matric z nízkomolekulární PDLA byly proměnné, které byly ovlivněny hodnotou pH okolního média<sup>214</sup>. Byla využita rovnice podle Gallaghery a Corriganova řešící frakci léčiva uvolněnou difúzí a frakci uvolněnou degradací matrice. Fentanyl z výlisků z nízkomolekulární PLGA se uvolňoval převážně difúzí s příspěvkem bobtnání a eroze<sup>215</sup>.

Byl odvozen vztah popisující liberaci aklarubicinu z mikrosfér připravených z oligomerů kyseliny DL-mléčné různé molekulové hmotnosti<sup>216</sup>. V počáteční fázi

probíhala liberace podle Fickovské difúze, hodnota koeficientu klesala s časem. Liberace testosteronu byla silně ovlivněna snížením teploty skelného přechodu nízkomolekulární PLGA plastifikačním vlivem vody<sup>217</sup>.

Liberace léčiv z perorálních hydrofilních matric probíhá po počátečním burstu současnou difúzí a bobtnáním, v pozdějších fázích nastupuje eroze. Významný úsek je možno popsat rovnicí podle Korsmeyera a Peppase<sup>218</sup>. Pro vakcinaci byly vyvinuty implantáty tvaru minitabliet uvolňující aktivní látku v pulzech daných zpočátku bobtnáním a ve finální fázi erozí<sup>219</sup>.

Liberace metronidazolu z perorálních tableti z xantanové klovatiny probíhala nefickovským transportem, u tableti obalených enterosolventním polyakrylátem určených k targetingu do tlustého střeva probíhala liberace metronidazolu podle mechanismu Super Case II<sup>220</sup>. Super Case II průběh byl u alginátových tableti dán jejich bobtnáním a erozí. Tyto jevy, včetně plastifikace polymeru, byly ovlivněny aktuální aciditou média a přítomností solí v něm<sup>221</sup>. Perorální přípravky s teofylinem vyrobené extruzí taveniny polymetakrylátu s příměsí HPMC nebo karbopolu a TEC uvolňovaly léčivo za přispění bobtnání do rovnováhy a kontinuální eroze. Exponent  $n$  v rovnici podle Korsmeyera a Peppase měl u jednotlivých formulací v 0,1N HCl hodnoty 0,47 až 0,55 a ve fosfátovém pufru pH 6,8 měl hodnoty mezi 0,60 a 0,84. Při tvaru tělísek válce korelovala hodnota  $n = 0,84$  s kinetikou nultého řádu velmi těsně ( $r^2 = 0,984-0,992$ )<sup>222</sup>.

#### 5.4.1 LIBERACE Z FILMŮ

Filmy s 2 % nebo 10 % kyseliny listové o tloušťce 600-650  $\mu\text{m}$  byly připraveny dispergací kyseliny listové v roztoku polymeru a přelitím roztoku oligoesteru s dispergovanou kyselinou listovou do teflonové misky. Kyselina listová se v roztoku nosiče nerozpouštěla. Pro dostatečnou homogenizaci kyseliny listové bylo nutno roztok polymeru s dispergovanou kyselinou listovou důkladně promíchat. Ve světelném mikroskopu bylo ověřeno, že kyselina listová je dispergována ve formě částic. Její rozpustnost ve vodě je při 20 °C 8,5 g ve 100 g rozpouštědla a mění se s hodnotou pH<sup>223</sup>. Podle Moffata disociuje při 30 °C ve třech stupních s hodnotami pKa 4,7, 6,8 a 9,0<sup>224</sup>, novější informace uvádí dvě hodnoty pKa – 2,3 a 8,3<sup>223</sup>. Hodnota izoelektrického bodu nebyla nalezena, u analogického methotrexatu se uvádí pI 4,7<sup>225</sup>. Komerčně dostupné injekce s kyselinou listovou obsahují sodnou sůl a mají pH mezi 8 a 11<sup>226</sup>. Jsou citlivé na vyšší teplotu a světlo.

Liberace 2 % kyseliny listové z filmů připravených z oligoesteru 73 do médií lišících se aktuální aciditou je na obr. 29. V počáteční jednodenní fázi nejrychleji probíhala při pH média 7,0. Burst efekt představoval asi 50 % uvolněného léčiva, potom se děj zastavil. V tomto médiu nosič nejvíce bobtnal na základě ionizace koncových karboxylů, zvyšovala se také ionizace karboxylů kyseliny listové. Nejnižší rychlost liberace byla při pH 6,0, vyšší překvapivě při pH 5,5. Vysvětlit relaci je možno kombinací jevů ionizace aminoskupin molekuly léčiva, vaznosti na nosič a rozpustnosti v kapalně fázi nosiče a okolního média. Po hydrofilizaci systému smísením nosiče 73 s nosičem 71 (obr. 30) se při pH média 7,0 burst projevil v téměř stejném rozsahu jako u filmu z nosiče 73. Po následné dvoudenní fázi plató liberace pokračovala. Při pH média 6,0 byl burst přibližně poloviční, při pH 5,5 se projevil lag-time, v další fázi probíhala liberace poměrně rychle. Při nižší rozpustnosti kyseliny listové a nižším bobtnání nosiče je možno vyšší rychlost liberace vysvětlit její nižší vazností na nosič nebo na jeho degradační produkty.

Po zvýšení koncentrace kyseliny listové ve filmech na 10 % se vliv pH média projevil velmi odlišně. Na obr. 31 je možno pozorovat u filmů z nosiče 73 nejrychlejší liberaci při pH média 5,5 a značně pomalejší při pH 6,0 a 7,0. Při těchto podmínkách byla hlavním mechanismem liberace eroze. Prakticky stejný průběh liberace v různých médiích byl prokázán také u filmů ze směsi nosičů 73 a 71 (obr. 32).

Po ukončení pokusů zbyla ve filmech velká část léčiva. Je možno očekávat, že se bude uvolňovat erozí nosiče. Velká citlivost liberace kyseliny listové z filmů ke změnám v koncentraci léčiva a ke složení média a vyšší náročnost aplikace jsou nevýhody této lékové formy.

#### **5.4.2 LIBERACE Z OLIGOESTEROVÝCH REOTROPNÍCH PLASTIFIKOVANÝCH MATRIC**

Reotropní matrice byly připraveny mísením nosiče označeného číslem 75 s kyselinou listovou a plastifikátorem. Tento oligoester měl nižší hodnotu teploty skelného přechodu, hodnota  $T_g$  se výrazně snížila po přidání plastifikátoru<sup>227</sup>. Protože oligoester 75 obsahoval mannitol ve vyšší (5 %) koncentraci, byl také více hydrofilní. Byly testovány matrice tří velikostí o hmotnostech od 50 mg do 300 mg, odpovídající reálným možnostem pro aplikaci do svalů nebo podkoží. Hodnoty pH média 6,0 a 7,0 odpovídají fyziologickým nebo patofyziologickým hodnotám biologické tkáně. Hodnoty poločasu liberace a

mocninného koeficientu stanoveného ve vymezených intervalech jsou přehledně shrnuty v Tab. 109.

**Tab. 109: Hodnoty poločasu liberace a mocninného koeficientu rovnice podle Korsmeyera a Peppase různých matric.**

Vzorek	Aditivum	$t_{1/2}$ (dny)	n	Interval (dny)
1-50-6	10 % BL	2,23	1,2448	0,20-4
1-50-7		1,65	1,0789	0,20-4
1-150-6	10 % BL	2,01	1,2482	0,20-5
1-150-7		1,95	1,1521	0,20-5
1-300-6	10 % BL	2,85	1,3927	0,20-5
1-300-7		1,66	0,9948	0,20-5
2-50-6	20 % BL	0,30	1,2963	0,04-0,20
2-50-7		0,36	1,4971	0,04-0,20
2-150-6	20 % BL	0,98	0,6536	0,04-3
2-150-7		0,68	0,7261	0,04-3
2-300-6	20 % BL	1,58	0,7734	0,04-3
2-300-7		0,71	0,8465	0,04-3
3-50-6	30 % BL	0,15	1,0723	0,04-0,3
3-50-7		0,22	0,9687	0,04-0,3
3-150-6	30 % BL	0,20	0,8886	0,04-0,3
3-150-7		0,19	0,9861	0,04-0,3
3-300-6	30 % BL	0,17	1,3804	0,04-0,3
3-300-7		0,14	0,9676	0,04-0,3
4-50-6	15 % TEC, 15 % BL	0,18	1,1383	0,04-0,3
4-50-7		0,19	1,2999	0,04-0,3
4-150-6	15 % TEC, 15 % BL	0,22	1,0044	0,04-2
4-150-7		0,21	0,9862	0,04-2
4-300-6	15 % TEC, 15 % BL	0,48	1,0619	0,04-2
4-300-7		0,20	1,9631	0,04-0,3
5-150-6	20 % TEC	3,40	0,8299	0,25-6
5-150-7		1,56	0,4610	0,25-6
6-150-6	20 % TA	0	0,5689	0,20-4
6-150-7		0	0,2854	0,20-4
7-150-6	20 % EL	1,37	0,5821	0,25-6
7-150-7		3,13	0,4438	0,25-6

$t_{1/2}$  ..... poločas liberace odečtený z grafu

Na obr. 33 až 35 je liberace z matric různé hmotnosti plastifikovaných 10 % butyllaktátem. Jako zajímavý lze označit poznatek o velmi malém vlivu hmotnosti matric na rychlost liberace kyseliny listové. Poločas liberace byl přibližně dva dny. Liberace probíhala kontinuálně, odchylka od kinetiky nultého řádu byla malá. Výjimkou je liberace z největších matric (300 mg) do pufru pH 7,0 (obr 35). V tomto případě se jednalo o hodnotu exponentu 1. řádu. Vyšší rychlost liberace při pH 7,0 v počáteční fázi souvisí



patrně s vyšším stupněm bobtnání. U matric hmotnosti 150 mg (obr. 34) se změna pH média neprojevila vůbec.

Stejně matrice lišící se od výše popsaných dvojnásobnou koncentrací butyllaktátu (20 %) měly vyšší rychlost uvolňování kyseliny listové. Jednodenní burst byl přibližně mezi 40 % a 60 %. Vliv velikosti matrice byl značný. Projevil se silou účinku pH média, která byla nulová u 50 mg (obr. 36) a největší u 300 mg matric (obr. 38). S velikostí matric se také postupně zvyšovala fázovost procesu liberace. Z nejmenších probíhala liberace ve dvou výrazně odlišných fázích – počáteční rychlé (burst) a následné pomalé. Po dalším zvýšení koncentrace butyllaktátu v matricích na 30 % došlo k dalšímu zvýšení rychlosti liberace kyseliny listové (obr. 39, 40, 41). Polovina léčiva se uvolnila za několik hodin. Vliv pH byl velmi malý, na rozdíl od matric s 20 % plastifikátorem se projevil více u menších matric.

