



TEZE DIZERTAČNÍ PRÁCE

ŘÍZENÉ UVOLŇOVÁNÍ LÉČIV Z BIODEGRADABILNÍCH
HYDROGELŮ

Brno 2018

Ing. Jana Oborná

ABSTRAKT

Předkládaná dizertační práce je zaměřena na řízené uvolňování léčiv z biodegradabilních amfifilních hydrogelů na bázi kopolymeru hydrofobní kyseliny poly(mléčné) a poly(glykolové) a hydrofilního polyethylenglykolu (PLGA-PEG-PLGA, ABA) a jeho modifikace anhydridem kyseliny itakonové (ITA). Výsledný α,ω -itakonyl(PLGA-PEG-PLGA) je označován v této práci jako ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA neboli ITA/ABA/ITA. Kyselina itakonová poskytuje reaktivní dvojně vazby a funkční karboxylovou skupinu na koncích řetězce PLGA-PEG-PLGA kopolymeru, čímž se modifikovaný kopolymer ITA/ABA/ITA stává méně hydrofobním a nabízí tak možnost tvořit nosič i pro léčivé látky hydrofilní povahy. Tyto funkční kopolymery jsou citlivé na teplo a změnou vnějšího prostředí (teploty) vykazují sol-gel fázový přechod díky vzniku micelární struktury gelu. Léčivé látky tak mohou být smíchány s kopolymerem, který je v nízko viskózní fázi (sol fáze) a následně tato směs může být injektována do těla pacienta na cílové místo, kde vytvoří gel při 37 °C. Tento hydrogel se stává zásobníkem léčivé látky, odkud se postupně substance uvolňuje. Predikce trendu uvolňování léčivé látky z hydrogelu je účinný nástroj pro zjištění frekvence podávání, zvýšení účinnosti léčiva a také pro zjištění nežádoucích účinků spojené s dávkováním.

Jako hydrofilní modelové léčivo bylo vybráno analgetikum paracetamol. Zástupce hydrofobního modelového léčiva bylo použito sulfonamidové antibiotikum sulfathiazol. Přidání léčivé látky do roztoku kopolymeru mělo následně významný vliv na výslednou tuhost hydrogelu. Vliv na tuhost hydrogelu a následnou stabilitu systému mělo použití nanohydroxyapatitu i různých rozpouštědel resp. inkubačních médií. Řízené uvolňování léčiv probíhalo v simulovaných podmínkách lidského těla.

Tato práce se zabývá ověřením Korsmeyer-Peppasova modelu vhodného pro popis uvolňování hydrofobního modelového léčiva sulfathiazolu z hydrogelu ABA i ITA/ABA/ITA. Naopak bylo prokázáno, že Korsmeyer-Peppasův model není vhodný pro popis uvolňování hydrofilního léčiva paracetamolu z ABA hydrogelů, proto byl navržen nový regresní model, vhodný jak pro pufrované simulované prostředí, tak i pro vodu. Tento model byl také ověřen za velmi těsný i pro popis uvolňování sulfathiazolu i paracetamolu z kompozitního materiálu připraveného z ABA hydrogelu a nanohydroxyapatitu.

KLÍČOVÁ SLOVA

hydrogel, PLGA-PEG-PLGA kopolymer, profil uvolňování léčiv, léčiva, Korsmeyer-Peppasův model

ABSTRACT

This dissertation is focused on the controlled release of drugs from a biodegradable amphiphilic hydrogel based on hydrophobic poly(lactic acid), poly(glycolic acid) and hydrophilic poly(ethylene glycol) (PLGA-PEG-PLGA, ABA) and its modification with itaconic anhydride (ITA). The resulting α,ω -itaconyl(PLGA-PEG-PLGA) copolymer is referred to as ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA or ITA/ABA/ITA. Itaconic acid provides reactive double bonds and a functional carboxyl group at the ends of the PLGA-PEG-PLGA copolymer chain, thereby rendering the modified ITA/ABA/ITA copolymer less hydrophobic and offering the possibility of forming a carrier for hydrophilic drug substances. These functional copolymers are thermosensitive and change in the external environment (e.g. temperature) causes a sol-gel phase transition due to the formation of micellar structure. The bioactive substances can thus be mixed with a copolymer which is in a low viscous phase (sol phase) and subsequently the mixture can be injected into patient's body at the target site where it forms a gel at 37 °C. This hydrogel becomes a drug depot, which gradually releases the active substance. Prediction of the substance's release profile from the hydrogel is an effective tool to determine the frequency of administration, potentially enhancing efficacy, and assessment of side effects associated with dosing.

The analgesic paracetamol and the sulfonamide antibiotic sulfathiazole were used as model drugs, representing hydrophilic and hydrophobic substances, respectively. The active substances had a significant effect on the resulting hydrogel stiffness. Type of solvent, incubation medium and nanohydroxyapatite also influenced on the gel stiffness and subsequent stability of the hydrogel-drug system. Controlled release of drugs took place in simulated conditions of the human body.

Verification of Korsmeyer-Peppas (KP) drug-release model is also discussed in this thesis. The KP model was found suitable for simulating the release of sulfathiazole from ABA and ITA/ABA/ITA hydrogels. On the contrary, the performance of KP model was not suitable for describing the release of paracetamol from the ABA hydrogels. Therefore, a new regression model suitable for both buffered simulated media and water has been proposed. The proposed model fitted better the release of both sulfathiazole and paracetamol from composite material prepared from ABA hydrogel and nanohydroxyapatite.

KEYWORDS

hydrogel, PLGA-PEG-PLGA copolymer, drug release profile, drugs, Korsmeyer-Peppas model

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| ÚVOD | 5 |
| TEORETICKÁ ČÁST | 7 |
| 1.1 Hydrogely..... | 7 |
| 1.2 Hydrogely na bázi polyethylenglykolu a polyesterů | 7 |
| 1.2.1 Hydrogely citlivé na teplo | 7 |
| 1.2.2 Charakteristika PLGA-PEG-PLGA..... | 8 |
| 1.2.3 Využití PLGA-PEG-PLGA při uvolňování léčivých látek | 8 |
| 1.2.4 Využití ITA/ABA/ITA kopolymerů pro biomedicínské aplikace..... | 8 |
| 1.3 Systémy s kontrolovaným uvolňováním léčiva | 9 |
| 1.4 Mechanismus uvolňování léčiv z polymerní matrice..... | 9 |
| 1.5 Profil uvolňování léčivých látek..... | 10 |
| 1.5.1 Výběr kinetického modelu pro uvolňování léčiv | 11 |
| 2 CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE | 13 |
| 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 14 |
| 3.1 Design testu..... | 15 |
| 3.2 Příprava vzorků pro sledování uvolňování léčiv | 15 |
| 3.3 Analýza léčiv..... | 16 |
| 3.4 Dynamická reologická analýza | 16 |
| 4 VYBRANÉ PODSTATNÉ VÝSLEDKY DIZERTAČNÍ PRÁCE | 17 |
| 4.1 Stabilita systémů hydrogel-léčivo a kompozitů hydrogel-léčivo-nHAp.. | 17 |
| 4.2 Uvolňování léčiv..... | 20 |
| 5 ZÁVĚR | 27 |
| 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ | 29 |
| 7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ | 33 |

ÚVOD

Lékové systémy zaměřené na kontrolované uvolňování léčiv umožňují efektivněji využívat léčivé látky a snížit četnost a celkové množství podávaného léčiva. Tímto lze dosáhnout zvýšení komfortu pacientů, snížení množství nežádoucích účinků a celkové spotřeby léčiv, což se může pozitivně promítnout při terapii široké škály různých onemocnění a také na zatížení životního prostředí léčivy. Z uvedených důvodů se v posledních letech na toto téma zaměřuje stále více odborných studií [1–8]. Systémy s kontrolovaným uvolňováním léčiv by měly dosáhnout delšího farmakologického efektu (dny, měsíce, roky) bez významné fluktuační koncentrace léčivé substance v krevní plazmě, jak je tomu u běžného podávání nízkomolekulárních léčiv [9]. Ideální lékový systém s řízeným uvolňováním by měl uvolňovat aktivní substanci tak, aby bylo téměř okamžitě dosaženo terapeutické koncentrace a nadále již uvolňovat jen potřebné množství léčiva pro udržení této koncentrace podle kinetiky nultého řádu [10].

V průběhu let se ve výzkumu zaměřeného na řízené uvolňování léčiv se stále více začaly využívat biodegradabilní syntetické (ko)polymery. Jejich výhodou ve srovnání s přírodními polymery je možnost navrhnout jejich složení, mechanické vlastnosti a kinetiku rozpadu samotného (ko)polymeru [10]. Léčivo navázané na polymerní nosič může v organismu cirkulovat řádově mnohem delší dobu díky vysoké molekulové hmotnosti a struktuře polymerního nosiče [9]. Jako velmi atraktivní se ukázaly tzv. „chytré“ (ko)polymery, které jsou schopny reagovat na změnu vnějších podmínek okolí změnou svých fyzikálně-chemických vlastností. Mezi tzv. „chytré“ polymery citlivé na teplo jsou řazeny i kopolymery na bázi hydrofobní kyseliny poly(mléčné), poly(glykolové) a hydrofilního polyethylenglykolu (PLGA-PEG-PLGA, ABA), které ve vodném prostředí tvoří hydrogel. Tyto amfifilní termocitlivé kopolymery jsou velmi atraktivní pro biomedicínské aplikace díky sol-gel fázovým přechodům, ke kterým dochází vlivem změny okolní teploty. Léčivá látka tak může být přidána do nízko viskózní fáze (sol fáze) za běžné laboratorní teploty a následně může být roztok vpraven do těla pacienta, kde se ze solu stane hydrogel. Ve srovnání s jinými syntetickými biomateriály, biodegradabilní hydrogely připomínají díky svým fyzikálním vlastnostem, relativně vysokému obsahu vody a měkké „gumové“ konzistenci živé tkáně [11].

V dnešní době jsou již komerčně dostupné produkty na bázi PLGA-PEG-PLGA kopolymerů pod názvy ReGel[®] a OncoGel[®]. Tyto tepelně citlivé kopolymery jsou využívány a nadále studovány k řízenému uvolňování léčivých látek hydrofobní povahy (paclitaxel, doxorubicin, indomethacin), ale i pro vysokomolekulární aktivní substance hydrofilní povahy (inzulín, exenatid). Vlivem změny okolní teploty PLGA-PEG-PLGA triblokové kopolymery ve vodném prostředí vytvářejí micelární struktury s hydrofobním (PLGA) jádrem a hydrofilním povrchem polyethylenglykolu (PEG). Hydrofilní léčiva vykazují převážně afinitu k hydrofilnímu PEGu a jejich uvolňování z matrice hydrogelu se děje pomocí prosté difúze. Naopak látky lipofilního charakteru vykazují afinitu k hydrofobnímu PLGA jádru. Mechanismus uvolňování hydrofobních léčiv tak zahrnuje erozi/degradaci hydrogelové matrice a následnou difúzi [1].

I přes nesporné výhody vykazují ABA blokové kopolymery několik zásadních nedostatků. Ve své struktuře obsahují pouze jeden typ funkčních skupin (–OH skupiny), které tento materiál limitují v dalších reakcích s biologicky aktivními látkami [12]. V roce 2010 byla Michlovskou a kol. publikována studie zabývající se modifikací PLGA-PEG-PLGA kopolymeru pomocí anhydridu kyseliny itakonové. Kyselina itakonová poskytuje řetězci

funkční karboxylovou skupinu a reaktivní dvojně vazby pro možnost případného chemického zesílení [13]. Množstvím navázané itakonové kyseliny na řetězec ABA kopolymeru lze ovlivnit celkovou hydrofobicitu blokového kopolymeru [13] a také následnou stabilitu ITA/ABA/ITA hydrogelů ve vodném prostředí [12; 14].

Dalším nedostatkem PLGA-PEG-PLGA fyzikálních hydrogelů je jejich stabilita. Stabilita ABA fyzikálních hydrogelů pro uvolňování léčivých látek byla prozatím pozorována řádově v hodinách až týdnech [2–8], což nemusí být pro terapii některých onemocnění dostačující. Prodloužení uvolňování léčivé látky lze vyřešit enkapsulací bioaktivní substance do „core-shell“ částic kopolymeru a vytvořit tak systém, který substanci uvolňuje v několika stupních během rozpadu samotných částic [2]. Liberaci léčivé látky lze také prodloužit přípravou kompozitních materiálů obsahujících hydrofobní biokompatibilní nanočástice, které se zabudovávají do hydrofobního PLGA jádra během tvorby micelárních struktur a zvyšují tím celkovou tuhost a stabilitu výsledného kompozitu. Tepelně citlivých vstřikovatelných kompozitních materiálů na bázi ABA kopolymerů a nanočástic hydroxyapatitu lze úspěšně využít například při léčbě tříštivých fraktur kostí [15].

Předkládaná dizertační práce se zabývá sledováním uvolňování léčiv z biodegradabilních fyzikálních hydrogelů založených na termosensitivních kopolymerech PLGA-PEG-PLGA a ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA tvořících gel při teplotě lidského těla 37 °C. Hlavním cílem práce bylo ověřit, zda modifikace kopolymeru kyselinou itakonovou má významný vliv na profil uvolňování léčivých látek různého lipofilního charakteru z fyzikálních ITA/ABA/ITA hydrogelů a jejich potenciální využití, jako nosičů hydrofilních nízkomolekulárních léčivých látek. Fyzikálně přidaná léčiva měla významný vliv na celkovou stabilitu systému hydrogel-léčivo v různých prostředích. Významný vliv na prodloužení liberace léčivých látek mělo i přidání nanohydroxyapatitu do systému ABA hydrogel-léčivo.

TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Hydrogely

Za hydrogely jsou označovány polymerní sítě hydrofilního nebo amfifilního charakteru, které jsou schopny absorbovat a udržet značné množství vody při zachování svého tvaru. Díky těmto vlastnostem nabývají na významu jako biomateriály pro potenciální biomedicínské aplikace. Hydrogely dnes již běžně nacházejí své uplatnění v lékařství a v biomedicíně v podobě kontaktních čoček, hrudních implantátů, umělých orgánů, bio-lepidel a bio-senzorů. Farmacie postupně začíná využívat vlastností hydrogelů, a to ve formě obvazů na popáleniny a pro řízené uvolňování léčivých látek [16, 17]. Obecně lze hydrogely rozdělit do dvou skupin. Chemické hydrogely vznikají tvorbou kovalentních vazeb. Fyzikální hydrogely jsou tvořené sekundárními silami jako jsou hydrofobní interakce, vodíkové vazby, iontové interakce, Coulombovy interakce, stereoselektivní interakce [18].

1.2 Hydrogely na bázi polyethylenglykolu a polyesterů

Kopolymerizace hydrofilního, biokompatibilního polyethylenglykolu (PEG) s biodegradabilními a zároveň biokompatibilními polyesterů poskytuje velmi zajímavé systémy hydrogelů citlivých na teplo. PLGA/PEG blokové kopolymery začaly hrát významnou roli, neboť podléhají biodegradaci a mají mimořádnou schopnost enkapsulace (zapouzdření, obalení) a uvolňování biologických látek [19].

1.2.1 Hydrogely citlivé na teplo

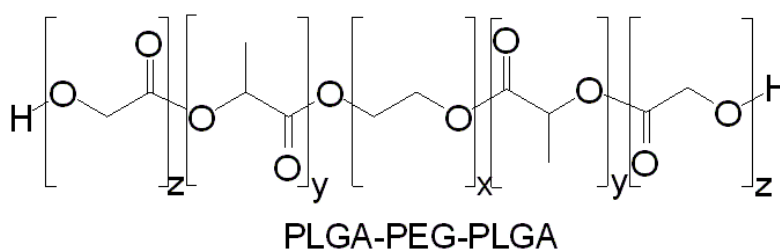
Teplotu lze pokládat za nejrozšířenější používaný environmentální stimul pro tzv. „chytré“ polymery. Změna teploty je relativně snadno kontrolovatelná a rovněž snadno použitelná pro testy jak *in vitro*, tak *in vivo* [20, 21].

Společnou charakteristickou vlastností polymerů citlivých na teplo je přítomnost hydrofobní skupiny ve struktuře řetězce polymeru, jako je methyl-, ethyl- nebo propylskupina. Ve většině případů těchto polymerů se rozpustnost ve vodě zvyšuje se zvyšující se teplotou. Výjimku tvoří tzv. polymery s nízkou kritickou teplotou roztoku, jejichž rozpustnost ve vodě se snižuje se zvyšující se teplotou. Toto chování hydrogelů je popisováno v literatuře jako chování inverzní. Fyzikální hydrogely s inverzním chováním mají hlavní řetězec polymeru vytvořený z mírně hydrofobních skupin, nebo obsahují směs hydrofilních a hydrofobních segmentů. Při nízké teplotě jsou vodíkové vazby mezi hydrofilními částmi řetězce a molekulami vody dominantní a vedou tak ke zlepšení rozpustnosti ve vodném prostředí. Během zahřívání vodného prostředí dochází k oslabení vodíkových vazeb a naopak k posílení vazeb mezi hydrofobními segmenty. Na základě tohoto chování hydrogelů citlivých na teplo potom dělíme hydrogely na tzv. negativně citlivé na teplo, pozitivně citlivé na teplo a na termoreverzibilní gely [20]. Hydrogely negativně citlivé na teplo se smršťují se zvyšující se teplotou. Naopak pozitivně citlivé hydrogely botnají [19]. Toto chování fyzikálních hydrogelů je reverzibilní a odpovídá postupným změnám teploty okolního prostředí [20]. Díky schopnostem hydrogelů botnat nebo se smršťovat v důsledku změny okolní teploty tekutiny získaly značnou pozornost a využití ve farmaceutické oblasti. V rámci

četných výzkumů byly studovány různé aplikace těchto hydrogelů, jako je regulace uvolňování léčivých látek a vývoj biosensorů [22, 23].

1.2.2 Charakteristika PLGA-PEG-PLGA

Zenter a kol. (2001) jako první syntetizovali biodegradabilní triblokový kopolymer na bázi poly(mléčné) a poly(glykolevé) kyseliny a polyethylenglykolu (PLGA-PEG-PLGA) [24]. Tento typ kopolymeru byl registrován pod značkou ReGel[®] a byl vyvinut jako biologicky odbouratelný systém pro řízené uvolňování léků. Roztok PLGA-PEG-PLGA kopolymeru je za běžné pokojové teploty tekutý. Pouze při vpravení do prostředí s fyziologickou teplotou se z něho postupně stává gel. Postupná degradace gelu umožnila řízené uvolňování léčiva v rozmezí 1 až 6 týdnů. Těmito vlastnosti je ReGel[®] vhodný pro lokální aplikaci nebo systematické podávání léků [19].



Obrázek 1 – Strukturální vzorec triblokového kopolymeru PLGA-PEG-PLGA

1.2.3 Využití PLGA-PEG-PLGA při uvolňování léčivých látek

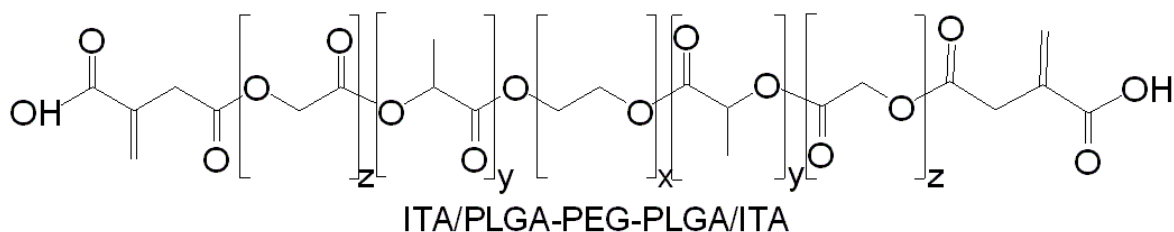
Uvolňování léčivých látek z kopolymeru PLGA-PEG-PLGA (ABA) již bylo popsáno v mnoha odborných článcích. Převážně jsou zaměřeny na uvolňování problematických léčivých látek, které jejich časté podávání pacientům způsobuje diskomfort.

Tabulka 1: Přehled léčivých látek testovaných na uvolňování z PLGA-PEG-PLGA

| Léčivá látka | Doba uvolňování | Literární zdroj |
|-------------------------------------|-----------------|-----------------|
| Exenatid | 1 týden | [8] |
| Inzulín | 14 dnů | [6] |
| Paclitaxel | 6 týdnů | [11] |
| Ricin | 18 dnů | [25] |
| Docetaxel | 3 týdny | [3] |
| Topotekan | 5 dnů | [5] |
| Hydrazid kyseliny isonikotinové | 124 hodin | [2] |
| Acetát dexamethasonu | 1,67 hodin | [4] |
| Naltrexon + vitamin B ₁₂ | 29 dnů | [7] |

1.2.4 Využití ITA/ABA/ITA kopolymerů pro biomedicínské aplikace

Modifikace triblokového kopolymeru PLGA-PEG-PLGA anhydridem kyseliny itakonové (ITA) (3-methylentetrahydrofuran-2,5-dion) se může ukázat jako významné pro různorodé biomedicínské aplikace. Hlavní výhodou ITA je poskytnutí karboxylové skupiny do řetězce kopolymeru. Tyto karboxylové skupiny pak mohou sloužit jako vazebné místo pro léčivou látku. Dvojně vazby, které rovněž ITA poskytuje, jsou nezbytné pro chemické zesílení. Modifikovaný kopolymer ITA se tak stává citlivý na světlo, na teplo a na pH. Fyzikální hydrogel ITA/ABA/ITA vzniká díky vodíkovým vazbám, případně iontovým interakcím například s Ca²⁺ ionty [26].

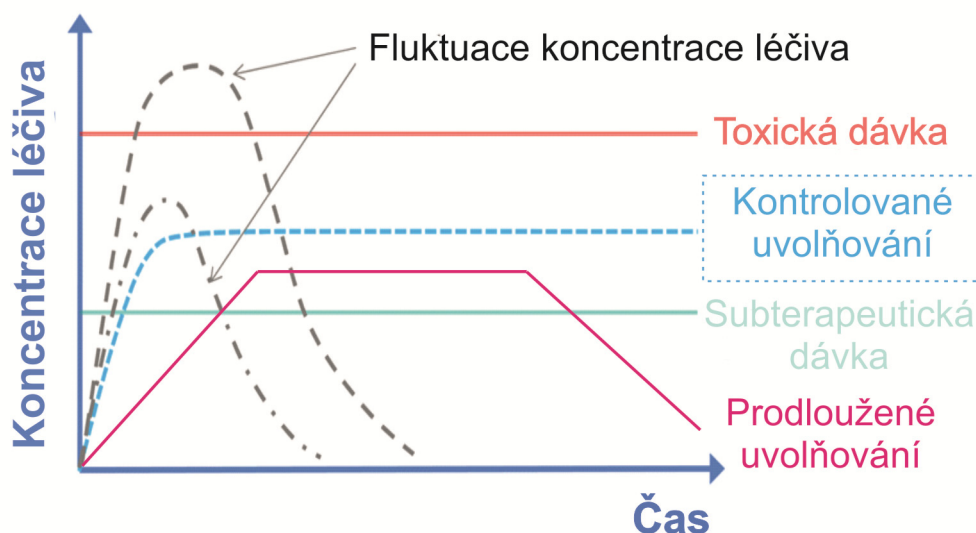


Obrázek 2 – Strukturální vzorec triblokového kopolymeru ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA

1.3 Systémy s kontrolovaným uvolňováním léčiva

Systémy s řízeným (kontrolovaným) uvolňováním udržuje konstantní hladinu léčivé látky v krevní plazmě nebo tkáni pomocí kinetiky prvního řádu po dobu několika dní až měsíců a umožňuje uvolnění léčiva na cílovém místě [27].

To znamená, že pro jiné, zdravé části organismu tím výrazně klesá toxicita léčivé látky, a to o jeden až dva řády. Díky tomu, lze podávat daleko vyšší dávky, které mají lepší účinek na cílovou tkáň [9].



Obrázek 3 - Schématické znázornění fluktuace koncentrace léčiva při konvenčním podávání v porovnání s kontrolovaným a prodlouženým uvolňováním [27]

1.4 Mechanismus uvolňování léčiv z polymerní matrice

Mechanismus uvolňování léčiva z polymerní matrice může být popsán dvěma mírně odlišnými způsoby. První způsob popisuje transport molekuly léčiva přes polymerní matrici. Druhý způsob popisuje již přímé uvolňování léčiva do okolního prostředí. Jak transport molekuly léčiva přes polymerní matrici, tak i jeho samotné uvolnění z matrice určuje rychlost uvolňování.