Po smísení butyllaktátu se stejným dílem triethylcitrátu byl připraven plastifikátor, který byl použit k přípravě matric s kyselinou listovou. Průběh jejího uvolňování z matric tří různých velikostí obsahujících 30 % plastifikátor je na obr. 42 až 44. Stejně tak jako u matric plastifikovaných 30 % butyllaktátem (obr. 39 až 41) byla liberace velmi rychlá, poločas se pohyboval v řádu několika hodin. Odlišnost byla v nižší rychlosti v počáteční fázi, takže výsledkem byl sigmoidní průběh děje. Ten byl nejvýraznější u největších matric (obr. 44). Se zvětšující se hmotností matric se více projevoval vliv změny pH. U největších matric byl při pH 7,0 výraznější burst efekt. Přibližně za 5 hodin se uvolnila polovina kyseliny listové. Rychlejší uvolňování léčiva u 50 mg a 150 mg matric ve střední fázi děje je způsobeno kratší difúzní dráhou molekul léčiva.

Na obr. 47 je průběh liberace kyseliny listové z matric o hmotnosti 150 mg s 20 % ethyllaktátem. Kyselina listová se uvolňovala kontinuálně po dobu kratší než jeden týden. Rychlost byla v intervalu mezi 12. a 24. hodinou značně vyšší při pH 6,0. Pozoruhodný je opačný vliv pH média po záměně plastifikátoru ethyllaktátu za triethylcitrát (obr. 45) nebo za triacetin (obr. 46). Příčina může být v bobtnání, rychlosti přestupu plastifikátoru, vaznosti. Matrice s triacetinem byly sledovány po dobu 32 dní. Bylo prokázáno, že po první pětidenní fázi rychlé liberace následuje druhá s podstatně nižší rychlostí.

V tabulce 109 jsou uvedeny hodnoty poločasu liberace, mocninného koeficientu rovnice podle Korsmeyera a Peppase a časový interval liberace při platnosti tohoto koeficientu. Vyšší hodnoty poločasu liberace byly zaznamenány v případě vzorků s nižší koncentrací plastifikátoru, zvláště s hydrofobním butyllaktátem. Platnost mocninného koeficientu je omezena na počáteční fázi liberace. Jako pozoruhodný výsledek je možno

uvést mechanismus fickovské difúze kyseliny listové z matric plastifikovaných 20 % triethylcitrátem, 20 % triacetinem a 20 % ethyllaktátem v médiu pH 7,0. Při pH 6,0 byl transport iontů kyseliny listové z matric do kapalného média ovlivněn do větší míry konvekcí média. Míra konvekce byla zvláště vysoká při liberaci z matric plastifikovaných butyllaktátem. V těchto případech je možno mechanismus liberace řadit do kategorie Super Case II Effect, což znamená nejen silnou konvektivní složku liberace, ale také vliv eroze matric.

### 5.4.3 LIBERACE Z OLIGOESTEROVÝCH ZESÍTĚNÝCH MATRIC

Polyethyleniminy (PEI) jsou jednou z možností, jak získat systémy s kladným nábojem výhodným pro kinetiku liberace některých léčiv. Kationické systémy jsou využívány při formulaci částicových systémů určených k transfekci genetického materiálu do buněk. Smyslem formulace matric bylo studovat vliv změny struktury matric po přidání polyethyleniminů na liberaci kyseliny listové. Bylo možno předpokládat, že sloučeniny budou mít síťovací účinek mechanismem spojování koncových karboxylů. Systém by mohl sloužit jako modelový pro formulaci částicových systémů. Některé z poznatků by mohly být využitelné pro prolongaci liberace z mikročástic nebo nanočástic nebo pro modifikaci jejich povrchových vlastností. Hodnoty poločasu liberace a mocninného koeficientu stanoveného ve vymezených intervalech jsou přehledně shrnuty v Tab. 110.

**Tab. 110a: Hodnoty poločasu liberace a mocninného koeficientu rovnice podle Korsmeyera a Peppase různých matric.**

Vzorek	Aditivum	$t_{1/2}$ (dny)	n	Interval (dny)
8-50-6	3 % PEI-1	2,25	0,8607	0,25-5
8-50-7		1,94	1,0394	0,25-3
8-150-6	3 % PEI-1	3,88	1,1061	0,25-6
8-150-7		2,72	1,1367	0,25-5
8-300-6	3 % PEI-1	6,25	0,9687	0,25-14
8-300-7		3,54	1,1275	0,25-6
9-50-6	3 % PEI-2	2,15	0,8433	0,25-5
9-50-7		1,77	1,0800	0,25-3
9-150-6	3 % PEI-2	3,60	0,9077	0,25-6
9-150-7		2,59	1,0758	0,25-5
9-300-6	3 % PEI-2	5,58	1,0251	0,25-6
9-300-7		3,23	1,1374	0,25-6

$t_{1/2}$  ..... poločas liberace odečtený z grafu

**Tab. 110b: Hodnoty poločasu liberace a mocninného koeficientu rovnice podle Korsmeyera a Peppase různých matric.**

Vzorek	Aditivum	$t_{\%1}$ (dny)	n	Interval (dny)
10-50-6	3 % PEI-3	7,50	1,1341	1,0-16
10-50-7		5,25	1,5407	1,0-8
10-150-6	3 % PEI-3	8,06	1,2464	1,0-16
10-150-7		6,17	1,3677	1,0-16
10-300-6	3 % PEI-3	10,21	1,1915	1,0-26
10-300-7		7,73	1,4086	1,0-16
11-50-6	3 % PEI-4	3,73	0,4386	1,0-58
11-50-7		2,18	0,5339	1,0-8
11-150-6	3 % PEI-4	4,98	0,5636	1,0-16
11-150-7		2,73	0,6495	1,0-8
11-300-6	3 % PEI-4	8,00	0,6206	1,0-26
11-300-7		4,18	0,9619	1,0-8
12-50-6	3 % PEI-5	2,03	0,7518	1,0-6
12-50-7		1,35	0,8788	1,0-3
12-150-6	3 % PEI-5	4,00	0,7970	1,0-6
12-150-7		2,15	1,0679	1,0-4
12-300-6	3 % PEI-5	5,51	0,8613	1,0-6
12-300-7		3,38	1,0500	1,0-6

$t_{\%1}$  ..... poločas liberace odečtený z grafu

Na obr. 48 je liberace kyseliny listové z 50 mg matric obsahujících 3 % PEI-1 (50 % hm. roztok ve vodě,  $M_n$  60000 (GPC),  $M_w$  750000 (LS)). Uvolňování léčiva probíhalo ve dvou fázích, první rychlé a druhé velmi pomalé. Vliv pH se projevil rychlejším procesem mezi 2. a 4. dnem při pH média 7,0. Na obr. 49 je liberace z matric o hmotnosti 150 mg. Vliv změny pH média z 6,0 na 7,0 se projevil výrazněji než u menších matric. Poločas liberace byl delší. Ve stejné tendenci se změnilo liberační chování matric o hmotnosti 300 mg (obr. 50). To znamená, že se rychlost snížila, zvláště při pH 6,0. Ve srovnání s plastifikovanými matricemi je cenná jednak prolongace liberace, jednak její kontinuální průběh, blížíci se kinetice nultého řádu. Použití síťovacího efektu PEI se projevilo jako účinné formulační opatření.

Naprosto stejným účinkem na uvolňování kyseliny listové se projevil PEI-2 (50 % hm. roztok ve vodě,  $M_r$  600000-1000000). Jak je dokumentováno v tabulce 100 a na obr. 51, 52 a 53, po přidání PEI-2 se změny pH média a velikosti tělísek, včetně interakce těchto vlivů, projevíly naprosto totožně jako po přidání PEI-1.

PEI-3 (80 % ethoxylovaný, 37 % hm. roztok ve vodě,  $M_w$  50000) přidáný v 3 % koncentraci do matric ovlivnil liberaci kyseliny listové ve větším rozsahu (obr. 54 až 56). Vliv změny pH média z 6,0 na 7,0 byl u matric větších rozměrů méně silný. Prolongace

liberace však byla výraznější, poločas děje se zvýšil zvláště při pH média 7,0 ze 2 až 3,5 dne na 5 až 6 dní. Proces byl dvoufázový, v první fázi se uvolnilo 90 % a více léčiva. Tato fáze měla nejkratší dobu trvání 10 dní u 50 mg matric v médiu o pH 7,0, nejdelší doba této fáze byla přibližně 25 dní a týkala se 300 mg matric při pH média 6,0.

Vliv PEI-4 (bezvodý, zakončený ethylendiaminem,  $M_n$  600 (GPC),  $M_w$  800 (LS)) na liberaci byl odlišný z hlediska rychlejší liberace v iniciálním stádiu (obr. 57 až 59). Jednodenní burst byl největší u nejmenších matric, při pH média 6,0 byl necelých 20 % a při pH 7,0 přesahoval 30 %. Se zvětšováním matric se snižoval, u 300 mg byl těsně nad 10 %. Rychlá liberace kontinuálně pokračovala 10 až 30 dní, po 40. dni u všech vzorků liberace neprobíhala.

Po použití 3 % PEI-5 (bezvodý, větvený,  $M_n$  10000 (GPC),  $M_w$  25000 (LS)) byly dosaženy liberační profily podobné jako při použití PEI-1 a PEI-2. Jak je možno posoudit z obr. 60 až 62, odlišná je vyšší počáteční rychlost liberace. Také vliv změny pH byl o něco menší, zvláště u největších 300 mg matric. Průběh liberace byl výrazně dvoufázový, v první fázi rychlého děje se uvolnil většinový podíl léčiva. Ten se snižoval od téměř 100 % u 50 mg matric a pH 7,0 na přibližně 65 % u 300 mg matric a pH 6,0.

V tabulce 110 jsou uvedeny hodnoty poločasu liberace, mocninného koeficientu rovnice podle Korsmeyera a Peppase a interval platnosti tohoto koeficientu pro matrice zesítené různými polyethyleniminy. Ve srovnání poločasů liberace s poločasy uvedenými pro nezesítené matrice v tabulce 109 jsou patrné značně vyšší hodnoty poločasu liberace. Platnost semiempirické mocninné rovnice byla v případě zesítených matric pro podstatně delší intervaly. Nízký podíl konvektivní složky s hlavním mechanismem liberace v difúzi byl prokázán u matric s nízkomolekulárním polyethyleniminem označeným PEI-4. Tato látka byla velmi účinná z hlediska spojování koncových karboxylů nosiče. Vysoký stupeň zesítení se uplatnil při nízkém bobtnání matric. Opačný efekt byl pozorován po přidání 3% ethoxylovaného polyethyleniminu označeného PEI-3. Makrogolový blok tohoto diblokového kopolymeru hydrofilizoval systém. Není vyloučeno stérické bránění síťovacího efektu polyiminového bloku na strukturu oligoesteru makrogolovým blokem. Hodnoty mocninného koeficientu  $n$  podstatně vyšší než 1,00 napovídají o mohutném bobtnání systému a jeho rychlé erozi. Aditiva označená PEI-1 a PEI-2 měla podobné parametry molekulové hmotnosti. Jejich vliv na liberaci kyseliny listové byl velmi podobný, byl dosažen mechanismus označovaný jako Case-II Effect, projevující se dějem popisovaným také kinetikou chemických reakcí podle nultého řádu. Tato kinetika je v mnoha situacích pokládána jako velmi výhodná pro konstantní rychlost děje.