Molekula léčiva se může ze systému uvolnit několika způsoby. Fredenbergová a kol. [28] studovali mechanismus uvolňování systémů s postupným uvolňováním, založené na PLGA. PLGA systém ponořený do vody okamžitě absorbuje vodu, která nastartuje hydrolýzu, štěpení esterových vazeb i následné snížení molekulové hmotnosti (M_w). Tímto štěpením se tvoří kyseliny, které způsobují kyselou hydrolýzu uvnitř systému. Jakmile jsou produkty

hydrolyzy rozpustné a schopny difundovat ven ze systému, začíná proces eroze [28].

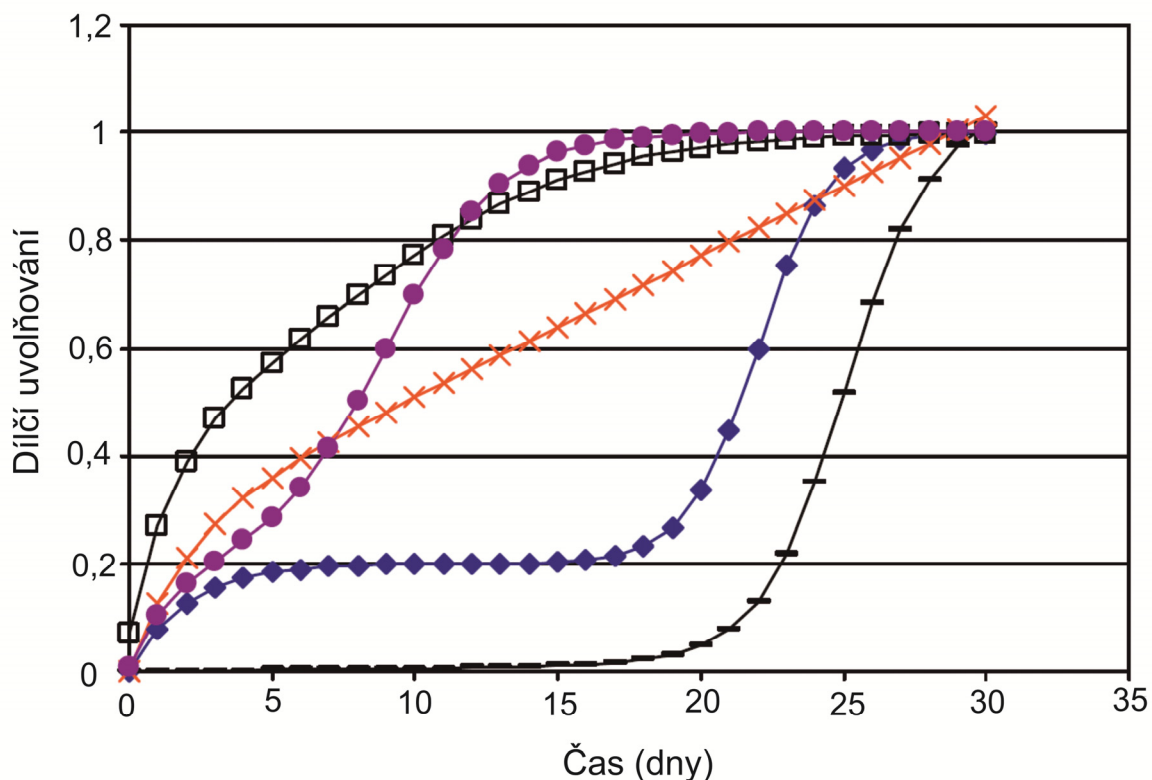
Na procesy, probíhající v matrici polymeru mohou mít vliv i přidaná léčiva a další aditiva (soli, povrchově aktivní látky, atd.). Vlastnosti léčiva, zejména pak jejich polarita, může změnit vlastnosti původního polymeru. Dále také léčiva kyselé povahy mohou zvyšovat kyselou hydrolyzu a naopak přídavek léčiva zásadité povahy může kyselou hydrolyzu zpomalovat až případně neutralizovat kyselé produkty hydrolyzy.

Uvolňování léčiva z polymerní matrice proto závisí na vlastnostech polymeru, léčiva a jejich vzájemných interakcích [28].

1.5 Profil uvolňování léčivých látek

Profil uvolňování léčivých látek je někdy používán jako základ pro vyhodnocení mechanismu účinku celého systému. Fredenbergová a kol. (2011) popsali profily uvolňování léčiv, které jsou složené z několika fází. Jednofázové uvolňování je velmi vzácné. Mnohem častějšími profily uvolňování léčivých látek jsou profily dvoufázové nebo třífázové. Velké systémy (částice) často vykazují třífázový systém uvolňování, a to vzhledem k heterogenní degradaci. Naopak u malých systémů (částic) bývá velmi často pozorováno dvoufázové uvolňování [28].

První fáze v třífázovém uvolňování je obvykle popisována jako návalové uvolňování léčiva, které je spojené s uvolněním léčiva z povrchu systému, případně s uvolněním molekul léčiva, které se nachází blízko pod povrchem systému a ze systému se uvolní pomocí hydratace systému. Další důvod návalového uvolňování léčiva je spojen s vytvořením prasklin a s celkovou dezintegrací systému. Ve druhé fázi se léčivo pozvolna uvolňuje pomocí difúze přes existující póry. Během této fáze se polymer dále hydratuje a degraduje. Třetí fáze je poměrně často nazývána druhým návalovým uvolňováním, které je rovněž velmi rychlé a je založeno na celkové erozi systému. Jestliže je druhá fáze uvolňování velmi rychlá, může být naopak třetí fáze velmi pozvolná. Příklady různého průběhu uvolňování jsou zobrazeny na obrázku 4 [28].



Obrázek 4 – Profily uvolňování skládající se z různých fází. Otevřené čtverce: návalové uvolňování a rychlá druhá fáze. Fialové kruhy: trojfázové uvolňování s krátkou druhou fází. Kříže: Návalové uvolňování a uvolňování dle kinetiky nultého řádu. Modré kosočtverce: třífázové uvolňování. Čárky: dvojfázové uvolňování, totožné s třífázovým uvolňováním, ale bez počátečního návalového uvolňování [28]

1.5.1 Výběr kinetického modelu pro uvolňování léčiv

Schématu uvolňování lze rozdělit na ty, která popisují pomalé uvolňování léčiva při kinetice nultého nebo prvního řádu. Další vzorce popisují rychlé počáteční uvolňování, které je následováno prodlouženým uvolňováním, jež lze opět popsat kinetikou nultého nebo prvního řádu. Hlavním účelem systémů s řízeným uvolňováním léčiv je udržovat koncentraci léčivé látky v krvi, nebo v cílové tkáni na požadované hodnotě po definovaný čas. Obecně proto systémy s řízeným uvolňováním léčiva na počátku uvolní takovou dávku, aby bylo v co nejkratším časovém úseku dosaženo efektivní terapeutické koncentrace. Následně pak systém uvolňuje tzv. udržovací koncentraci léčivé látky, aby byla efektivní terapeutická koncentrace této látky udržena po požadovanou dobu.

Na základě literární rešerše [29-36] byl vybrán Korsmeyer-Peppasův model, který popisuje uvolňování léčivé látky z polymerní matrice válcovitého tvaru. Tento jednoduchý vztah, který byl odvozen v roce 1983 [37] uvádí rovnice (1)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n \quad (1)$$

kde $\frac{M_t}{M_\infty}$ je poměr uvolněného léčiva v čase t ;

k je rychlostní konstanta;

n je exponent uvolňování.

Hodnota exponentu n je používána k charakterizaci různého mechanismu uvolňování léčiva z matrice válcovitého tvaru. Hodnoty n pro různé mechanismy uvolňování léčiva jsou popsány v tabulce 2. Pro zjištění exponentu n je třeba použít část přímky, kde je podíl M_t/M_∞ menší než hodnota 0,6 [37].

Tabulka 2: Interpretace difúzního mechanismu uvolňování z polymerní matrice [37]

| Exponent uvolňování (n) | Mechanismus transportu léčiva | Rychlost jako funkce času |
|---|---|----------------------------------|
| 0,5 | Fickova difúze | $t^{-0,5}$ |
| $0,45 < n < 0,89$ | transport probíhající jinou cestou, než je Fickova difúze | t^{n-1} |
| 0,89 | případ II. transportu | uvolňování 0. řádu |
| větší než 0,89 | super případ II. transportu | t^{n-1} |

2 CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE

Cílem této dizertační práce je sledování uvolňování léčivých látek z biodegradabilních hydrogelů. Prvním typ hydrogelu je založen na tepelně citlivém triblokovém kopolymeru PLGA-PEG-PLGA, který je tvořen hydrofobní poly(mléčnou) a poly(glykolovou) kyselinou (PLGA) a hydrofilním polyethylenglykolem (PEG). Druhý typ hydrogelu je založen na modifikaci PLGA-PEG-PLGA kopolymeru anhydridem kyseliny itakonové (ITA) (ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA). Modifikací získávají konce řetězce kopolymeru karboxylové skupiny, které mohou ovlivňovat celkovou hydrofobicitu kopolymerního řetězce a následně i profil uvolňování léčivých látek.

Jednotlivé kroky předkládané dizertační práce jsou shrnuty v následujících bodech:

- Volba nízkomolekulárních modelových léčiv rozdílného lipofilního charakteru.
- Vytvoření a optimalizace LC/MS metod pro stanovení vybraných léčiv.
- Výběr PLGA-PEG-PLGA a ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA kopolymerů s vhodnými poměry PLGA/PEG s podmínkou tvorby gelu při teplotě 37 °C.
- Reologická charakterizace systému hydrogel-léčivo ve vodě a v PBS o hodnotě pH 7,4.
- Posouzení vlivu přídavku léčiva na celkovou stabilitu systému hydrogel-léčivo.
- Prodloužení liberace léčiva přídavkem nanočástic hydroxyapatitu.
- Ověření vhodnosti kinetického modelu, který byl vybrán na základě literární rešerše pro popis uvolňování hydrofobního léčiva.
- Návrh jiného regresního modelu pro popis uvolňování léčiv a jeho ověření.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

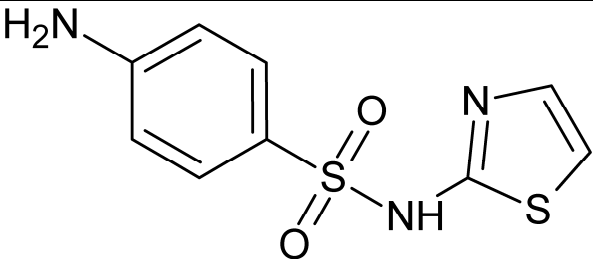
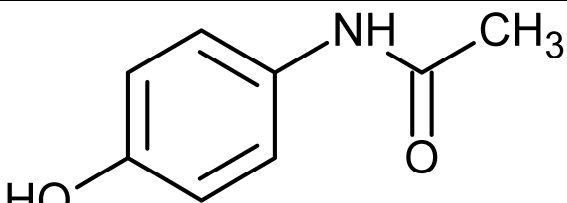
V tabulce 3 se nachází charakteristika připravených kopolymerů, které v rámci spolupráce připravila Ing. Ivana Chamradová Ph.D. (CEITEC, Brno) prostřednictvím polymerace otevřeného kruhu podle Michlovské a kol. [13]. Stanovení M_n a polydisperzita (PDI) bylo provedeno pomocí GPC na komerčně dodávaném polystyrenovém standardu. Dále byly na Ústavu materiálů (FCH, VUT Brno) ověřeny parametry: M_n , poměry PLGA/PEG, LA/GA a modifikace kyselinou itakonovu pomocí ^1H NMR. Zvolené koncentrace kopolymerů byly vybrány na základě předchozí řešené studie, jejichž výsledky autorka dizertační práce publikovala v roce 2016 [14].