## 5.5 RELACE MEZI VLASTNOSTMI SYSTÉMŮ

V tabulkách 104 - 110 jsou uvedeny zvolené základní parametry, které reprezentují vlastnosti vybraných plastifikovaných systémů - jejich dynamická viskozita, stupeň bobtnání, parametr poločasu eroze a parametr poločasu liberace.

Z tabulek je zřejmé, že mezi viskozitou a bobtnáním nebo erozí není jednoznačný vztah. Neplastifikované matrice s extrémními hodnotami viskozity mají nejdelší poločasy eroze, ale velmi málo bobtnají. Pro více viskózní matrice v daném souboru vzorků platí, že mají delší poločas liberace.

Bobtnání a eroze jsou jevy, které mají malou souvislost nejen s viskozitou, ale i s ostatními vlastnostmi.

## 6. ZÁVĚRY

### 6.1 OBECNÉ

Oligoester alifatických hydroxykyselin větvený na 5 % šestisytémém alkoholu mannitolu je vhodným nosičem biodegradabilních injekčně implantovatelných systémů. Tyto systémy je možno plastifikovat různými semipolárními estery. Sníží se tak viskozita a zlepši se jejich aplikovatelnost injekční jehlou. Zvýšení teploty systémů je další opatření vedoucí ke snadnější aplikaci. Do systémů je možno jednoduchým a nenáročným způsobem inkorporovat léčivo s možností prolongace jeho uvolňování.

### 6.2 K VISKOZITĚ SYSTÉMŮ

Nízkomolekulární terpolymer ekvimolární směsi kyselin DL-mléčné, glykolové a 5 % mannitolu je mísitelný se semipolárními kapalnými estery kyseliny mléčné, citronové a glycerolu. Na základě viskozimetrických měření je možno tyto plastifikátory seřadit podle stoupající termodynamické kvality rozpouštědel do následující řady: ethyllaktát < butyllaktát < tributyrin, triacetin < triethylcitrát < tributylcitrát. Plastifikované systémy se chovají většinou jako newtonovské kapaliny, výjimkou je systém s tributylcitrátem, který má výrazně pseudoplastický tok a systémy s laktáty, které mají slabou tendenci k dilatantnímu toku. Směsi plastifikátorů mají aditivní vliv na viskozitu. Systémy s 30 % laktáty a jejich směsí je možno aplikovat již při teplotě 37 °C, ale je nutno vyvinout při injekční aplikaci větší tlak. Systémy s jinými plastifikátory je nutno zahřát na vyšší teplotu.

Po zahřátí systémů z 37 °C na 45 °C se sníží viskozita přibližně třikrát, po dalším zahřátí na 53 °C dojde k dalšímu snížení viskozity. Všechny zkoumané systémy se chovají jako arrheniovské kapaliny. To znamená, že v teplotním rozmezí mezi 37 °C a 53 °C nedochází k výrazným změnám struktury plastifikovaných polymerů. Při těsné korelaci s modelem podle Arrheniova vztahu je možno hodnotu aktivační energie viskózního toku chápat jako entalpickou složku systému a srážkovou konstantu jako entropickou složku. Mezi těmito složkami byla v celém zkoumaném souboru dat prokázána těsná korelace prokazující snahu systému udržet se ve stabilním stavu a mít minimální hodnotu vnitřní energie.

## 6.3 K EROZI SYSTÉMŮ

Plastifikovaný terpolymer v prostředí pufrů bez enzymu podléhá hydrolyze a eroduje. Pozitivními jevy těsně po interakci materiálu s kapalným médiem jsou jednak převažující mechanismus heterogenní eroze a jednak velmi rychlý nástup eroze. Eroze má ve většině systémů kontinuální charakter a probíhá podle kinetiky prvního řádu.

Plastifikátor ovlivní erozi ve značném rozsahu. Především laktáty solubilizují určité frakce oligoesterového nosiče. Tyto frakce se rozpouští v plastifikátoru nebo v jeho směsi s pufrům po zbobtnání. Poté dochází k rychlé eluci této frakce z matrice. Méně polární plastifikátory (tributylcitrát) mohou perzistovat dlouhodoběji v systému a hydrofobizací výrazně snižovat rychlost eroze.

Změna hodnoty pH média z 6,0 na 7,0 má malý vliv na erozi systému, tento vliv není pro všechny systémy jednoznačně interpretovatelný. Velikost erodujícího tělesa má vliv na děj především v počáteční fázi. Dobu úplné eroze zkoumaných systémů je možno odhadnout mezi 30 a 50 dny.

## 6.4 K BOBTNÁNÍ SYSTÉMŮ

Při současně probíhající erozi je rovnovážný stupeň bobtnání takto se měnícího tělesa nedosažitelný. Bylo prokázáno, že průběh bobtnání studovaných systémů nebyl v jednoznačné relaci s průběhem jejich eroze. Je obtížné mezi těmito dvěma jevy hledat jev příčinný a jev následný. Bobtnání probíhalo na rozdíl od kontinuálního průběhu eroze ve značně odlišných periodách daných odbobtnáním systémů. Příčina jevu vypuzování rozpouštědla ze zbobtnalého oligoesterového nosiče je na pracovišti školitele studována. V několika případech byla pozorována současná fáze bobtnání a fáze zvýšené rychlosti eroze, méně často tomu bylo naopak.

Na průběh a rozsah bobtnání má vliv velikost bobtnajícího tělesa. Plastifikátor zvyšuje stupeň bobtnání především v počáteční fázi. I když dochází k rychlé eluci plastifikátorů (zvláště těch více hydrofilních) z bobtnajících těles, další chování těchto systémů je dlouhodobě ovlivněno jejich historií. Příčina spočívá v solubilizaci určité frakce v počáteční fázi interakce s médiem a ve změně distribuce molekulové hmotnosti či stupně větvení systému nebo ve změně konformace nebo relaxace molekul nosiče.

Změna aktuální acidity média z pH 6,0 na pH 7,0 má, na rozdíl od eroze, velmi významný vliv na bobtnání nosiče. I když vliv tohoto faktoru nebyl jednoznačný, ve velké

většině případů byl dosažen vyšší stupeň bobtnání při pH 7,0 jako důsledek ionizace koncových karboxylů.

## 6.5 K LIBERACI LÉČIVA ZE SYSTÉMŮ

Liberace kyseliny listové z filmů je velmi silně ovlivněna změnou pH média z 6,0 na 7,0 a změnou koncentrace léčiva z 2 % na 10 %. Tuto citlivost systémů k podmínkám liberace je možno pokládat za nevýhodnou.

Liberace z injekčně implantovatelných matric je ovlivněna volbou plastifikátoru. Se zvyšováním koncentrace butyllaktátu z 10 % na 20 % a 30 % se postupně zvyšovala rychlost liberace, vliv změny velikosti z 50 mg na 150 mg a na 300 mg se projevil při vyšších koncentracích butyllaktátu. Také vliv změny pH média z 6,0 na 7,0 se projevil nejednoznačně v interakci s velikostí tělísek a s koncentrací butyllaktátu. Směs butyllaktátu se stejným dílem triethylcitrátu použita ve 30 % koncentraci vedla k formulaci matric s příliš vysokou rychlostí liberace léčiva.

Polyethyleniminy přidané do nosiče v 3 % koncentraci vedly k prolongaci liberace kyseliny listové. Působily síťovacím efektem tak, že spojovaly koncové karboxyly. Dalším pozitivním rysem je změna jejich charakteru z anionických na kationické materiály. Jejich účinek se u jednotlivých typů tohoto aditiva lišil. Se stoupající velikostí tělísek se prodlužovala doba liberace a také se zvyšovala síla vlivu změny aktuální acidity média na rychlost liberace.



## 7. SEZNAM ZKRATEK

AAc	adipová kyselina
BL	butyllaktát
BSA	hovězí sérový albumin
DLLA	kyselina D,L-mléčná
DXO	1,5-dioxepan-2-on
EL	ethylaktát
FA	kyselina listová
FR	folátový receptor
GA	kyselina glykolová
GPC	gelová permeační chromatografie
HSA	lidský sérový albumin
LS	rozptyl světla
LH-RH	gonadoliberin (hormon uvolňující luteinizační hormon)
MAN	mannitol
$M_n$	číselně střední molekulová hmotnost
$M_w$	hmotnostně střední molekulová hmotnost
MPA	medroxyprogesteron acetát
MPEO	$\alpha$ -methoxy- $\omega$ -hydroxypolyethylen
MPEO-PLA	kopolymer $\alpha$ -methoxy- $\omega$ -hydroxypolyethylenu a kyseliny mléčné
PBT	polybutylentereftalát
PCL	poly( $\epsilon$ -kaprolakton)
PCPP-SA	kopolymer p-karboxyfenoxypropanu a kyseliny sebakové
PDLA	poly(D-mléčná kyselina)
PDLLA	poly(D,L-mléčná kyselina)
PDLLGA	kopolymer kyseliny D,L-mléčné a glykolové
PEG	polyethylenglykol
PEG-PLA-PEG	triblokový kopolymer ethylenglykolu a kyseliny mléčné
PEI	polyethylenimin
PEO-PPO-PEO	triblokový kopolymer ethylenoxidu a propylenoxidu
PET	polyethylentereftalát
PGA	polyglykolová kyselina
PLA	polymléčná kyselina

PLA-PCL	kopolymer kyseliny mléčné a $\epsilon$ -kaprolaktonu
PLA-PEG-PLA	triblokový kopolymer kyseliny mléčné a ethylenglykolu
PLGA	kopolymer kyseliny mléčné a glykolové
PLGA-PEG-PLGA	triblokový kopolymer ethylenglykolu a kopolymeru kyseliny mléčné a glykolové
PLLA	poly(L-mléčná kyselina)
PLLA-PCL	kopolymer kyseliny L-mléčné a $\epsilon$ -kaprolaktonu
PLLGA	kopolymer kyseliny L-mléčné a glykolové
POE	polyortoestery
PVA	polyvinylalkohol
RES	retikuloendotelový systém
SA	sebaková kyselina
TA	triacetin
TB	tributylin
TBC	tributylcitrát
TEC	triethylcitrát
$T_f$	teplota tečení
$T_g$	teplota skelného přechodu
THF	5,6,7,8-tetrahydrofolát
$T_m$	teplota tání
TMC	trimethylenkarbonát