Tabulka 3: Charakterizace kopolymerů použitých jako nosiče pro léčiva

| typ | poměr PLGA/PEG | poměr LA/GA | M_n (g·mol ⁻¹) | PDI | testovaná koncentrace (hm./obj.%) |
|-------------|----------------|-------------|------------------------------|------|-----------------------------------|
| ABA | 2,0 | 2,9 | 4 500 | 1,15 | 22 |
| ABA | 2,4 | 2,9 | 5 050 | 1,15 | 12 |
| ITA/ABA/ITA | 2,4 | 2,9 | 5 200 | 1,15 | 22 |

V tabulce 4 jsou uvedeny strukturální vzorce a názvy léčiv, které byly použity pro studování uvolňování léčivých látek z biodegradabilních hydrogelů. Sulfonamidové antibiotikum sulfathiazol, jako zástupce hydrofobního modelového léčiva. Analgetikum paracetamol, jako zástupce hydrofilního léčiva.

Tabulka 4: Vybraná testovaná modelová léčiva

| Sulfathiazol | Paracetamol |
|---|--|
|  |  |
| 4-amino- <i>N</i> -(thiazol-2-yl)benzensulfonamid | <i>N</i> -(4-hydroxyfenyl)ethanamid |

3.1 Design testu

Volba testovaných koncentrací v případě léčiva paracetamolu (PCM) vycházela z jeho velmi dobré rozpustnosti ve vodě. Za výchozí koncentrace PCM byly zvoleny 5 a 10 mg·ml⁻¹. Dalšími koncentracemi PCM bylo zvoleno ekvimolární množství léčiva k množství kopolymeru a také dvojnásobek ekvimolárního množství léčiva. V případě volby koncentrace sulfathiazolu bylo vycházeno z podobné úvahy. Přehled testovaných koncentrací léčiv a kopolymerů je uveden v tabulce 5. Výpočty navážek pro ekvimolární množství vycházely z M_n kopolymerů.

Tabulka 5: Přehled testovaných koncentrací léčiv a kopolymerů

| Kopolymer | Paracetamol (mg·ml ⁻¹) | | | | Sulfathiazol (mg·ml ⁻¹) | | |
|--------------------------------|---------------------------------------|------------------|-----------------|--------------------|--|-----------------|----|
| | 5 | 7,4 [*] | 10 | 14,7 ^{**} | 5 | - | - |
| ABA 22 hm./obj. % | 5 | 7,4 [*] | 10 | 14,7 ^{**} | 5 | - | - |
| ABA 12 hm./obj. % | 3,5 [*] | 5 | 7 ^{**} | - | 5 | 6 ^{**} | 10 |
| ITA/ ABA /ITA 22 hm./obj. % | 5 | 6,4 [*] | 10 | 13 ^{**} | 5 | 11 | - |

Pozn.

* ekvimolární množství

** 2 x ekvimolární množství

3.2 Příprava vzorků pro sledování uvolňování léčiv

Příslušné vypočtené množství xerogelu kopolymeru bylo naváženo do vialky. Následně bylo přidáno poloviční množství rozpouštědla (Milli-Q voda, nebo PBS). Směs byla míchána po dobu dvou dnů v ledové lázni při teplotě 4±1 °C, dokud se nevytvořil homogenní kapalný roztok kopolymeru. Do druhé poloviny rozpouštědla pak byl zamíchán paracetamol. Roztok paracetamolu se po kapkách z injekční stříkačky přidával do rozpuštěného kopolymeru.

Z takto připraveného roztoku kopolymeru bylo pipetováno 300 µl roztoku do další vialky, která byla vložena do inkubátoru. Inkubátor byl předem vytemperován na teplotu 37±1 °C. Vialka s roztokem kopolymeru byla ponechána v inkubátoru tak dlouho, dokud se z roztoku kopolymeru nestal gel. Na tuhý gel bylo aplikováno 700 µl inkubačního média, mající teplotu rovněž 37±1 °C. Následně byla odpipetována část inkubačního média (400 µl) podle zvoleného časového úseku a takto odňatá část byla nahrazena stejným množstvím čerstvého inkubačního roztoku, vytemperovaného opět na teplotu 37±1 °C. Vzorek odebraný pro daný časový úsek byl uskladněn v chladicím boxu a před samotnou analýzou byl podle potřeby naředěn a analyzován metodou LC/MS.

V případě přípravy vzorků obsahující sulfathiazol se postupovalo následovně. Příslušné vypočtené množství xerogelu kopolymeru bylo naváženo do vialky. Do stejné vialky byl také naváženo sulfathiazol. Následně byla za stálého míchání postupně přikapávána z injekční stříkačky Milli-Q voda nebo jiné příslušné vodné médium. Směs byla míchána po dobu dvou dnů v ledové lázni při teplotě 4±1 °C, dokud se nevytvořil homogenní kapalný roztok

kopolymeru obsahující léčivo. Další postup v přípravě a analýze vzorků byl zcela shodný se vzorky pro sledování uvolňování paracetamolu.

3.3 Analýza léčiv

Analýza léčiv probíhala pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí. Pro separaci léčiv byla použita kolona Restek Aqueous C18 (250×4,6 mm; 5 μm) s předkolonou Restek Aqueous C18 (4×2 mm, 5 μm). Termostat kolon byl nastaven na 35 °C. Mobilní fáze obsahovala 80 % složky A (0,1 % CH₃COOH) a 20 % složky B (acetonitril). Poměr složek mobilní fáze se během analýzy neměnil. Průtok mobilní fáze byl nastaven na 0,220 ml·min⁻¹.

Detekce sledovaných léčiv probíhala pomocí hmotnostního spektrometru v pozitivním módu. Cílová hmota pro detekci paracetamolu byla 152 m/z, cílová hmota sulfathiazolu 256 m/z.

3.4 Dynamická reologická analýza

Vizuálně bylo pozorováno, že přidavek léčiv do roztoku kopolymeru následně snižuje kritickou gelační teplotu (CGT z angl. Critical Gelation Temperature) celého systému. Proto také byly studovány termosenzitivní a mechanické vlastnosti kopolymerů PLGA-PEG-PLGA a ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA pomocí dynamického napětově řízeného reometru (AR-2 TA Instruments, USA) s geometrií kužel-deska o úhlu 2°, průměru 40 mm a mezerou 60 μm. Před každým měřením byl žlábek kuželu naplněn vodou tak, aby nedocházelo k odpaření roztoku a nepřesnosti výsledků. Měření probíhalo v dynamickém oscilačním módu s úhlovou frekvencí 1 rad/s s teplotní rampou od 20 do 60 °C, při zvyšování teploty 0,5 °C/min a při smykovém napětí 0,4 Pa [15].

4 VYBRANÉ PODSTATNÉ VÝSLEDKY DIZERTAČNÍ PRÁCE

V této kapitole jsou rozepsané pouze vybrané výsledky dizertační práce. V závěru jsou shrnuty všechny výsledky této práce.

4.1 Stabilita systémů hydrogel-léčivo a kompozitů hydrogel-léčivo-nHAp

Během testů uvolňování léčiva byla pozorována i stabilita hydrogelů, na které také závisí samotné uvolňování léčivé látky. V tabulkách 6 a 7 jsou zaznamenány stability hydrogelů a jejich hodnota pH před a po přidání léčivé látky. Systémy hydrogel-léčivo připravené v PBS vykazovaly nižší stabilitu, než hydrogely připravené v Milli-Q vodě. Významné zvýšení hodnoty pH hydrogelu po přidání zásaditého paracetamolu se projevilo pouze u hydrogelu připraveného z ABA kopolymeru v PBS rozpouštědle. Tabulka 8 uvádí hodnoty pH a stabilit kompozitů připravených z 12 hm./obj.% roztoku ABA kopolymeru, léčiva a nanočástic nHAp. Přídavkem nanočástic HAp se podařilo připravit kompozit, který byl stabilní po dobu 648 hodin tj. 27 dní.

Tabulka 6 : Přehled stability a hodnot pH 22 hm./obj.% ABA a ITA/ABA/ITA hydrogelů s paracetamolem (PCM) v různých prostředích (rozpuštědlo/inkubační médium).

| prostředí | ABA+PCM | | | ITA/ABA/ITA+PCM | | |
|--------------|---------|-----|-----------------|-----------------|-----|-----------------|
| | pH | | stabilita (hod) | pH | | stabilita (hod) |
| Milli-Q voda | 2,8* | 3,2 | 168 | 2,8* | 2,8 | 96 |
| PBS | 3,7* | 5,3 | 24 | 3,7* | 3,8 | 8,5 |

Tabulka 7: Přehled stability a hodnot pH 22 hm./obj.% ABA a ITA/ABA/ITA hydrogelu se sulfathiazolem (STA) v různých prostředích (rozpuštědlech/inkubačních médiích).

| prostředí | ABA+STA | | | ITA/ABA/ITA+STA | | |
|--------------|---------|-----|-----------------|-----------------|-----|-----------------|
| | pH | | stabilita (hod) | pH | | stabilita (hod) |
| Milli-Q voda | 2,8* | 2,9 | 48 | 2,8* | 2,9 | 120 |
| PBS | 3,7* | 4,2 | 48 | 3,7* | 3,8 | 24 |

Pozn. pH* - hodnota pH roztoku kopolymeru před přidáním léčiva

Tabulka 8: Přehled stability a hodnot pH 12 hm./obj.% ABA hydrogelu připraveného v PBS s přídavky nanohydroxyapatitu (nHAp) a léčivými látkami.

| 12 hm./obj.% ABA | pH | stabilita (hod) |
|------------------|-----|-----------------|
| + PCM | 6,1 | 96 |
| + PCM + nHAp | 6,6 | 168 až 240 |
| + STA | 4,1 | 120 až 144 |
| + STA + nHAp | 4,8 | 648 |

Změny termocitlivých vlastností a tuhost připravených systémů vyjádřených pomocí modulu pružnosti ve smyku G' byly ověřeny pomocí dynamické reologické analýzy. V tabulce 9 jsou uvedeny hodnoty modulu pružnosti ve smyku G' a teploty gelace (T_{Gelace}).

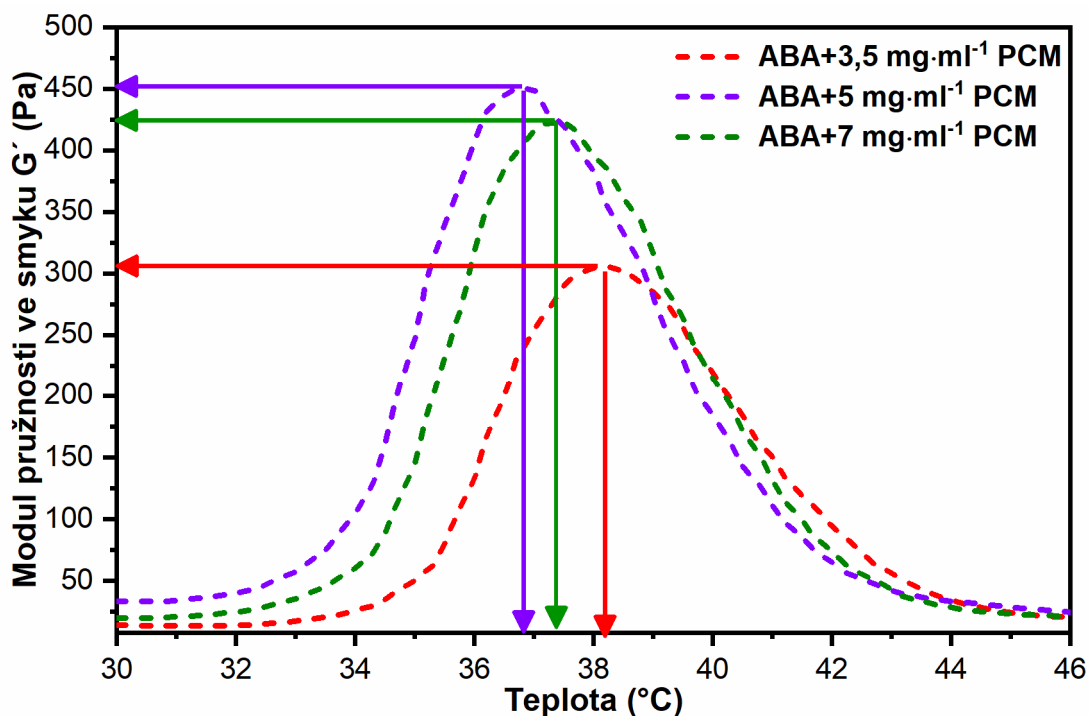
Tabulka 9: Přehled modulů pružnosti ve smyku a teplot gelace vybraných systémů hydrogel-léčivo a hydrogel-léčivo-nHAp

| typ | C kopolymeru (hm./obj. %) | Rozpouštědlo | Léčivo | G' (Pa) | T_{Gelace} (°C) |
|-------------|---------------------------|------------------|----------|-----------|--------------------------|
| ABA | 10 | H ₂ O | - | 6,6 | 32,5 |
| ABA | 10 | H ₂ O | PCM | 12,4 | 28 |
| ABA | 22 | PBS | - | 135 | 37 |
| ABA | 22 | PBS | PCM | 89,4 | 35 |
| ITA/ABA/ITA | 22 | H ₂ O | - | 562 | 35,8 |
| ITA/ABA/ITA | 22 | H ₂ O | STA | 1383 | 32,5 |
| ABA | 12 | PBS | - | 40,9 | 39,5 |
| ABA | 12 | PBS | PCM | 300 | 38 |
| ABA | 12 | PBS | PCM+nHAp | 300 | 38 |
| ABA | 12 | PBS | - | 40,9 | 39,5 |
| ABA | 12 | PBS | STA | 63,7 | 38 |
| ABA | 12 | PBS | STA+nHAp | 98 | 37,5 |

Hydrogely připravené v Milli-Q vodě z kopolymerů ABA i ITA/ABA/ITA po přidavku léčiva (PCM i STA) vykazují vyšší tuhost, než hydrogely připravené bez léčivých látek. Vzhledem ke struktuře léčiv, která obsahují elektronegativní prvky, jako jsou kyslík a dusík, může pravděpodobně docházet k tvorbě vodíkových můstků mezi molekulou léčiva (resp. NH₂- a NH- skupinami) a -C=O skupinou polymléčné kyseliny.

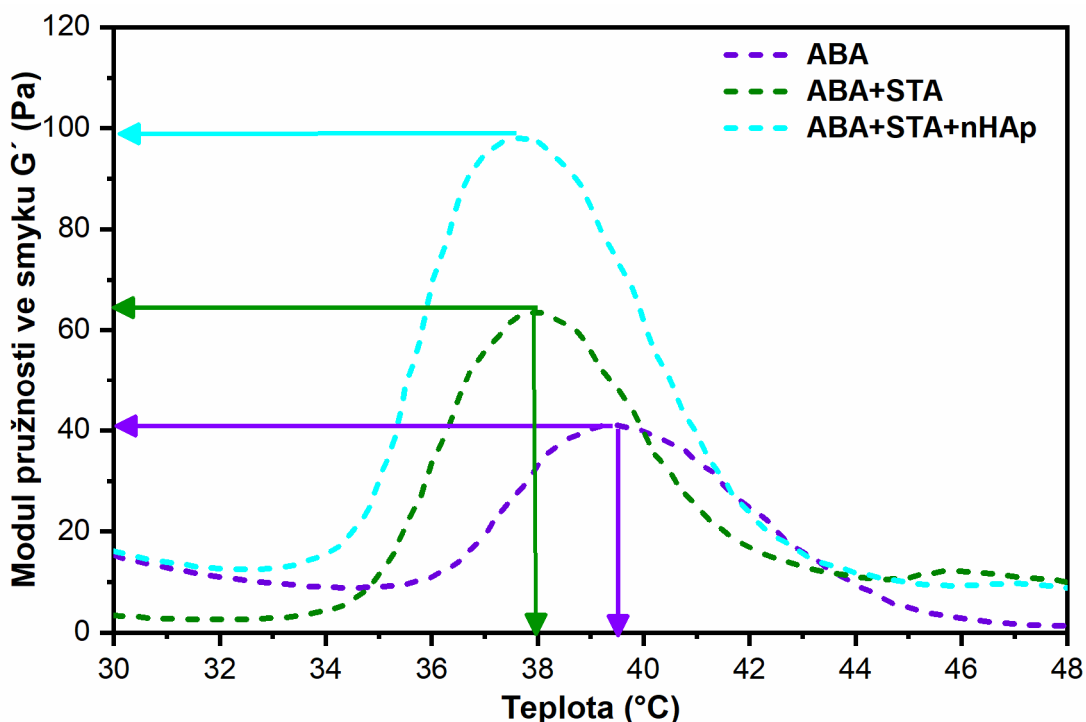
Hydrogel připravený v PBS z 22 hm./obj.% ABA kopolymeru s přidavkem PCM naopak vykazuje nižší tuhost (89,4 Pa), než hydrogel ve stejném rozpouštědle bez PCM (139 Pa). Nižší tuhost hydrogelu připraveného v PBS s obsahem hydrofilního léčiva může být vysvětlena přesycením systému ionty rozpouštědla PBS a samotného hydrofilního léčiva, které snižuje schopnost micelizace založeného na poměru hydrofilní/hydrofobní části kopolymerů. Snižováním hydrofobních interakcí mezi micelami, v našem případě přidáním hydrofilního léčiva může být proces micelizace narušen.

Na základě výsledků z předcházejících experimentů je patrné, že uvolňování léčivé látky, která je do kopolymeru přidána fyzikálně, je přímo závislé na tuhosti a stabilitě systému. Pro zvýšení tuhosti hydrogelu a jeho celkové stability byl přidán nanohydroxyapatit (nHAp) v koncentraci 0,5 hm.%. Koncentrace nHAp byla zvolena na základě výzkumu Ing. Ivany Chamradové Ph.D. [15]. Snižování koncentrace kopolymeru bylo nutné pro vytvoření reprezentativního vzorku pro další popis mechanismu uvolňování léčiv. Z dynamické reologické analýzy 12 hm./obj.% ABA kopolymeru připraveného v PBS s PCM a s nHAp vyplývá, že přidavek nHAp již výrazně nemění tuhost gelu ani jeho termocitlivé vlastnosti. Výraznější vliv na tuhost hydrogelu a jeho termocitlivé vlastnosti měla iontová struktura paracetamolu. Obrázek 5 prezentuje, že se zvyšující se koncentrací paracetamolu ve 12 hm./obj. % roztoku ABA kopolymeru se zvyšuje i tuhost gelu a snižuje se i gelační teplota systémů v maximu tuhosti.



Obrázek 5 – Porovnání hodnot modulu pružnosti ve smyku G' pro 12 hm./obj. % roztok kopolymeru typu ABA připraveného v PBS s různými koncentracemi paracetamolu

V případě přidavku hydrofobního léčiva sulfathiazolu (obrázek 6) do 12 hm./obj.% roztoku ABA kopolymeru byla zaznamenána vyšší tuhost hydrogelu a posun k nižší gelační teplotě. Přídavek nHAp dále zvyšuje tuhost hydrogelu se sulfathiazolem a také snižuje gelační teplotu. STA je léčivo kyselé povahy stejně jako kopolymer a tudíž jeho přidavek do systému významně nenarušuje micelizaci. Vyšší tuhost hydrogelu po přidavku nHAp je způsobena tím, že hydrofobní nanočástice HAp jsou „umístěny“ v jádru micely, což zvyšuje tuhost celého systému.



Obrázek 6 – Porovnání hodnot modulu pružnosti ve smyku G' pro 12 hm./obj. % roztok kopolymeru typu ABA připraveného v PBS s přidavkem $6 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ sulfathiazolu (ABA + STA) a směsi o stejné koncentraci sulfathiazolu i s přidavkem 0,5 hm.% nanohydroxyapatitu (ABA+STA+nHAp)

4.2 Uvolňování léčiv

Na základě literární rešerše byl pro popis uvolňování léčiv zvolen Korsmeyer-Peppasův (K.P.) model. Vhodnost zvoleného K.P. modelu musela být prošetřena statistickým testováním hypotéz. Pro statistické otestování naměřených experimentálních dat se zvoleným K.P. modelem bylo zvoleno spojitě F-rozdělení. Korsmeyer-Peppasův model se ukázal jako vhodný model pouze pro popis uvolňování hydrofobního léčiva sulfathiazolu z obou typů kopolymerů (ABA i ITA/ABA/ITA) a dále pak pro paracetamol uvolňovaný z ITA/ABA/ITA hydrogelu připraveného v PBS. Vcelku dobrou těsnost K.P. model vykazoval i pro uvolňování nízkých koncentrací paracetamolu (5 a $6,5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) z ITA/ABA/TA hydrogelů připravených v Milli-Q vodě. Vzhledem k nízké těsnosti Korsmeyer-Peppasova modelu pro uvolňování paracetamolu z hydrogelů tvořených ABA kopolymerem i ABA kopolymerem s nHAp a dále pak rovněž uvolňování sulfathiazolu z hydrogelu tvořeného ABA kopolymerem s nHAp, bylo nezbytné navrhnout jiný model, který by popisoval uvolňování léčiv z hydrogelů ve výše uvedených případech. Při bližším prozkoumání rovnice popisující Korsmeyer-Peppasův model připomíná tento model nápadně svým tvarem i popisem rovnicí Freundlichovu adsorpční izotermu, která popisuje adsorpci z roztoků na pevných látkách. Freundlichova adsorpční izoterma:

$$a = k \cdot c^{\frac{1}{n}} \quad (2)$$

kde:

k a **n** jsou parametry závislé na teplotě a charakteristické pro danou trojici látek tj. rozpouštědlo, rozpuštěnou látku a adsorbát;

a je množství rozpuštěné látky (adsorbátu) adsorbované jednotkovou hmotností adsorbentu;

c je rovnovážná koncentrace rozpuštěné látky [38].

Korsmeyer-Peppasův model: $\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n$; kde

k a **n** jsou konstantami;

$\frac{M_t}{M_\infty}$ je poměr uvolněného léčiva v čase **t**, tento poměr lze nahradit i aktuální koncentrací **c**

pro daný časový úsek **t**.

Rovnice Freundlichovy adsorpční izotermy je rovnicí empirickou, a proto lze vyslovit hypotézu, že Korsmeyer-Peppasův model je pouze matematickým opisem Freundlichovy adsorpční izotermy lišící se v nezávislé proměnné.

Na základě této dedukce je v této práci navrhnout model, který je matematickým opisem Langmuirovy adsorpční izotermy. Langmuirova adsorpční izoterma je popsána rovnicí 3.

$$a = a_{\max} \cdot \frac{b \cdot c}{1 + b \cdot c} \quad (3)$$

kde:

a_{max} a **b** jsou parametry závislé na teplotě a charakteristické pro danou trojici látek tj. rozpouštědlo, rozpuštěnou látku a adsorbát; **a_{max}** a **b** jsou v rovnici konstantami;

a je množství rozpuštěné látky (adsorbátu) adsorbované jednotkovou hmotností adsorbentu;

a je závisle proměnná na rovnovážná koncentrace rozpuštěné látky **c**

c je rovnovážná koncentrace rozpuštěné látky a je nezávisle proměnnou v rovnici [38].

Pro popis uvolňování převážně hydrofilního léčiva paracetamolu z hydrogelu připraveného z ABA kopolymeru je proto navrhnout matematický model, který je v této práci označován jako O.K. model, který popisuje rovnice 4.

$$c_t = k \cdot \frac{n \cdot t}{1 + n \cdot t} \quad (4)$$

kde:

k je rychlostní konstanta;

n je exponent uvolňování, v rovnici O.K modelu je konstantou;

t je čas, nezávisle proměnná v rovnici O.K. modelu

c_t je koncentrace uvolněného léčiva v čase **t**, v rovnici O.K modelu je závislou proměnnou.

Nově navrženým matematickým O.K modelem byla opět vyšetřena všechna naměřená data pomocí F-rozdělení. Parametr **F_c** představuje kritickou hodnotu F-rozdělení na hladině významnosti $\alpha=0,05$. **F_{exp}** představuje vypočtenou kritickou hodnotu F-rozdělení pro experimentální hodnoty. Platí, čím vyšší hodnota **F_{exp}** pro daný model, tím je vyšší těsnost matematického modelu s naměřenými experimentálními hodnotami. V tabulce 10 a 11 jsou uvedeny hodnoty **F_{exp}** pro K.P. model i nově navržený O.K. model a pro všechny testované systémy.