## 8. PŘEHLED LITERATURY

1. Heller, J., Controlled release of biologically active compounds from bioerodible polymers. *Biomaterials*, 1(1), 1980, 51-7
2. Leenslag, J.W., Pennings, A., Bos, R., et al., Resorbable materials of poly(L-lactide) VII. In vivo and in vitro degradation. *Biomaterials*, 8(4), 1987, 311-4
3. Matsusue, Y., Yamamuro, T., Yoshii, S., et al., Biodegradable screw fixation of rabbit tibia proximal osteotomies. *J. Appl. Biomater.*, 2(1), 1991, 1-12
4. Cutright, D.E., Perez, B., Beasley, J., et al. Denudation rates of polymers and copolymers of polylactic and polyglycolic acid. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 37(1), 1974, 142-52
5. Pihlajmaki, H., Bostman, O., Hirvensalo, E., et al., Absorbable pins for self-reinforced poly L-lactic acid for fixation of fracture and osteotomies. *J. Bone Joint Surg.*, 74-b, 1992, 853-7
6. Hollinger, J.O., Battistone, G.C., Biodegradable bone repair materials. *Clin. Orthop. Rel. Res.*, 207, 1986, 290-305
7. Grizzi, I., Garreau, H., Li, S., et al., Hydrolytic degradation of devices based on poly(DL-lactic acid) size-dependence. *Biomaterials*, 16(4), 1995, 305-11
8. Carothers, W.H., Studies on polymerization and ring formation. I. An introduction to the general theory of condensation polymers. *J. Am. Chem. Soc.*, 51, 1929, 2548-59
9. Albertsson, A.C., Ljungquist, O., Degradable polymers. I. Synthesis, characterization and long-term in vitro degradation of a C-14-labeled aliphatic polyester. *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.*, 23(3), 1986, 393-409
10. Holten, C.H., Müller, A., Reh binder, D., Lactic acid: properties and chemistry of lactic acid and derivatives. Weinheim: Verlag Chemie, 1971
11. Gupta, B., Revagade, N., Hilborn, J., Poly(lactic acid) fiber: An overview. *Prog. Polym. Sci.*, 32, 2007, 455-82
12. Inskip, G.C., Taylor, G.G., Breitzke, W.C., Lactic acid from corn sugar. *Ind. Eng. Chem.*, 44, 1952, 1955-66
13. Narayanan, N., Roychoudhury, P.K., Srivastava, A., L (+) lactic acid fermentation and its product polymerization. *Electron. J. Biotechnol.*, 2004, 7(2), 167-79

14. Drumright, R.E., Gruber, P.R., Henton, D.E., Polylactic acid technology. *Adv. Mater.*, 12(23), 2000, 1841-6
15. Moon, S.I., Taniguchi, I., Miyamoto, M., et al., Synthesis and properties of high-molecular-weight poly(L-lactic acid) by melt/solid polycondensation under different reaction conditions. *High Perform. Polym.*, 13(2), 2001, 189-96
16. Hiltunen, K., Härkönen, M., Seppälä, J.V., et al., Synthesis and characterization of lactic acid based telechelic prepolymers. *Macromolecules*, 29(27), 1996, 8677-82
17. Middleton, J.C., Tipton, A.J., Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*, 21, 2000, 2335-46
18. Nieuwenhuis, J., Synthesis of polylactides, polyglycolides and their copolymers. *Clin. Mater.*, 10(1-2), 1992, 59-67
19. Grijpma, D.W., Pennings, A.J., Polymerization temperature effects on the properties of L-lactide and  $\epsilon$ -caprolactone copolymers. *Polym. Bull.*, 25(3), 1991, 335-41
20. Radano, C.P., Baker, G.L., Smith, M.R., Stereoselective polymerization of a racemic monomer with a racemic catalyst: direct preparation of the polylactic acid stereocomplex from racemic lactide. *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 2000, 1552-3
21. Ikada, Y., Jamshidi, K., Tsuji, H., et al., Stereocomplex formation between enantiomeric poly(lactides). *Macromolecules*, 20, 1987, 904-6
22. Lim, D.W., Park, T.G., Stereocomplex formation between enantiomeric PLA-PEG-PLA triblock copolymers: characterization and use as protein-delivery microparticulate carriers. *J. Appl. Polym. Sci.*, 75, 2000, 1615-23
23. Kricheldorf, H.R., Kreiser, I., Polylactones. 13. Transesterification of poly(L-lactide) with poly(glycolide), poly( $\beta$ -propiolactone) and poly( $\epsilon$ -caprolactone). *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.*, 24(11), 1987, 1345-56
24. de Jong, S.J., De Smedt, S.C., Wahls, M.W.C., et al., Novel self-assembled hydrogels by stereocomplex formation in aqueous solution of enantiomeric lactic acid oligomers grafted to dextran. *Macromolecules*, 33, 2000, 3680-6
25. Gruvegård, M., Lindberg, T., Albertsson, A.C., Random copolymers of 1,5-dioxepan-2-one. *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.*, 35(6), 1998, 885-902
26. Kitchell, J.P., Wise, D.L., Poly(lactic/glycolic acid) biodegradable drug-polymer matrix systems. *Methods Enzymol.*, 112, 1985, 436-48

27. Grijpma, D.W., Nijenhuis, A.J., Pennings, A.J., Synthesis and hydrolytic degradation behaviour of high-molecular-weight L-lactide and glycolide copolymers. *Polymer*, 31, 1990, 2201-6
28. Buchholz, B., Analysis and characterization of resorbable DL-lactide-trimethylene carbonate copolyesters. *J. Mater. Sci., Mater. Med.*, 4(4), 1993, 381-8
29. Södergård, A., Näsman, J.H., Melt stability study of various types of poly(L-lactide). *Ind. Eng. Chem. Res.*, 35, 1996, 732-5
30. Kim, C.H., Cho, K.Y., Choi, E.J., et al., Effect of P(LLA-co- $\epsilon$ CL) on the compatibility and crystallization behavior of PCL/PLLA blends. *J. Appl. Polym. Sci.*, 77, 2000, 226-31
31. Shen, Y., Sun, W., Zhu, K.J., et al., Regulation of biodegradability and drug release behavior of aliphatic polyesters by blending. *J. Biomed. Mater. Res.*, 50, 2000, 528-35
32. Gajria, A.M., Dave, V., Gross, R.A., et al., Miscibility and biodegradability of blends of poly(lactic acid) and poly(vinyl acetate). *Polymer*, 37(3), 1996, 437-44
33. Riedl, B., Prud'Homme, R.E., Thermodynamic study of poly(vinyl chloride)/polyester blends by inverse-phase gas chromatography at 120 °C. *J. Polym. Sci., Polym. Phys.*, 24(11), 1986, 2565-82
34. Wang, Y., Hillmyer, M.A., Polyethylene-poly(L-lactide) diblock copolymers: synthesis and compatibilization of poly(L-lactide)/polyethylene blends. *J. Polym. Sci., Polym. Chem.*, 39(16), 2001, 2755-66
35. Nijenhuis, A.J., Colstee, E., Grijpma, D.W., et al., High molecular weight poly(L-lactide) and poly(ethylene oxide) blends: thermal characterization and physical properties. *Polymer*, 37(26), 1996, 5849-57
36. Park, T.G., Cohen, S., Langer, R., Poly(L-lactic acid)/pluronic blends: characterization of phase separation behavior, degradation and morphology and use as protein-releasing matrices. *Macromolecules*, 25, 1992, 116-22
37. Malzert, A., Boury, F., Saulnier, P., et al., Interfacial properties of mixed polyethylene glycol/poly(D,L-lactide-co-glycolide) films spread at the air/water interface. *Langmuir*, 16(4), 2000, 1861-7
38. Avella, M., Errico, M.E., Immirzi, B., et al., Radical polymerization of methyl methacrylate in the presence of biodegradable poly(L-lactic acid). Preparation of blends, chemical-physical characterization and morphology. *Macromol. Chem. Phys.*, 201, 2000, 1295-302

39. Ogata, N., Jimenez, G., Kawai, H., et al., Structure and thermal/mechanical properties of poly(L-lactide)-clay blend. *J. Polym. Sci., Polym. Phys.*, 35(2), 1997, 389-96
40. Jacobsen, S., Fritz, H.G., Plasticizing polylactide: The effect of different plasticizers on the mechanical properties. *Polym. Eng. Sci.*, 39(7), 1999, 1303-10
41. Engelberg, I., Kohn, J., Physico-mechanical properties of degradable polymers used in medical applications: a comparative study. *Biomaterials*, 12(3), 1991, 292-304
42. Penning, J.P., Dijkstra, H., Pennings, A.J., Preparation and properties of adsorbable fibres from L-lactide copolymers. *Polymer*, 34(5), 1993, 942-51
43. Bergsma, J.E., de Bruijn, W.C., Rozema, F.R., et al., Late degradation tissue to poly(L-lactide) bone plates and screws. *Biomaterials*, 16, 1995, 25-31
44. Li, S.M., Garreau, H., Vert, M., Structure-property relationships in the case of the degradation of massive aliphatic poly( $\alpha$ -hydroxy acids) in aqueous media. Part 1. Poly(D,L-lactic acid). *J. Mater. Sci., Mater. Med.*, 1(3), 1990, 123-30
45. Jacobsen, S., Fritz, H.G., Degee, P., et al., Single-step reactive extrusion of PLLA in a corotating twin-screw extruder promoted by 2-ethylhexanoic acid tin(II) salt and triphenylphosphine. *Polymer*, 41, 2000, 3395-403
46. Mohanty, A.K., Misra, M., Hinrichsen, G., Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: An overview. *Macromol. Mater. Eng.*, 276-277, 2000, 1-24
47. von Oepen, R., Michaeli, W., Injection moulding of biodegradable implants. *Clin. Mater.*, 10(1-2), 1992, 21-8
48. Jamshidi, K., Hyon, S.H., Ikada, Y., Thermal characterization of polylactides. *Polymer*, 29, 1988, 2229-34
49. McNeill, I.C., Leiper, H.A., Degradation studies of some polyesters and polycarbonates. II. Polylactide: degradation under isothermal conditions, thermal degradation mechanism and photolysis of the polymer. *Polym. Degrad. Stab.*, 11(4), 1985, 309-26
50. Porter, R.S., Wang, L.H., Compatibility and transesterification in binary polymer blends. *Polymer*, 33(10), 1992, 2019-30
51. D'Alelio, G.F., Häberli, R., Pezdirtz, G.F., Effect of ionizing radiation on a series of saturated polyesters. *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.*, 2(3), 1968, 501-88
52. Babanalbandi, A., Hill, D.J.T., O'Donnell, J.H., et al., An electron spin resonance analysis on  $\gamma$ -irradiated poly(glycolic acid) and its copolymers with lactic acid. *Polym. Degrad. Stab.*, 52, 1996, 59-66