Tabulka 10: Přehled vypočtených F_c a F_{exp} hodnot pro Korsmeyer-Peppasův (K.P.) model a nově navržený O.K. model pro uvolňování paracetamolu.

| Kopolymer | $C_{\text{paracetamol}}$ ($\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) | Prostředí | F_c | F_{exp} | |
|-------------|--|----------------------|-------|------------|------------|
| | | | | K.P. model | O.K. model |
| ABA | 5 | PBS | 5,8 | 71,3 | 941,0 |
| | 7,4 | | | 62,0 | 165,1 |
| | 10 | | | 120,8 | 298,9 |
| | 14,7 | | | 139,7 | 263,2 |
| ABA | 5 | H_2O | 4,3 | 44,7 | 1517,7 |
| | 7,4 | | | 47,2 | 1904,5 |
| | 10 | | | 41,1 | 1444,8 |
| | 14,7 | | | 40,7 | 1464,1 |
| ITA/ABA/ITA | 5 | H_2O | 4,5 | 437,4 | 72,3 |
| | 6,5 | | | 540,1 | 63,0 |
| | 10 | | | 4,8 | 73,2 |
| | 13 | | | 3,6 | 860,8 |
| ITA/ABA/ITA | 5 | PBS | 6,9 | 143,5 | 36,4 |
| | 6,5 | | | 187,7 | 41,9 |
| | 10 | | | 197,2 | 43,6 |
| | 13 | | | 317,3 | 59,0 |
| ABA + nHAp | 3,5 | PBS | 4,0 | 178,3 | 149,0 |
| | 5 | | 3,7 | 161,3 | 239,9 |
| | 7 | | 3,7 | 174,6 | 212,9 |
| ABA | 3,5 | PBS | 4,5 | 67,2 | 429,3 |
| | 5 | | | 66,2 | 418,4 |
| | 7 | | | 111,5 | 130,1 |

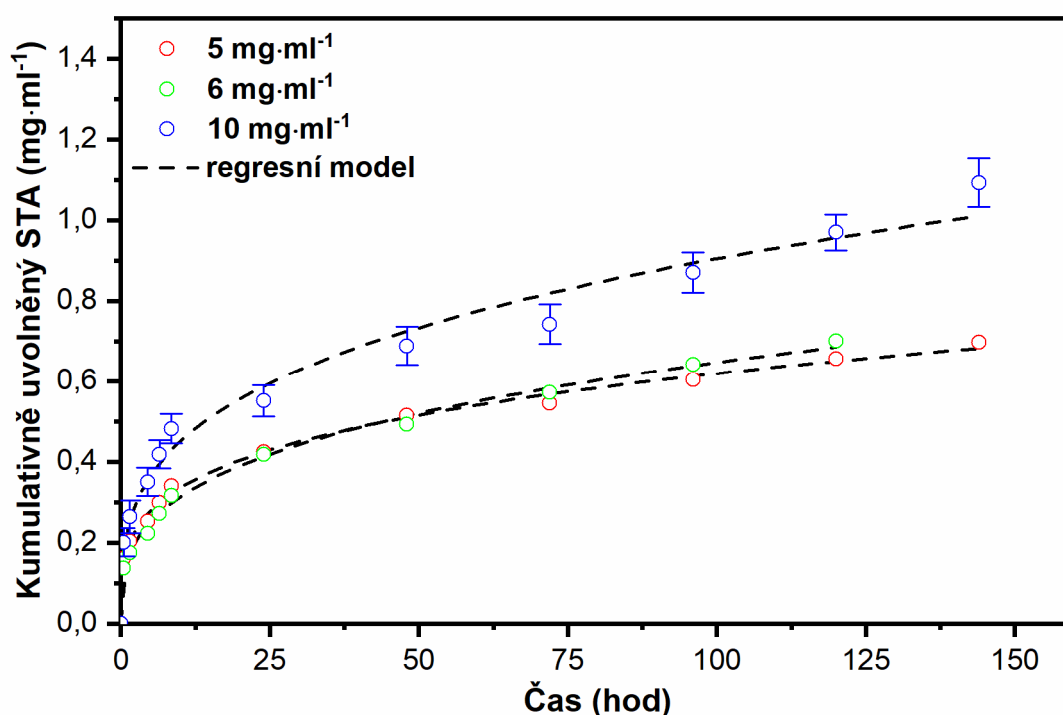
Tabulka 11: Přehled vypočtených F_c a F_{exp} hodnot pro Korsmeyer-Peppasův model a nově navržený O.K. model pro uvolňování sulfathiazolu.

| Kopolymer | $C_{\text{sulfathiazol}}$ ($\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) | Prostředí | F_c | F_{exp} | |
|-------------|---|----------------------|-------|------------|------------|
| | | | | K.P. model | O.K. model |
| ITA/ABA/ITA | 5 | H_2O | 4,3 | 5,4 | 46,1 |
| | 11 | | 5,1 | 472,9 | 79,0 |
| | 5 | PBS | 5,8 | 114,0 | 38,5 |
| | 11 | | 5,1 | 472,9 | 79,0 |
| ABA | 5 | H_2O | 5,1 | 522,5 | 50,1 |
| | 6 | | | 473,1 | 45,5 |
| ABA | 5 | PBS | 4,1 | 1584,1 | 73,8 |
| | 6 | | 4,3 | 1226,9 | 76,7 |
| | 10 | | 4,1 | 300,3 | 51,3 |
| ABA + nHAp | 5 | PBS | 3,6 | 183,1 | 236,9 |
| | 6 | | | 223,8 | 170,9 |

Korsmeyer-Peppasův model se ukázal jako vhodný model pouze pro popis uvolňování hydrofobního léčiva sulfathiazolu z obou typů kopolymerů (ABA i ITA/ABA/ITA) a dále pak pro paracetamol uvolňovaný z ITA/ABA/ITA hydrogelu připraveného v PBS a v Milli-Q vodě (Milli-Q voda - jen pro nízké koncentrace paracetamolu). V tabulkách 12 a 13 jsou uvedeny vypočtené hodnoty rychlostních konstant k a exponenty uvolňování n z K.P. modelu pro uvolňování STA z ABA hydrogelu a STA a PCM z ITA/ABA/ITA hydrogelu připraveného v PBS. Hodnoty exponentů uvolňování n nepřesahují hodnotu 0,5 z toho plyne, jak je uvedeno v tabulce 2, že mechanismus uvolňování je prostou difúzí. Z obrázku 7, který zobrazuje uvolňování STA z 12 hm./obj.% ABA kopolymeru a tvarů křivek je patrné, že se jedná o návalové uvolňování léčiva.

Tabulka 12: Vypočtené exponenty uvolňování n a rychlostní konstanty k vycházející z Korsmeyer-Peppasova modelu pro STA uvolňovaný z ABA hydrogelu.

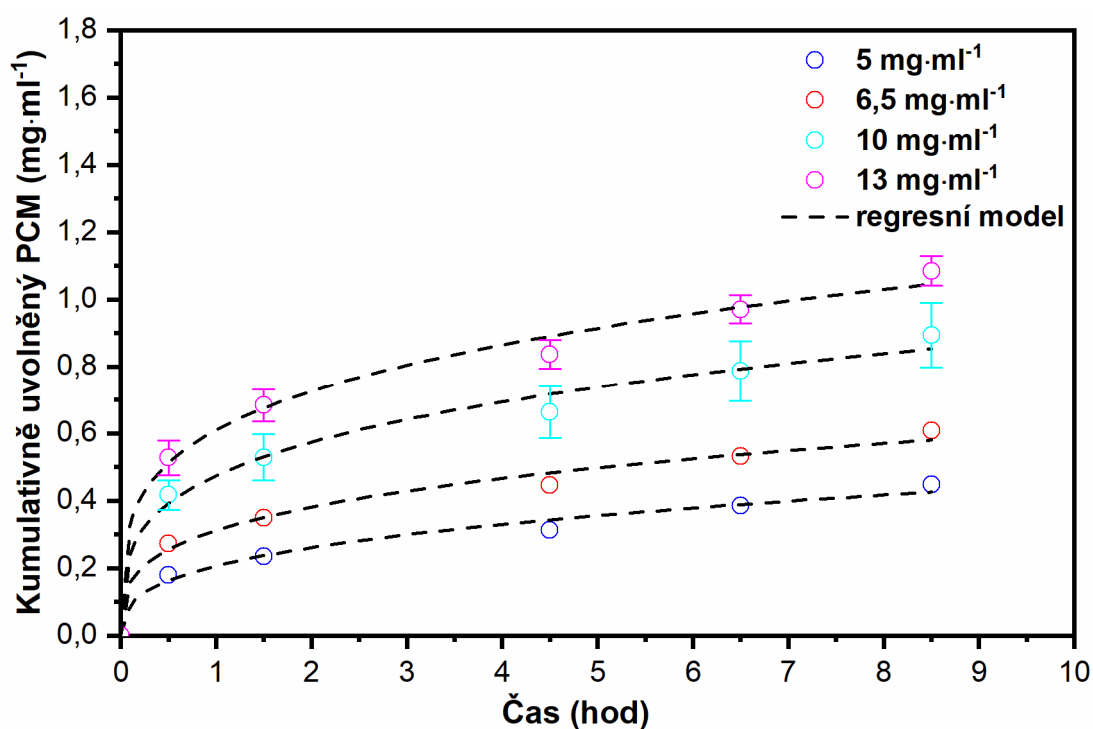
| $C_{\text{kopolymer}}$ (hm./obj.%) | $C_{\text{teor.}}$ sulfathiazol (mg·ml ⁻¹) | Prostředí | Exponent uvolňování n | k (hod ⁻¹) | Stabilita hydrogelu (hod) |
|---------------------------------------|--|------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| 22 | 5 | H ₂ O | 0,41 | 0,0069 | 48 |
| 22 | 5 | PBS | 0,37 | 0,1142 | 48 |
| 12 | 5 | H ₂ O | 0,28 | 0,1736 | 48 |
| 12 | 5 | PBS | 0,27 | 0,1823 | 144 |
| 12 | 6 | PBS | 0,31 | 0,1517 | 120 |
| 12 | 10 | PBS | 0,30 | 0,2247 | 144 |



Obrázek 7 – Uvolňování sulfathiazolu z hydrogelu připraveného z 12 hm./obj.% ABA kopolymeru v PBS a jeho proložení naměřených experimentálních dat Korsmeyer-Peppasovým modelem

Tabulka 13: Vypočtené exponenty uvolňování n a rychlostní konstanty k vycházející z Korsmeyer-Peppasova modelu pro léčiva uvolňovaná z hydrogelu připraveného z 22 hm./obj.% ITA/ABA/ITA kopolymeru v PBS.

| léčivo | $C_{\text{teor.}} \text{ léčiva}$ ($\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) | exponent uvolňování n | k (hod^{-1}) | Stabilita hydrogelu (hod) |
|--------|---|-------------------------------|---------------------------|--|
| PCM | 5 | 0,34 | 0,2064 | 8,5 |
| | 6,5 | 0,29 | 0,3117 | 8,5 |
| | 10 | 0,27 | 0,4748 | 8,5 |
| | 13 | 0,25 | 0,6096 | 8,5 |
| STA | 5 | 0,32 | 0,1252 | 24 |
| | 11 | 0,49 | 0,4921 | 48 |



Obrázek 8 - Kumulativní uvolňování paracetamolu z 22 hm./obj.% ITA/ABA/ITA hydrogelu připraveného v PBS a jeho proložení naměřených experimentálních dat Korsmeyer-Peppasovým modelem

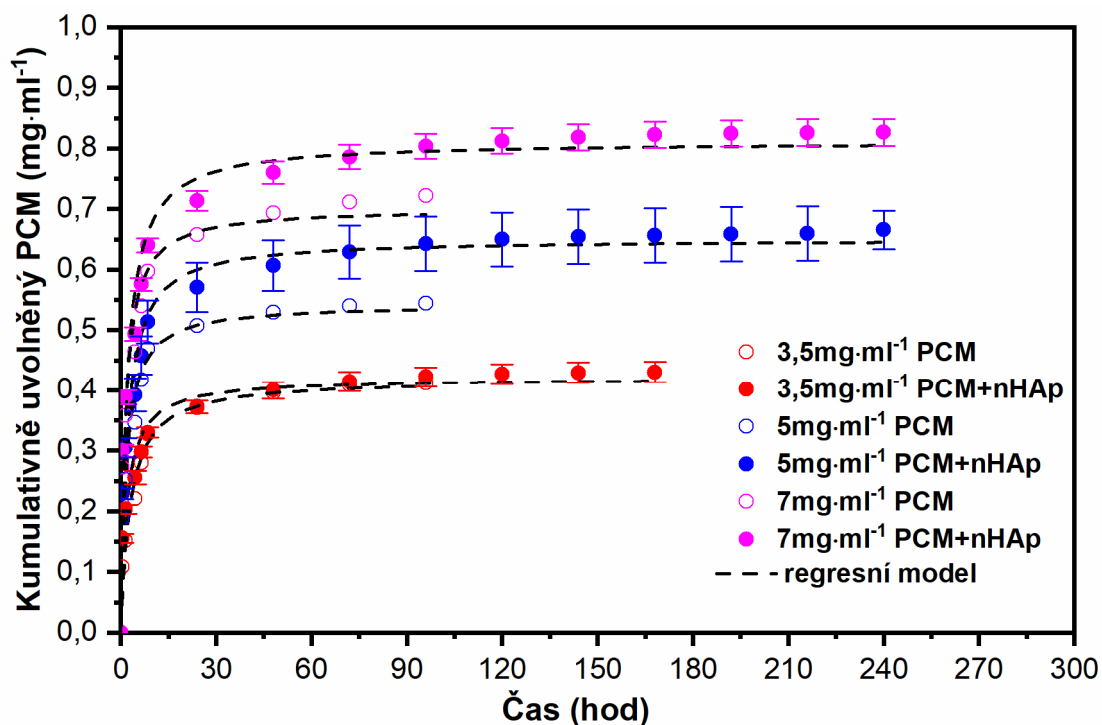
Z hodnot rychlostních konstant k uvedených v tabulce 14 lze opět pozorovat trend jako u předchozích experimentů, tzn., se zvyšující se koncentrací paracetamolu se zvyšuje hodnota rychlostní konstanty k v obou testovaných rozpouštědlech, resp. inkubačních médiích. Z hodnot rychlostních konstant k uvedených v tabulce 15 lze opět prokázat trend jako u předchozích experimentů, tzn., že se zvyšující se koncentrací paracetamolu se zvyšuje hodnota rychlostní konstanty k . Po přidání nHAp do systému je rychlost uvolňování paracetamolu ještě vyšší, zejména u koncentrací, kdy $c_{\text{teor.}}$ je 5 a 7 mg·ml⁻¹. Z tvarů křivek popisujících uvolňování paracetamolu na obrázku 8 vyplývá, že se opět jedná o návalové uvolňování během prvních 24 hodin. Další uvolněný paracetamol je již v zanedbatelných koncentracích. Stabilita 12 hm./obj.% ABA hydrogelu připraveného v PBS s paracetamolem o $c_{\text{teor.}}$ 3,5; 5 a 7 mg·ml⁻¹ trvala 96 hodin, přídavek nHApu o koncentraci 0,5 hm.% prodlužoval stabilitu gelového systému na 168 až 240 hodin. Vyšší stabilita gelového systému obsahující nHAp je způsobena tím, že nanočástice HAp jsou „umístěny“ v jádru micely, což zvýšilo tuhost celého systému. Dále je z tvarů křivek také zřejmé, že systém obsahující nHAp je schopen pojmout vyšší množství paracetamolu a zpětně jej uvolnit. Vyšší schopnost hydrogelového systému s nHAp pojmout paracetamol může být způsobena, tím že rozpuštěné léčivo se může sorbovat na povrch částic nHAp.

Tabulka 14: Vypočtené exponenty uvolňování n a rychlostní konstanty k vycházející z O.K. modelu pro paracetamol uvolňovaný z 22 hm./obj.% ABA hydrogelu.

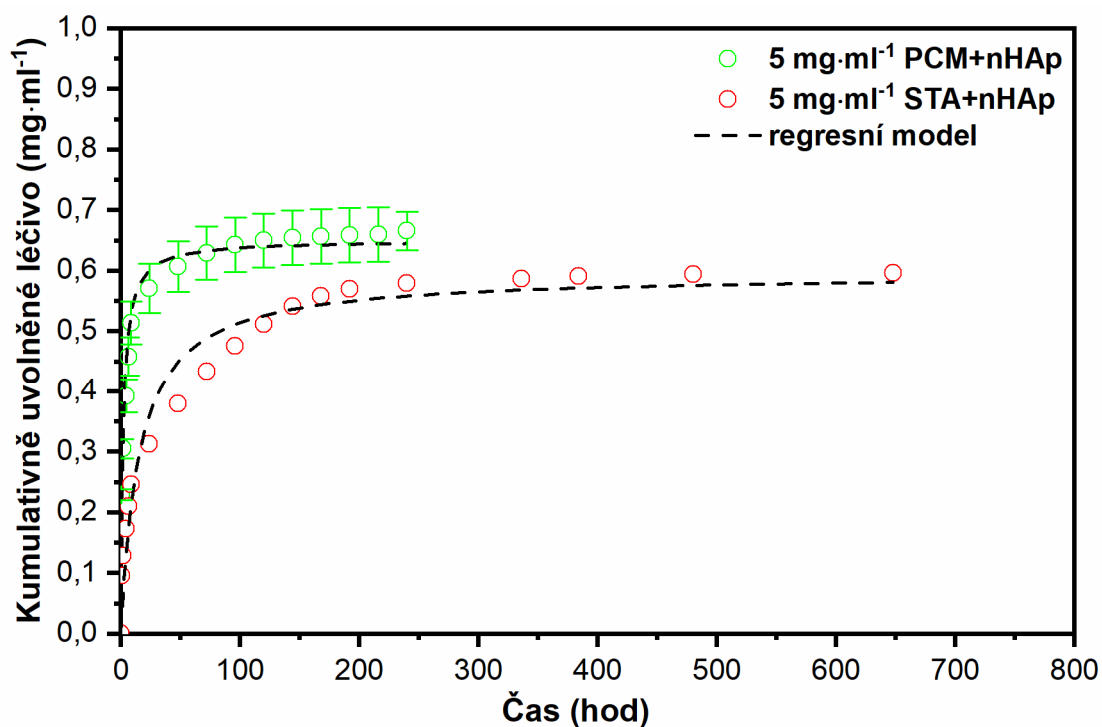
| $C_{\text{teor.}}$ paracetamol (mg·ml ⁻¹) | prostředí | exponent uvolňování n | k (hod ⁻¹) | Stabilita hydrogelu (hod) |
|---|------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| 5 | H ₂ O | 0,24 | 0,8683 | 168 |
| 7,4 | | 0,23 | 1,2956 | 168 |
| 10 | | 0,27 | 2,0174 | 168 |
| 14,7 | | 0,27 | 2,6666 | 168 |
| 5 | PBS | 0,24 | 0,8721 | 24 |
| 7,4 | | 0,24 | 1,4522 | 24 |
| 14,7 | | 0,24 | 2,3816 | 24 |

Tabulka 15: Vypočtené exponenty uvolňování n a rychlostní konstanty k vycházející z O.K. modelu pro 12 hm./obj.% ABA kopolymer připravený v PBS a s použitím nHAp.

| Typ kopolymeru (+nHAp) | Léčivo | $C_{\text{teor.}}$ léčiva (mg·ml ⁻¹) | Exponent uvolňování n | k (hod ⁻¹) | Stabilita hydrogelu (hod) |
|------------------------------|--------|--|----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| ABA | PCM | 3,5 | 0,35 | 0,4190 | 96 |
| ABA | | 5 | 0,60 | 0,5428 | 96 |
| ABA | | 7 | 0,70 | 0,7015 | 96 |
| ABA+ nHAp | PCM | 3,5 | 0,53 | 0,4199 | 168 |
| ABA+ nHAp | | 5 | 0,49 | 0,6502 | 240 |
| ABA+ nHAp | | 7 | 0,52 | 0,8111 | 240 |
| ABA+ nHAp | STA | 5 | 0,06 | 0,5944 | 648 |



Obrázek 9 – Grafické znázornění uvolňování paracetamolu z 12 hm./obj.% ABA hydrogelu s nHAp a bez nHAp připraveného v PBS



Obrázek 10 - Grafické znázornění uvolňování 5 mg·ml⁻¹ PCM a STA z hydrogelu připraveného z 12 hm./obj.% ABA kopolymeru s nHAp v prostředí PBS

5 ZÁVĚR

Předložená dizertační práce byla zaměřena na řízené uvolňování léčiv z biodegradabilních hydrogelů založených na bázi poly(mléčné) a poly(glykolové) kyseliny a polyethylenglykolu (PLGA-PEG-PLGA, ABA) a jeho modifikace anhydridem kyseliny itakonové ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA (ITA/ABA/ITA).

V první experimentální části této práce byly vybrány kopolymery s charakteristickým poměrem PLGA/PEG rovnu hodnotám 2,0 a 2,4, které tvořily gel při teplotě 37 °C. Pro uvolňování léčiv z hydrogelových systémů byly vybrány hydrofilní analgetikum paracetamol a hydrofobní sulfonamidové antibiotikum sulfathiazol. Léčivé látky byly přidávány do kopolymery v jeho nízko viskózní fázi (sol fázi) a měly významný vliv na výslednou tuhost a stabilitu hydrogelu. Vliv na tuhost a následnou stabilitu systému hydrogel-léčivo mělo i použití různých rozpouštědel. Maximální tuhost gelu, vyjádřená modulem pružnosti ve smyku (G'_{max}) hydrogelů připravených v Milli-Q vodě bez přídavku léčiva byla nižší, než s přídavkem léčivé látky díky tvorbě vodíkových můstků mezi $-NH$, $-NH_2$ funkčními skupinami léčiv a $-C=O$ skupinou poly(mléčné) kyseliny. Naopak 22 hm./obj.% hydrogely připravené v PBS vykazovaly maximální tuhost bez přídavku léčiva. Snížení tuhosti hydrogelu připraveného v PBS po přidání léčiv bylo způsobeno přesycením hydrogelového systému ionty rozpouštědla PBS a samotného léčiva, které omezují vznik micelárních struktur fyzikálního gelu. Pro zvýšení stability ABA hydrogelů v prostředí PBS byl do gelujícího systému přidán nanohydroxyapatit (nHAp) o koncentraci 0,5 hm.%. Pomocí dynamické reologické analýzy bylo zjištěno, že přídavek nHApu o koncentraci 0,5 hm.% do 12 hm./obj.% ABA hydrogelu připraveného spolu s paracetamolem, nemá již výrazný vliv na hodnotu G'_{max} . Výraznější vliv na hodnotu G'_{max} 12 hm./obj.% ABA hydrogelů v prostředí PBS měla zvyšující se koncentrace hydrofilního léčiva paracetamolu. V případě hydrofobního léčiva sulfathiazolu a ABA hydrogelu měl přídavek nHAp výrazný vliv na maximální tuhost gelu připraveného v PBS.

V druhé experimentální části této práce byl ověřen Korsmeyer-Peppasův kinetický model pro uvolňování hydrofobního léčiva sulfathiazolu z 12 hm./obj.% ABA kopolymery připraveného v PBS a také v Milli-Q vodě. Pomocí F-rozdělení se Korsmeyer-Peppasův model ukázal být vhodným i pro popis uvolňování paracetamolu z ITA/ABA/ITA kopolymery připraveného v PBS. Pro porovnání uvolňování hydrofilního léčiva paracetamolu z ITA/ABA/ITA kopolymery byl testován i ABA kopolymer. Pomocí F-rozdělení bylo prokázáno, že Korsmeyer-Peppasův model není vhodný pro popis uvolňování nízkomolekulárního hydrofilního léčiva paracetamolu z hydrofobního ABA kopolymery, a proto byl navržen nový regresní model. Tento nový regresní model, označený v této práci jako O.K. model byl ověřen, jako velmi vhodný pro popis profilu uvolňování paracetamolu z ABA hydrogelu, a to pro obě testovaná prostředí (PBS, Milli-Q voda). O.K. model se ukázal jako velmi těsný i pro popis uvolňování paracetamolu i sulfathiazolu z kompozitního systému ABA/nHAp. Jeho vhodnost se ukázala i pro ITA/ABA/ITA hydrogel uvolňující vyšší koncentrace paracetamolu v Milli-Q vodě.

Pouhým fyzikálním zamýcháním léčiva a nanočástic hydroxyapatitu do roztoku ABA kopolymery se podařilo připravit kompozitní systémy, které byly dlouhodobě stabilní a uvolňovaly léčivou látku pomocí Fickovy difúze. Hydrofilní léčivo (paracetamol) se uvolňovalo až po dobu 96 hodin a hydrofobní léčivo (sulfathiazol) až po dvojnásobný časový

úsek. Nově připravený kompozitní systém (ABA/nHAp) lze tedy úspěšně využít i pro dlouhodobé uvolňování nízkomolekulárních léčivých látek hydrofilního charakteru, které nebylo možné jen ze samotného hydrogelového systému tvořeného ABA kopolymerem v prostředí o hodnotě pH 7,4 simulující hodnotu pH lidského těla.