53. Chu, C.C., Degradation phenomena of two linear aliphatic polyester fibres used in medicine and surgery. *Polymer*, 26, 1985, 591-4
54. Kenley, R.A., Lee, M.O., Sanders, L.M., Poly(lactide-co-glycolide) decomposition kinetics in vivo and in vitro. *Macromolecules*, 20, 1987, 2398-403
55. Joziase, C.A.P., Grijpma, D.W., Bergsma, J.E., et al., The influence of morphology on the (hydrolytic degradation of as-polymerized and hot-drawn poly(L-lactide)). *Colloid Polym. Sci.*, 276(11), 1998, 968-75
56. Schwach, G., Vert, M., In vitro and in vivo degradation of lactic acid-based interference screws used in cruciate ligament reconstruction. *Int. J. Biol. Macromol.*, 25(1), 1999, 283-91
57. Williams, D.F., Enzymic hydrolysis of polylactic acid. *Eng. Med.*, 10(1), 1981, 5-7
58. Torres, A., Li, S.M., Roussos, S., et al., Screening of microorganisms for biodegradation of poly(lactic acid) and lactic acid-containing polymers. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62(7), 1996, 2393-7
59. Hakkarainen, M., Karlsson, S., Albertsson, A.C., Rapid (bio)degradation of polylactide by mixed culture of compost microorganisms-low molecular weight products and matrix changes. *Polymer*, 41(7), 2000, 2331-8
60. Karjomaa, S., Suortti, T., Lempiäinen, R., et al., Microbial degradation of poly(L-lactic acid) oligomers. *Polym. Degrad. Stab.*, 59, 1998, 333-6
61. Cai, H., Dave, V., McCarthy, S.P., et al., Effects of physical aging, crystallinity and orientation on the enzymatic degradation of poly(lactic acid). *J. Polym. Sci., Polym. Phys.*, 34, 1996, 2701-8
62. Arvanitoyannis, I., Nakayama, A., Psomiadou, E., et al., Synthesis and degradability of a novel aliphatic polyester based on L-lactide and sorbitol: 3. *Polymer*, 37(4), 1996, 651-60
63. Albertsson, A.C., Ljungquist, O., Degradable polymers. II. Synthesis, characterization and degradation of an aliphatic thermoplastic block copolyester. *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.*, 23(3), 1986, 411-422
64. Bikiaris, D.N., Karayannidis, G.P., Effect of carboxylic end groups on thermooxidative stability of PET and PBT. *Polym. Degrad. Stab.*, 63(2), 1999, 213-18
65. Bogdanov, B., Toncheva, V., Schacht, E., et al., Physical properties of poly(ester-urethanes) prepared from different molar mass polycaprolactone-diols. *Polymer*, 49, 1999, 3171-82

66. Tokiwa, Y., Suzuki, T., Hydrolysis of copolyesters containing aromatic and aliphatic ester blocks by lipase. *J. Appl. Polym. Sci.*, 26(2), 1981, 441–8
67. Jin, H.J., Lee, B.Y., Kim, M.N., et al., Properties and biodegradation of poly(ethylene adipate) and poly(butylene succinate) containing styrene glycol units. *Eur. Polym. J.*, 36(12), 2000, 2693–8
68. Nagata, M., Kono, Y., Sakai, W., et al., Preparation and characterization of novel biodegradable optically active network polyesters from malic acid. *Macromolecules*, 32, 1999, 7762–7
69. Tokiwa, Y., Suzuki, T., Ando, T., Synthesis of copolyamide-esters and some aspects involved in their hydrolysis by lipase. *J. Appl. Polym. Sci.*, 24, 1979, 1701–11
70. Barrows, T.H., Synthetic absorbable surgical devices of poly(esteramides). U.S. Pat. No. 4343931, 1982
71. Saotome, Y., Miyazawa, T., Endo, T., Novel enzymatically degradable polymers comprising alpha-amino-acid, 1,2-ethanediol and adipic acid. *Chem. Lett.*, 1, 1991, 21–4
72. Ho, L.H., Huang, S.J., Poly(amide-ester)s derived from  $\alpha$ -amino acids. *Polym. Prepr.*, 33(2), 1992, 94–5
73. Ohya, Y., Hirai, K., Ouchi, T., Synthesis and cytotoxic activity of doxorubicin bound to poly( $\alpha$ -malic acid) via ester or amide bonds. *Macromol. Chem. Phys.*, 193(8), 1992, 1881–7
74. Li, C.H., Chen, C.C., Chen, K.M., et al., Studies on the synthesis and properties of soluble homo- and copolyester-imide derived from imide-diacid. *J. Appl. Polym. Sci.*, 55(5), 1995, 747–52
75. Kricheldorf, H.R., Wollheim, T., Koning, C.E., et al., Thermoplastic elastomers I. Poly(ether-ester-imide)s based on 1,4-diaminobutane, trimellitic anhydride, 1,4-dihydroxybutane and poly(tetramethylene oxide) diols. *Polymer*, 42(16), 2001, 6699–708
76. Smith, T.L., Tensile strength of polyurethane and other elastomeric block copolymers. *J. Polym. Sci., Polym. Phys.*, 12(9), 1974, 1825–48
77. Furukawa, M., Shiiba, T., Murata, S., Mechanical properties and hydrolytic stability of polyesterurethane elastomers with alkyl side groups. *Polymer*, 40, 1999, 1791–8
78. Schollenberger, C.S., Stewart, F.D., Thermoplastic polyurethane hydrolysis study. *Angew. Makromol. Chem.*, 29(1), 1973, 413–30
79. Dupret, I., David, C., Colpaert, M., et al., Biodegradation of poly(ester-urethane)s by a pure strain of microorganisms. *Macromol. Chem. Phys.*, 200(11), 1999, 2508–18



80. Rehman, I., Andrews, E.H., Smith, R., In vitro degradation of poly(ester-urethanes) for biomedical applications. *J. Mater. Sci., Mater. Med.*, 7(1), 1996, 17-20
81. Jiang, H.L., Zhu, K.J., Synthesis, characterization and in vitro degradation of a new family of alternate poly(ester-anhydrides) based on aliphatic and aromatic diacids. *Biomaterials*, 22(3), 2001, 211-8
82. Jiang, H.L., Zhu, K.J., Novel fluorescent copolyanhydrides as potential visible matrices for drug delivery. *Biomaterials*, 23, 2002, 2345-51
83. Erdmann, L., Macedo, B., Uhrich, K.E., Degradable poly(anhydride ester) implants: effects of localized salicylic acid release on bone. *Biomaterials*, 21, 2000, 2507-12
84. Beumer, G.J., van Blitterswijk, C.A., Ponec, M., Biocompatibility of a biodegradable matrix used as a skin substitute: an in vivo evaluation. *J. Biomed. Mater. Res.*, 28(5), 1994, 545-52
85. Bezemer, J.M., Grijpma, D.W., Dijkstra, P.J., et al., Control of protein delivery from amphiphilic poly(ether ester) multiblock copolymers by varying their water content using emulsification techniques. *J. Control. Rel.*, 66(2), 2000, 307-20
86. Bezemer, J.M., Radersma, R., Grijpma, D.W., et al., Zero-order release of lysozyme from poly(ethylene glycol) poly(butylene terephthalate) matrices. *J. Control. Rel.*, 64, 2000, 179-92
87. Albertsson, A.C., Ljungquist, O., Degradable polymers. III. Synthesis and characterization of aliphatic thermoplastic block copolyesters. *J. Macromol. Sci., Pure Appl. Chem.*, 24(8), 1987, 977-90
88. Bouillot, P., Patit, A., Dellacherie, E., Protein encapsulation in biodegradable amphiphilic microspheres. I. Polymer synthesis and characterization and microsphere elaboration. *J. Appl. Polym. Sci.*, 68(10), 1998, 1695-1702
89. Youxin, L., Volland, C., Kissel, T., In vitro degradation and bovine serum albumin release of the ABA triblock copolymers consisting of poly(L(+))lactic acid-co-glycolic acid) A-blocks attached to central poly(oxyethylene) B-blocks. *J. Control. Rel.*, 32(2), 1994, 121-8
90. Cha, Y., Choi, Y.K., Bae, Y.H., Thermosensitive biodegradable polymers based on poly(ether-ester) block copolymers. U.S. Pat. No. 5702717, 1997
91. Moghimi, S.M., Patel, H.M., Serum factors that regulate phagocytosis of liposomes by Kupffer cells. *Biochem. Soc. Trans.*, 21(2), 1993, 128

92. Moghimi, S.M., Patel, H.M., Serum-mediated recognition of liposomes by phagocytic cells of the reticuloendothelial system: The concept of tissue specificity. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 32 (1-2), 1998, 45-60
93. Stolnik, S., Illum, L., Davis, S.S., Long circulating microparticulate drug carriers. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 16(2), 1995, 195-214
94. Jalil, R., Nixon, J.R., Biodegradable poly(lactic acid) and poly(lactide-co-glycolide) microcapsules: problems associated with preparative techniques and release properties. *J. Microencapsul.*, 7(3), 1990, 297-325
95. Zambaux, M.F., Bonneaux, F., Gref, R., et al., Protein C-loaded monomethoxy-poly(ethylene oxide)-poly(lactic acid) nanoparticles. *Int. J. Pharm.*, 212(1), 2001, 1-9
96. Zheng, J., Northrup, S.R., Hornsby, P.J., Modification of materials formed from poly(L-lactic acid) to enable covalent binding of biopolymers: application to high-density three-dimensional cell culture in foams with attached collagen. *In Vitro Cell Dev. Biol., Animal*, 34(9), 1998, 679-84
97. Whang, K., Thomas, C.H., Healy, K.E., et al., Novel method to fabricate bioabsorbable scaffolds. *Polymer*, 36(4), 1995, 837-42
98. Nam, Y.S., Yoon, J.J., Park, T.G., A novel fabrication method of macroporous biodegradable polymer scaffolds using gas foaming salt as a porogen additive. *J. Biomed. Mater. Res., Appl. Biomater.*, 53(1), 2000, 1-7
99. Mooney, D.J., Baldwin, D.F., Suh, N.P., et al., Novel approach to fabricate porous sponges of poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) without the use of organic solvents. *Biomaterials*, 17, 1996, 1417-22
100. Aslan, S., Calandrelli, L., Laurenzio, P., et al., Poly(D,L-lactic acid)/poly( $\epsilon$ -caprolactone) blends membranes: preparation and morphological characterisation. *J. Mater. Sci.*, 35, 2000, 1615-22
101. Middleton, J.C., Tipton, A.J., Synthetic biodegradable polymers as medical devices. *Med. Plast. Biomat.*, March/April, 1998, 30-8
102. Grijpma, D.W., Penning, J.P., Pennings, A.J., Chain entanglement, mechanical properties and drawability of poly(lactide). *Colloid Polym. Sci.*, 272(9), 1994, 1068-81
103. Schakenraad, J.M., Oosterbaan, J.A., Nieuwenhuis, P., et al., Biodegradable hollow fibres for the controlled release of drugs. *Biomaterials*, 9(1), 1988, 116-20
104. Dunn, R.L., Tipton, A.J., Harkrader, R.J., et al., Intragingival delivery systems for treatment of periodontal diseases. U.S. Pat. No. 5324520, 1994

105. Rathi, R.C., Zentner, G.M., Jeong, B., Biodegradable low molecular weight triblock lactide-glycolide-polyethylene glycol copolymers having reverse thermal gelation properties. U.S. Pat. No. 6201072, 2001
106. Zhang, X., Jackson, J.K., Wong, W., et al., Development of biodegradable polymeric paste formulations for taxol: an in vitro and in vivo study. *Int. J. Pharm.*, 137(2), 1996, 199–208
107. Merkli, A., Heller, J., Tabatabay, C., et al., Purity and stability assessment of a semi-solid poly(ortho ester) used in drug delivery systems. *Biomaterials*, 17(9), 1996, 897–902
108. Heller, J., Barr, J., Ng, S., et al., Development of poly(ortho esters) and their application for bovine serum albumin and bupivacaine delivery. *J. Control. Rel.*, 78(1–3), 2002, 133–41
109. Heller, J., Barr, J., Ng, S.Y., et al., Development and applications of injectable poly(ortho esters) for pain control and periodontal treatment. *Biomaterials*, 23(22), 2002, 4397–404
110. Hedberg, E.L., Tang, A., Crowther, R.S., et al., Controlled release of an osteogenic peptide from injectable biodegradable polymeric composites. *J. Control. Rel.*, 84(3), 2002, 137–50
111. Krauland, A.H., Leitner, V.M., Bernkop-Schnuerch, A., Improvement in the in situ gelling properties of deacetylated gellan gum by the immobilization of thiol groups. *J. Pharm. Sci.*, 92(6), 2003, 1234–41
112. Qiu, B., Stefanos, S., Ma, J., et al., Hydrogel prepared by in situ cross-linking of a thiol-containing poly(ethylene glycol)-based copolymer: A new biomaterial for protein drug delivery. *Biomaterials*, 24(1), 2003, 11–18
113. Cohen, S., Lobel, E., Trevogoda, A., et al., A novel, in situ-forming ophthalmic drug delivery system from alginates undergoing gelation in the eye. *J. Control. Rel.*, 44(2–3), 1997, 201–8
114. Oster, C.G., Wittmar, M., Unger, F., et al., Design of amine-modified graft polyesters for the effective gene delivery using DNA-loaded nanoparticles. *Pharm. Res.*, 21(6), 2004, 927–31
115. Quintanar-Guerrero, D., Fessi, H., Allemann, E., et al., Influence of stabilizing agents and preparative variables on the formation of poly(D,L-lactic acid) nanoparticles by an emulsification-diffusion technique. *Int. J. Pharm.*, 143(2), 1996, 133–41

116. Dunn, R.L., Garrett, J.S., Ravivarapu, H., et al., Polymeric delivery formulations of leuprolide with improved efficacy. U.S. Pat. No. 6565874, 2003
117. Graham, P.D., Brodbeck, K.J., Mchugh, A.J., Phase inversion dynamics of PLGA solutions related to drug delivery. *J. Control. Rel.*, 58(2), 1999, 233–45
118. Wasan, K.M., Subramanian, R., Kwong, M., et al., Poloxamer 407-mediated alterations in the activities of enzymes regulating lipid metabolism in rats. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 6(2), 2003, 189–97
119. Jeong, B., Choi, Y.K., Bae, Y.H., et al., New biodegradable polymers for injectable drug delivery systems. *J. Control. Rel.*, 62(1–2), 1999, 109–14
120. Zentner, G.M., et al., Biodegradable block copolymers for delivery of proteins and water-insoluble drugs. *J. Control. Rel.*, 72(1–3), 2001, 203–15
121. Folkman, J., Long, D.M., Rosenbaum, R., Silicone rubber: a new diffusion property useful for general anesthesia. *Science*, 154(3745), 1966, 148–9
122. Ueno, N., Refojo, M.F., Liu, L.H.S., Controlled release rate of a lipophilic drug (BCNU) from a refillable silicone rubber device. *J. Biomed. Mater. Res.*, 16(5), 1982, 669–77
123. Yang, M.B., Tamargo, R.J., Brem, H., Controlled delivery of 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea from ethylene–vinyl acetate copolymer. *Cancer Res.*, 49(18), 1989, 5103–7
124. Kim, S.W., Bae, Y.H., Okano, T., Hydrogels: swelling, drug loading and release. *Pharm. Res.*, 9(3), 1992, 283–90
125. Wu, M.P., Tamada, J.A., Brem, H., et al., In vivo versus in vitro degradation of controlled release polymers for intracranial surgical therapy. *J. Biomed. Mater. Res.*, 28(3), 1994, 387–95
126. Jain, R., Barriers to drug delivery in solid tumors. *Sci. Am.*, 271, 1994, 58–65
127. Sharifi, R., Soloway, M., Clinical study of leuprolide depot formulation in the treatment of advanced prostate cancer. The Leuprolide Study Group, *J. Urol.*, 143(1), 1990, 68–71
128. Jain, R.K., Vascular and interstitial barriers to delivery of therapeutic agents in tumors. *Cancer Metastasis Rev.*, 9(3), 1990, 253–66
129. Weingart, J.D., Thompson, R.C., Tyler, B., et al., Local delivery of the topoisomerase I inhibitor camptothecin sodium prolongs survival in the rat intracranial 9L gliosarcoma model. *Int. J. Cancer*, 62, 1995, 605–9

130. Tamargo, R.J., Leong, K.W., Brem, H., Growth inhibition of the 9L glioma using polymers to release heparin and cortisone acetate. *J. Neurooncol.*, 9(2), 1990, 131–8
131. Kumanohoso, T., Natsugoe, S., Shimada, M., et al., In vivo activity of bleomycin incorporated with biodegradable poly-DL-lactic acid and implanted in the mediastinum of dogs. *J. Surg. Oncol.*, 57(3), 1994, 178–82
132. Fung, L.K., Shin, M., Tyler, B., et al., Chemotherapeutic drugs released from polymers: distribution of 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea in the rat brain. *Pharm. Res.*, 13, 1996, 671–82
133. Raoul, J.L., Heresbach, D., Bretague, J.F., et al., Chemoembolization of hepatocellular carcinomas. *Cancer*, 70, 1991, 585–90
134. Roos, G., Christensson, P., El Hag, I.A., et al., Degradable starch microspheres in cytostatic treatment of a liver carcinoma; experimental studies in rats with 5-fluorouracil, tauromustine, carmustine, doxorubicin and RSU-1069. *Anticancer Res.*, 13, 1993, 635–42
135. Kyotani, S., Nishioka, Y., Okamura, M., et al., A study of embolizing materials for chemo-embolization therapy of hepatocellular carcinoma: antitumor effect of cis-diaminedichloroplatinum(II) albumin microspheres, containing chitin and treated with chitosan on rabbits with VX2 hepatic tumors. *Chem. Pharm. Bull.*, 40(10), 1992, 2814–6
136. Horiguchi, Y., Itoh, M., Takagawa, H., et al., Assessment of chemoembolization therapy for primary liver cancer using a stabilized adriamycin-lipiodol suspension. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 31, 1992, 60–4
137. Johnson, P.J., Dobbs, N., Kalayci, C., et al., Clinical efficacy and toxicity of standard dose adriamycin in hyperbilirubinaemic patients with hepatocellular carcinoma: relation to liver tests and pharmacokinetic parameters. *Br. J. Cancer*, 65(5), 1992, 751–5
138. Codde, J.P., Burton, M.A., Kelleher, D.K., et al., Reduced toxicity in adriamycin by incorporating into ion exchange microspheres: a therapeutic study using a rat liver tumor model. *Anticancer Res.*, 10(6), 1990, 1715–8
139. Veselá, K., Dlouhý, P., Kyselina listová a defekty neurální trubice. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa*, 2(1), 1999, 32-8
140. Campbell, I.G., Jones, T.A., Foulkes, W.D., et al., Folate-binding protein is a marker for ovarian cancer. *Cancer Res.*, 51(19), 1991, 5329–38
141. Antony, A.C., Kane, M.A., Portillo, R.M., et al., Studies of the role of a particulate folate-binding protein in the uptake of 5-methyltetrahydrofolate by cultured human KB cells. *J. Biol. Chem.*, 260(28), 1985, 14911–7

142. Leamon, C.H.P., Reddy, J.A., Folate-targeted chemotherapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 56, 2004, 1127-41
143. Antony, A.C., The biological chemistry of folate receptors. *Blood*, 79(11), 1992, 2807-20
144. Kamen, B.A., Capdevila, A., Receptor-mediated folate accumulation is regulated by the cellular folate content. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83(16), 1986, 5983-7
145. Leamon, C.P., Low, P.S., Delivery of macromolecules into living cells: a method that exploits folate receptor endocytosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88(13), 1991, 5572-6
146. Mathias, C.J., Wang, S., Lee, R.J., et al., Tumor-selective radiopharmaceutical targeting via receptor-mediated endocytosis of Gallium-67-deferoxamine-folate. *J. Nucl. Med.*, 37(6), 1996, 1003-8
147. Leamon, C.P., Low, P.S., Selective targeting of malignant cells with cytotoxin-folate conjugates. *J. Drug Target.*, 2(2), 1994, 101-12
148. Rui, Y., Wang, S., Low, P.S., et al., Dipalmitoylcholine-folate liposomes: An efficient vehicle for intracellular drug delivery. *J. Am. Chem. Soc.*, 120(44), 1998, 11213-8
149. Reddy, J.A., Low, P.S., Enhanced folate receptor mediated gene therapy using a novel pH-sensitive lipid formulation. *J. Control. Rel.*, 64(1-3), 2000, 27-37
150. Ladino, C.A., Chari, R.V.J., Bourret, L.A., et al., Folate-maytansinoids: target-selective drugs of low molecular weight. *Int. J. Cancer*, 73(6), 1997, 859-64
151. Ward, C.M., Acheson, N., Seymour, L.W., Folic acid targeting of protein conjugates into ascites tumor cells from ovarian cancer patients. *J. Drug Target.*, 8(2), 2000, 119-23
152. Kranz, D.M., Manning, T.C., Rund, L.A., et al., Targeting tumor cells with bispecific antibodies and T cells. *J. Control. Rel.*, 53(1-3), 1998, 77-84
153. Li, S., Deshmukh, H.M., Huang, L., Folate-mediated targeting of antisense oligonucleotides to ovarian cancer cells. *Pharm. Res.*, 15(10), 1998, 1540-5
154. Pliva-Lachema, a.s. Biodegradable composition with prolonged release of the biological active compound and preparation thereof. Původce vynálezu: Milan Dittrich, Petr Sova. A61K 9/00. World International Property Organization. Patentový spis WO 2004/017939 A1.
155. Hickey, K., Waghorne, W.E., Comparison of the activation free energies for viscous flow and for diffusion in dilute solutions, derivation of the expression for the effect of the solute on the activation free energy of diffusion of the solvent and application to solutions

of N,N-dimethylformamide in water, methanol and acetonitrile. *J. Phys. Chem. A*, 105(6), 2001, 1093-96