Modifikace ABA kopolymeru anhydridem kyseliny itakonové neměla zásadní vliv na profil uvolňování nízkomolekulárního hydrofilního léčiva paracetamolu z ITA/ABA/ITA hydrogelu, neboť profil uvolňování tohoto léčiva měl návalový profil.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] WANG, P. X., CHU, W., ZHUO, X. Z., ZHANG, Y., a kol. Modified PLGA-PEG-PLGA thermosensitive hydrogels with suitable thermosensitivity and properties for use in a drug delivery system. *Journal of Materials Chemistry B*, 2017, roč. 5, č. 8, str. 1551-1565.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/c6tb02158a>
- [2] GAJENDIRAN, M., GOPI, V., ELANGO VAN, V., MURALI, R. V., a kol. Isoniazid loaded core shell nanoparticles derived from PLGA-PEG-PLGA tri-block copolymers: In vitro and in vivo drug release. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 2013, roč. 104, str. 107-115.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.12.008>
- [3] GAO, Y., REN, F. Z., DING, B. Y., SUN, N. Y., a kol. A thermo-sensitive PLGA-PEG-PLGA hydrogel for sustained release of docetaxel. *Journal of Drug Targeting*, 2011, roč. 19, č. 7, str. 516-527.
Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/1061186x.2010.519031>
- [4] GAO, Y. A., SUN, Y., REN, F. Z. AND GAO, S. PLGA-PEG-PLGA hydrogel for ocular drug delivery of dexamethasone acetate. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2010, roč. 36, č. 10, str. 1131-1138.
Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/03639041003680826>
- [5] CHANG, G. T., CI, T. Y., YU, L. AND DING, J. D. Enhancement of the fraction of the active form of an antitumor drug topotecan via an injectable hydrogel. *Journal of Controlled Release*, 2011, roč. 156, č. 1, str. 21-27.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.07.008>
- [6] CHOI, S., KIM, S. W. Controlled release of insulin from injectable biodegradable triblock copolymer depot in ZDF rats. *Pharmaceutical Research*, 2003, roč. 20, č. 12, str. 2008-2010.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1023/B:PHAM.0000008050.99985.5c>
- [7] KHODAVERDI, E., HADIZADEH, F., TEKIE, F. S. M., JALALI, A., a kol. Preparation and analysis of a sustained drug delivery system by PLGA-PEG-PLGA triblock copolymers. *Polymer Bulletin*, 2012, roč. 69, č. 4, str. 429-438.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00289-012-0747-5>
- [8] LI, K., YU, L., LIU, X. J., CHEN, C., a kol. A long-acting formulation of a polypeptide drug exenatide in treatment of diabetes using an injectable block copolymer hydrogel. *Biomaterials*, 2013, roč. 34, č. 11, str. 2834-2842.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.01.013>
- [9] UP, P. Tomáš Etrych - Polymerní léky proti rakovině. *Současná chemie*, Olomouc, 2014,
Dostupné z: <https://www.youtube.com/watch?v=FXpusSIHiW0>
- [10] GUPTA, P., VERMANI, K., GARG, S. Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery. *Drug Discovery Today*, 2002, roč. 7, č. 10, str. 569-579.
Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(02\)02255-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1359-6446(02)02255-9)

- [11] LIOW, S. S., DOU, Q. Q., KAI, D., KARIM, A. A., a kol. Thermogels: In Situ Gelling Biomaterial. *Acs Biomaterials Science & Engineering*, 2016, roč. 2, č. 3, str. 295-316.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.5b00515>
- [12] MICHLOVSKA, L., VOJTOVA, L., HUMPA, O., KUCERIK, J., a kol. Hydrolytic stability of end-linked hydrogels from PLGA-PEG-PLGA macromonomers terminated by alpha,omega-itaconyl groups. *Rsc Advances*, 2016, roč. 6, č. 20, str. 16808-16816.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/c5ra26222d>
- [13] MICHLOVSKA, L., VOJTOVA, L., MRAVCOVA, L., HERMANOVA, S., a kol. Functionalization Conditions of PLGA-PEG-PLGA Copolymer with Itaconic Anhydride. In CimrovaRypacek eds. *New Frontiers in Macromolecular Science*. Weinheim: Wiley-V C H Verlag GmbH, 2010, roč. 295, str. 119-+.
- [14] OBORNA, J., MRAVCOVA, L., MICHLOVSKA, L., VOJTOVA, L., a kol. The effect of PLGA-PEG-PLGA modification on the sol-gel transition and degradation properties. *Express Polymer Letters*, 2016, roč. 10, č. 5, str. 361-372.
Dostupné z: <https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2016.34>
- [15] CHAMRADOVA, I., VOJTOVA, L., CASTKOVA, K., DIVIS, P., a kol. The effect of hydroxyapatite particle size on viscoelastic properties and calcium release from a thermosensitive triblock copolymer. *Colloid and Polymer Science*, 2017, roč. 295, č. 1, p. 107-115.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00396-016-3983-7>
- [16] CALO, E., KHUTORYANSKIY, V. V. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European Polymer Journal*, 2015, roč. 65, str. 252-267.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.11.024>
- [17] PEPPAS, N. A., BURES, P., LEOBANDUNG, W., ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2000, roč. 50, č. 1, str. 27-46.
Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(00\)00090-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0939-6411(00)00090-4)
- [18] HOARE, T. R., KOHANE, D. S. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer*, 2008, roč. 49, č. 8, str. 1993-2007.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.01.027>
- [19] KLOUDA, L., MIKOS, A. G. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2008, roč. 68, č. 1, str. 34-45.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.02.025>

- [20] QIU, Y., PARK, K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Triggering in Drug Delivery Systems*, 2001, roč. 53, č. 3, str. 321-339.
Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(01\)00203-4](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(01)00203-4)
- [21] CHITKARA, D., SHIKANOV, A., KUMAR, N., DOMB, A. J. Biodegradable injectable in situ depot-forming drug delivery systems. *Macromolecular Bioscience*, 2006, roč. 6, č. 12, str. 977-990.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/mabi.200600129>
- [22] VADGAMA, P. *Surfaces and Interfaces for Biomaterials*. Edition ed. Cambridge: CRC Press, 2005. ISBN 1-85573-930-5.
- [23] HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012, roč. 64, str. 18-23.
Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.010>
- [24] ZENTNER, G. M., RATHI, R., SHIH, C., MCREA, J. C., a kol. Biodegradable block copolymers for delivery of proteins and water-insoluble drugs. *Journal of Controlled Release*, 2001, roč. 72, č. 1-3, str. 203-215.
Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/s0168-3659\(01\)00276-0](https://doi.org/10.1016/s0168-3659(01)00276-0)
- [25] MINH, K. N., LEE, D. S. Injectable Biodegradable Hydrogels. *Macromolecular Bioscience*, 2010, roč. 10, č. 6, str. 563-579.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/mabi.200900402>
- [26] CHAMRADOVA, I., VOJTOVA, L., MICHLOVSKA, L., POLACEK, P., a kol. Rheological properties of functionalised thermosensitive copolymers for injectable applications in medicine. *Chemical Papers*, 2012, roč. 66, č. 10, str. 977-980.
Dostupné z: <https://doi.org/10.2478/s11696-012-0210-y>
- [27] WARD, M. A., GEORGIU, T. K. Thermoresponsive Polymers for Biomedical Applications. *Polymers*, 2011, roč. 3, č. 3, str. 1215-1242.
Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym3031215>
- [28] FREDENBERG, S., WAHLGREN, M., RESLOW, M., AXELSSON, A. The mechanisms of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems-A review. *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, roč. 415, č. 1-2, str. 34-52.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.05.049>
- [29] ROSTAMIZADEH, K., MANAFI, M., NOSRATI, H., MANJILI, H. K., a kol. Methotrexate-conjugated mPEG-PCL copolymers: a novel approach for dual triggered drug delivery. *New Journal of Chemistry*, 2018, roč. 42, č. 8, str. 5937-5945.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/c7nj04864e>
- [30] SALAMANCA, C. H., YARCE, C. J., MORENO, R. A., PRIETO, V., a kol. Natural gum-type biopolymers as potential modified nonpolar drug release systems. *Carbohydrate Polymers*, 2018, roč. 189, str. 31-38.
Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.011>
- [31] KHALID, I., AHMAD, M., MINHAS, M. U., BARKAT, K. Preparation and characterization of alginate-PVA-based semi-IPN: controlled release pH-responsive composites. *Polymer Bulletin*, 2018, roč. 75, č. 3, str. 1075-1099.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00289-017-2079-y>

- [32] KHALID, I., AHMAD, M., USMAN MINHAS, M., BARKAT, K. Synthesis and evaluation of chondroitin sulfate based hydrogels of loxoprofen with adjustable properties as controlled release carriers. *Carbohydrate Polymers*, 2018, roč. 181, str. 1169-1179. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.092>
- [33] AL HANBALI, O. A., HAMED, R., ARAFAT, M., BAKKOUR, Y., a kol. Formulation and evaluation of diclofenac controlled release matrix tablets made of HPMC and Poloxamer 188 polymer: An assessment on mechanism of drug release. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, roč. 31, č. 1, str. 345-351.
- [34] OYAFUSO, M. H., CARVALHO, F. C., TAKESHITA, T. M., DE SOUZA, A. L. R., a kol. Development and In Vitro Evaluation of Lyotropic Liquid Crystals for the Controlled Release of Dexamethasone. *Polymers*, 2017, roč. 9, č. 8, str. 16. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym9080330>
- [35] YARCE, C. J., ECHEVERRI, J. D., PALACIO, M. A., RIVERA, C. A., a kol. Relationship between Surface Properties and In Vitro Drug Release from Compressed Matrix Containing Polymeric Materials with Different Hydrophobicity Degrees. *Pharmaceuticals*, 2017, roč. 10, č. 1, str. 20. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ph10010015>
- [36] BAHRAM, M., HOSEINPOUR, F., MOHSENI, N., NAJAFI-MOGHADDAM, P. Kinetic Study of Ibuprofen Release from a pH- and Temperature-Sensitive Hydrogel, Based on Poly(styrene-alt-maleic anhydride) Copolymer. *Chiang Mai Journal of Science*, 2017, roč. 44, č. 1, str. 224-236.
- [37] DASH, S., MURTHY, P. N., NATH, L., CHOWDHURY, P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2010, roč. 67, č. 3, str. 217-223.
- [38] LÁZNÍČKOVÁ, A., KUBÍČEK, V. Rovnováhy na fázových rozhraních. *Základy fyzikální chemie*. Praha: Karolinum, 2008, str. 53-54.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

Seznam textových zkratek

| | |
|------------|--|
| ABA | označení blokového kopolymeru typu PLGA-PEG-PLGA |
| CGT | (z angl. Critical Gel Temperature) kritická gelační teplota |
| GA | (z angl. Glycolide nebo Glycolic Acid) glykolid nebo kyselina glykolová |
| ITA | (z angl. Itaconic Anhydride) anhydrid kyseliny itakonové |
| K.P. model | Korsmeyer-Peppasův model |
| LA | (z angl. Lactide nebo Lactic Acid) laktid nebo kyselina mléčná |
| LC/MS | spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií |
| MS | (z angl. Mass Spectrometry) hmotnostní spektrometrie |
| nHAp | nanohydroxyapatit |
| PBS | (z angl. Phosphate Buffered Saline) pufovaný fyziologický roztok |
| PCM | paracetamol |
| PDI | (z angl. Polydispersity Index) index polydisperzity |
| PEG | polyethylenglykol |
| PLA | (z angl. Poly(Lactic Acid)) poly(mléčná kyselina) |
| PLGA | (z angl. Poly(Lactic-co-Glycolic Acid) kopolymer na bázi poly(mléčné) a poly(glykolové) kyseliny |
| STA | sulfathiazol |

Seznam zkratek fyzikálně-chemických veličin

| | | |
|-------|--|------------------------|
| G' | modul pružnosti ve smyku | [Pa] |
| M_n | střední číselná molekulová hmotnost polymeru | [g·mol ⁻¹] |
| M_w | průměrná hmotnostní molekulová hmotnost polymeru | [g·mol ⁻¹] |
| pKa | disociační konstanta kyselin | |