156. Melkonyan, D.V., The activation energy of viscoelastic deformation of rocks. *Annales Géologiques de la Péninsule Balkanique*, 65, 2003, 101-5

157. Hsu, Y.Y., Gresser, J.D., Stewart, R.R., et al., Mechanisms of isoniazid release from poly(D,L-lactide-co-glycolide) matrices prepared by dry-mixing and low density polymeric foam methods. *J. Pharm. Sci.*, 85(7), 1996, 706-13

158. Barry, B.W., Grace, A.J., Structure and rheology of emulsions stabilised by mixed emulsifiers. *British Society of Rheology Conference on Rheology in Medicine and Pharmacy*, London, April 14-15, 1970

159. Subramanian, N., Ghosal, S.K., Acharya, A., et al., Formulation and physicochemical characterization of microemulsion system using isopropyl myristate, medium-chain glyceride, polysorbate 80 and water. *Chem. Pharm. Bull.*, 53(12), 2005, 1530-5

160. Dyre, J.C., Olsen, N.B., Christensen, T., Local elastic expansion model for viscous-flow activation energies of glass-forming molecular liquids. *Phys. Rev. B*, 53(5), 1996, 2171-4

161. Adam, G., Gibbs, J.H., On the temperature dependence of cooperative relaxation properties in glass-forming liquids. *J. Chem. Phys.*, 43, 1965, 139-46

162. Acharya, A., Sanyal, S. K., Moulik, S. P., Formation and characterization of a pharmaceutically useful microemulsion derived from isopropylmyristate, polyoxyethylene (4) lauryl ether (Brij 30), isopropyl alcohol and water. *Current Science*, 81(4), 2001, 362-70

163. Göpferich, A., Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomaterials*, 17, 1996, 103-14

164. Göpferich, A., Polymer degradation and erosion: Mechanisms and applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 42(1), 1996, 1-11

165. Wada, R., Hyon, S.H., Ikada, Y., Salt formation of lactic acid oligomers as matrix for sustained release of drugs. *J. Pharm. Pharmacol.*, 43, 1991, 605-8

166. Vert, M., Li, S., Garreau, H., More about the degradation of LA/GA-derived matrices in aqueous media. *J. Control. Rel.*, 16, 1991, 15-26

167. Reed, A.M., Gilding, D.K., Biodegradable polymers for use in surgery - poly(glycolic)/poly(lactic acid) homo and copolymers: 2. In vitro degradation. *Polymer*, 22, 1981, 494-8

168. Lemmouchi, Y., Schacht, E., Kageruka, P., et al., Biodegradable polyesters for controlled release of trypanocidal drugs: in vitro and in vivo studies. *Biomaterials*, 19(20), 1998, 1827-37
169. Kou, J.H., Emmett, C., Shen, P., et al., Bioerosion and biocompatibility of poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) implants in brain. *J. Control. Rel.*, 43, 1997, 123-30
170. Burkersroda, F., Gref, R., Göpferich, A., Erosion of biodegradable block copolymers made of poly(D,L-lactic acid) and poly(ethylene glycol). *Biomaterials*, 18, 1997, 1599-607
171. Breitenbach, A., Pistel, K.F., Kissel, T., Biodegradable comb polyesters. Part II. Erosion and release properties of poly(vinyl alcohol)-g-poly(lactic-co-glycolic acid). *Polymer*, 41, 2000, 4781-92
172. Bero, M., Kasperczyk, J., Jedlinski, Z.J., Coordination polymerization of lactides. 1. Structure determination of obtained polymers. *Makromol. Chem.*, 191, 1990, 2287-96
173. Li, Y., Nothnagel, J., Kissel, T., Biodegradable brush-like graft polymers from poly(D,L-lactide) or poly(D,L-lactide-co-glycolide) and charge-modified, hydrophilic dextrans as backbone – Synthesis, characterization and in vitro degradation properties. *Polymer*, 38(25), 1997, 6197-206
174. Breitenbach, A., Li, Y.X., Kissel, T., Branched biodegradable polyesters for parenteral drug delivery systems. *J. Control. Rel.*, 64, 2000, 167-78
175. Milimouk, I., Hecht, A.M., Beysens, D., et al., Swelling of neutralized polyelectrolyte gels. *Polymer*, 42, 2001, 487-94
176. Dubrovskii, S.A., Rakova, G.V., Lagutina, M.A., et al., Osmotic properties of poly(ethylene oxide) gels with localized charged units. *Polymer*, 42, 2001, 8075-83
177. Flory, P.J., Rehner, J., Statistical mechanics of cross-linked polymer networks. II. Swelling. *J. Chem. Phys.*, 11, 1943, 521-6
178. Zeo, U., Tarabukina, E., Budtova, T., Kinetics of shear-induced gel deswelling/solvent release. *J. Control. Rel.*, 108, 2005, 73-83
179. Schwarte, L.M., Peppas, N.A., Novel poly(ethylene glycol)-grafted, cationic hydrogels: preparation, characterization and diffusive properties. *Polymer*, 39(24), 1998, 6057-66
180. Khare, A.R., Peppas, N.A., Swelling/deswelling of anionic copolymer gels. *Biomaterials*, 16, 1995, 559-67
181. Nishiyama, Y., Satoh, M., Collapse of a charged polymer gel induced by mixing unfavorable counterions. *Polymer*, 42, 2001, 3919-21



182. Muta, H., Miwa, M., Satoh, M., Ion-specific swelling of hydrophilic polymer gels. *Polymer*, 42, 2001, 6313-6
183. Molloy, P.J., Smith, M.J., Cowling, M.J., The effects of salinity and temperature on the behaviour of polyacrylamide gels. *Mater. Des.*, 21, 2000, 169-74
184. Zhao, Y., Su, H., Fang, L., et al., Superabsorbent hydrogels from poly(aspartic acid) with salt-, temperature- and pH-responsiveness properties. *Polymer*, 46, 2005, 5368-76
185. Xue, W., Hamley, I.W., Huglin, M.B., Rapid swelling and deswelling of thermoreversible hydrophobically modified poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels prepared by freezing polymerisation. *Polymer*, 43, 2002, 5181-6
186. Xue, W., Champ, S., Huglin, M.B., Rapid swelling and deswelling in cryogels of crosslinked poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic). *Eur. Polym. J.*, 40, 2004, 703-12
187. Yoshida, R., Yamaguchi, T., Ichijo, H., Novel oscillating swelling-deswelling dynamic behaviour for pH-sensitive polymer gels. *Mater. Sci. Eng. C*, 4, 1996, 107-13
188. Zaikin, A.N., Zhabotinsky, A.M., Concentration wave propagation in a two-dimensional liquid-phase self-oscillating system. *Nature*, 225, 1970, 535-7
189. Yoshida, R., Sakai, T., Tambata, O., et al., Design of novel biomimetic polymer gels with self-oscillating function. *Sci. Tech. Adv. Mater.*, 3, 2002, 95-102
190. Hurrell, S., Cameron, R.E., The effect of initial polymer morphology on the degradation and drug release from polyglycolide. *Biomaterials*, 23, 2002, 2401-9
191. Vachoud, L., Zydowicz, N., Domard, A., Physicochemical behaviour of chitin gels. *Carbohydr. Res.*, 326, 2000, 295-304
192. Wang, X., Venkatraman, S.S., Boey, F.Y.C., et al., Controlled release of sirolimus from a multilayered PLGA stent matrix. *Biomaterials*, 27, 2006, 5588-95
193. Xue, W., Champ, S., Huglin, M.B., Rapid swelling and deswelling in cryogels of crosslinked poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid). *Eur. Polym. J.*, 40, 2004, 467-76
194. Coughlan, D.C., Quilty, F.P., Corrigan, O.I., Effect of drug physicochemical properties on swelling/deswelling kinetics and pulsatile drug release from thermoresponsive poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels. *J. Control. Rel.*, 98, 2004, 97-114
195. Proikakis, C.S., Mamouzelos, N.J., Tarantili, P.A., et al., Swelling and hydrolytic degradation of poly(D,L-lactic acid) in aqueous solutions. *Polym. Degrad. Stab.*, 91(3), 2006, 614-9

196. Siepman, J., Siepman, F., Florence, A.T., Local controlled drug delivery to the brain: Mathematical modeling of the underlying mass transport mechanism. *Int. J. Pharm.*, 314(2), 2006, 101-19
197. Costa, P., Lobo, J.M.S., Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 13(2), 2001, 123-33
198. Costa, P., An alternative method to the evaluation of similarity factor in dissolution testing. *Int. J. Pharm.*, 220, 2001, 77-83
199. Hayashi, T., Kanbe, H., Okada, M., et al., Formulation study and drug release mechanism of a new theophylline sustained-release preparation. *Int. J. Pharm.*, 304, 2005, 91-101
200. Ferrero, C., Bravo, I., Jiménez-Castellanos, M.R., Drug release kinetics and fronts movement studies from methyl methacrylate (MMA) copolymer matrix tablets: effect of copolymer type and matrix porosity. *J. Control. Rel.*, 92, 2003, 69-82
201. Crank, J., *The mathematics of diffusion*. Clarendon Press, Oxford, 1975, 290-3
202. Korsmeyer, R.W., Ph.D. Dissertation, Purdue University, West Lafayette, Indiana, 1983. In: Singh, S.K., Fan, L.T., A generalized model for swelling-controlled release systems. *Biotechnol. Prog.*, 1986, 2(3), 145-56
203. Peppas, N.A., Sahlin, J.J., A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. *Int. J. Pharm.*, 57, 1989, 169-72
204. Higuchi, T., Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci.*, 52, 1963, 1145-9
205. Ritger, P.L., Peppas, N.A., A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *J. Control. Rel.*, 5, 1987, 23-36
206. Ritger, P.L., Peppas, N.A., A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *J. Control. Rel.*, 5, 1987, 37-42
207. Llabot, J.M., Manzo, R.H., Allemandi, D.A., Drug release from carbomer: carbomer sodium salt matrices with potential use as mucoadhesive drug delivery system. *Int. J. Pharm.*, 276, 2004, 59-66
208. Bhardwaj, R., Blanchard, J., In vitro evaluation of poly(D,L-lactide-co-glycolide) polymer-based implants containing the  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone analog, Melanotan-I. *J. Control. Rel.*, 45, 1997, 49-55

209. Dorta, M.J., Santovena, A., Llabrés, M., et al., Potential applications of PLGA film-implants in modulating in vitro drugs release. *Int. J. Pharm.*, 248, 2002, 149-56
210. Chang, H.-I., Williamson, M.R., Perrie, Y., et al., Precipitation casting of drug-loaded microporous PCL matrices: Incorporation of progesterone by co-dissolution. *J. Control. Rel.*, 106, 2005, 263-72
211. Schliecker, G., Schmidt, C., Fuchs, S., et al., In vitro and in vivo correlation of buserelin release from biodegradable implants using statistical moment analysis. *J. Control. Rel.*, 94, 2004, 25-37
212. Hopfenberg, H.B., Controlled release from erodible slabs, cylinders and spheres. 1976. In: Paul, D.R., Harris, F.W. (Eds.), *Controlled Release Polymeric Formulations*. ACS Symp. Ser. 33, American Chemical Society, Washington, DC, 26-32
213. Sharifpoor, S., Amsden, B., In vitro release of a water-soluble agent from low viscosity biodegradable, injectable oligomers. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 65, 2007, 336-45
214. Proikakis, C.S., Tarantili, P.A., Andreopoulos, A.G., The role of polymer/drug interactions on the sustained release from poly(DL-lactic acid) tablets. *Eur. Polym. J.*, 42, 2006, 3269-76
215. Seo, S.-A., Choi, H.S., Khang, G., et al., A local delivery system for fentanyl based on biodegradable poly(L-lactide-co-glycolide) oligomer. *Int. J. Pharm.*, 239, 2002, 93-101
216. Wada, R., Hyon, S.-H., Ikada, Y., Kinetics of diffusion-mediated drug release enhanced by matrix degradation. *J. Control. Rel.*, 37, 1995, 151-60
217. Shah, S.S., Cha, Y., Pitt, C.G., Poly(glycolic acid-co-DL-lactic acid): diffusion or degradation controlled drug delivery? *J. Control. Rel.*, 18, 1992, 261-70
218. Vueba, M.L., Batista de Carvalho, L.A.E., Veiga, F., et al., Influence of cellulose ether polymers on ketoprofen release from hydrophilic matrix tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 58, 2004, 51-9
219. Vogelhuber, W., Rotunno, P., Magni, E., et al., Programmable biodegradable implants. *J. Control. Rel.*, 73, 2001, 75-88
220. Mundargi, R.C., Patil, S.A., Development of polysaccharide-based colon targeted drug delivery systems for the treatment of amoebiasis. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 33(3), 2007, 255-64
221. Sriamornsak, P., Thirawong, N., Korkerd, K., Swelling, erosion and release behavior of alginate-based matrix tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 66, 2007, 435-50

222. Young, C.R., Dietzsch, C., Cerea, M., et al., Physicochemical characterization and mechanisms of release of theophylline from melt-extruded dosage forms based on a methacrylic acid copolymer. *Int. J. Pharm.*, 301, 2005, 112-20
223. Akhtar, M.J., Khan, M.A., Ahmad, I., Photodegradation of folic acid in aqueous solution. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 19(3-4), 1999, 269-75
224. Moffat, A.C. ed. (1986) *Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids, and post-mortem material*. 2nd ed. London, The Pharmaceutical Press.
225. DrugBank, <http://redpoll.pharmacy.ualberta.ca/drugbank>.
226. Inchem, <http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/folicaci.htm>.
227. Miknevičiūtė, K., Interactions of biodegradable drug carriers with hydrophilic medium. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové 2007, 50 s.

## 9. SEZNAM PUBLIKACÍ

### PUBLIKOVANÉ ČLÁNKY

- Kladníčková, I., Klein, T., Dittrich, M., Vliv plastifikátorů typu triesterů glycerolu na liberaci albuminu z biodegradabilních polymerních matric. Čes. a Slov. Farm., 2004, 53, 27-30
- Martinac, A., Klein, T., Kladníčková, I., Dittrich, M., Liberace kyseliny listové z kompozitních chitosanových filmů. Čes. a Slov. Farm., 2004, 53, 177-82
- Kladníčková, I., Dittrich, M., Klein, T., Pokorová, D., Release of albumin from oligoester plastic matrices: effect of magnesium oxide and bivalent stearates. Drug Delivery, 2006, 13(1), 25-30

### PŘENÁŠKY A POSTERY UVEDENÉ VE SBORNÍCÍCH

- Kladníčková, I., Dittrich, M., Čápková, J., Klein, T., Příspěvek k formulaci biodegradabilních mikromatric s proteiny. 30. Technologické dni, Demanovská Dolina-Jasná, poster, 2001
- Kladníčková, I., Dittrich, M., Plasová, V., Klein, T., Formulace biodegradabilních polymerních matric s albuminem pro studium řízeného uvolňování proteinů. Medifórum, Brno, sborník abstrakt, 2002
- Klein, T., Kladníčková, I., Dittrich, M., Příprava a testování implantátů s kyselinou listovou. Medifórum, Brno, sborník abstrakt, 2002
- Klein, T., Kladníčková, I., Dittrich, M., Prolongované farmaceutické systémy s kyselinou listovou. 31. Technologické dni, Piešťany, přednáška, 2003
- Klein, T., Martinac, A., Dittrich, M., In vitro liberation of folic acid from composite chitosan films. Farmaceutski Vestnik, 2003, 54, 423-4
- Dittrich, M., Kladníčková, I., Klein, T., Microspheres fabricated from branched oligoester by a rapid procedure. Farmaceutski Vestnik, 2003, 54, 425-6

## 10. SOUHRN

V práci je řešena formulace biodegradabilních injektabilních reotropních matric s kyselinou listovou. Je prezentován přehled nejdůležitějších současných poznatků o polyesterech hydroxykyselin a využití kyseliny listové v moderní medicíně, o vlastnostech, stabilitě a degradaci biodegradabilních nosičů, o formulaci lékových forem a přípravků s důrazem na implantabilní systémy. Pro formulaci potenciálně léčivých přípravků byly použity biodegradabilní oligoesterové a polyesterové nosiče s různým stupněm větvení syntetizované na školicím pracovišti (katedra farmaceutické technologie Faf UK v Hradci Králové). Studované systémy (matrice) byly složeny z nosiče, kyseliny listové a aditiv sloužících k plastifikaci nebo zesílení systémů. Byly studovány reologické vlastnosti připravených matric, jejich bobtnání a eroze, průběh a celkový rozsah liberace kyseliny listové z matric. Plastifikované systémy se chovají většinou jako newtonovské kapaliny, výjimkami jsou systémy s tributylcitrátem, které mají výrazně pseudoplastický tok a systémy s laktáty, které mají slabou tendenci k dilatantnímu toku. Směsi plastifikátorů mají aditivní vliv na viskozitu. Plastifikátor ovlivní erozi ve značném rozsahu. Především laktáty solubilizují určité frakce oligoesterového nosiče. Změna hodnoty pH média z 6,0 na 7,0 má malý vliv na erozi systému, tento vliv není pro všechny systémy jednoznačně interpretovatelný. Velikost erodujícího tělesa má vliv na děj především v počáteční fázi. Na průběh a rozsah bobtnání má vliv velikost bobtnajícího tělesa. Plastifikátor zvyšuje stupeň bobtnání především v počáteční fázi. Změna aktuální acidity média z pH 6,0 na pH 7,0 má, na rozdíl od eroze, velmi významný vliv na bobtnání nosiče. I když vliv tohoto faktoru nebyl jednoznačný, ve velké většině případů byl dosažen vyšší stupeň bobtnání při pH 7,0 jako důsledek ionizace koncových karboxylů. Liberace z injekčně implantovatelných matric je ovlivněna volbou plastifikátoru a jeho koncentrací. Směs butyllaktátu se stejným dílem triethylcitrátu použitá ve 30 % koncentraci vedla k formulaci matric s příliš vysokou rychlostí liberace léčiva. Polyethyleniminy přidané do nosiče působily síťovacím efektem tak, že spojovaly koncové karboxyly a vedly k prolongaci liberace kyseliny listové. Na základě výsledků lze konstatovat, že mezi viskozitou nosičů, jejich bobtnáním, erozí a liberací kyseliny listové nebyly nalezeny výraznější souvislosti.

This work deals with formulation of biodegradable injectable reotropic matrices with folic acid. The survey presents the most important currently relevant items of polyesters from hydroxyacids as well as use of folic acid in modern medicine, properties, stability and degradation of biodegradable carriers, formulation of drug forms and preparations with accent to implantable systems. For the formulation of potential therapeutic formulations there were used biodegradable oligoester and polyester carriers in different stages of branching synthesized on the academic department (Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Charles University in Hradec Králové). The studied systems were composed of a carrier, folic acid and additives serving for plastification or cross-linking of the systems. The subject of this study includes rheologic properties of the prepared matrices, their swelling, erosion and behavior, and the total scope of liberation of folic acid from the matrices. Plasticized systems behave mostly as Newtonian fluids, except systems with tributyl citrate which have a markedly pseudoplastic flow and systems with lactates which have weak tendency to a dilatant flow. Mixtures of plasticizers have an additive effect on viscosity. A plasticizer effects erosion in a wide range. Especially lactides solubilize specific fractions of an oligoester carrier. Change in the medium pH value from 6.0 to 7.0 has little effect on the erosion of the system, this effect is not explicitly construable for all systems. The size of an eroding solid has effect on the action particularly in the initial phase. What effects the behaviour and range of swelling is the swelling solid size. A plasticizer increases the range of swelling especially in the initial phase. A change in relevant acidity of the medium from 6.0 to 7.0 has, unlike erosion, a very important effect on swelling of the carrier. Although the effect of this factor was not evident, in most cases a higher range of swelling was achieved at pH 7.0 as a result of ionization of terminal carboxyl groups. Liberation from injectable implantable matrices is influenced by our choice of a plasticizer and its concentration. Mixture of butyl lactate with the same amount of triethyl citrate used in 30 % concentration led to formulation of matrices where the speed of drug liberation was too high. Polyethylenimines added to the carrier caused cross-linking by connection of terminal carboxyl groups and led to prolongation of folic acid liberation. On the basis of these results it can be enunciated that no relations of conspicuous character which would link viscosity of carriers, their swelling, erosion and liberation of folic acid have been found.