



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

Fakulta biomedicínského inženýrství

Katedra přírodovědných oborů

**Vliv vybraných tvarových parametrů a struktury hydrogelových
matic na kinetiku uvolňování benzokainu**

**Effect of selected shape parameters and structure of hydrogel
matrices on release kinetics of benzocaine**

Diplomová práce

Studijní program: Biomedicínská a klinická technika
Studijní obor: Přístroje a metody pro biomedicínu

Vedoucí práce: Ing. Jiří Michálek, CSc.

Bc. Magda Radiměřská

Kladno, květen 2016

Katedra přírodovědných oborů

Akademický rok: 2015/2016

Z a d á n í d i p l o m o v é p r á c e

Student: **Bc. Magda Radiměřská**
Studijní obor: Přístroje a metody pro biomedicínu
Téma: **Vliv vybraných tvarových parametrů a struktury hydrogelových matic na kinetiku uvolňování benzokainu**
Téma anglicky: Effect of selected shape parameters and structure of hydrogel matrices on release kinetics of benzocaine

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :


- 1) Vypracujte rešerši na téma řízené uvolňování benzokainu, zejména s ohledem na použití pro tkáňové expandéry.
- 2) Připravte 3 typy různých hydrogelů poly(HEMA-co-EDMA), poly(HEMA-co-MA), poly(styren-co-maleinanhydrid) o 3 průřezích a 3 tloušťkách. Všechny budou polymerizovány termicky s benzokainem. Následně sledujte jeho uvolňování a porovnejte vliv tloušťky, materiálu a jeho průřezu na kinetiku uvolňování.
- 3) Připravte poly(HEMA-co-EDMA) s různým množstvím rozpouštědla - vody (10,20,30,40,50,60,70,80) a s benzokainem. Charakterizujte vzniklé hydrogely s různou porozitou a proměřte je z hlediska kinetiky uvolňování benzokainu. Diskutujte její závislost na struktuře porézních gelů.
- 4) Připravte výše uvedené tři kopolymery s různým množstvím benzokainu (2;5;10;15;20;40 %) a proměřte kinetiku uvolňování. Diskutujte.

Seznam odborné literatury:

- [1] ŠČIGEL, Vladimír, Lokální anestezie v praxi zubního lékaře, ed. 1., Praha: Quintessenz, spol. s.r.o., 2004, ISBN 80-903181-4-2
- [2] DOSTÁLOVÁ, Tatjana, et al., Stomatologie, ed. 1., Praha : Grada Publishing, 2008, 196 s., ISBN 978-80-247-2700-4
- [3] DHADSE, P. V. et al., Soft tissue expansion before vertical ridge augmentation: Inflatable silicone balloons or self-filling osmotic tissue expanders, Journal of Indian Society of Periodontology, Vol. 18, No. 4, 2014, 433-440 s., DOI: 10.4103/0972-124X.138680
- [4] ASA'AD, Farah, et al., Pre-augmentation soft tissue expansion: an overview, ed. Clinical Oral Implants Research, 2015, DOI: 10.1111/clr.12617, 09057161
- [5] SWAN, M.C., et al., Synthesis and properties of a novel anisotropic self-inflating hydrogel tissue expander, Acta Biomaterialia, Vol. 7, No. 3, 2011, DOI: 10.1016/j.actbio.2010.10.017

Vedoucí: Ing. Jiří Michálek, CSc.

Zadání platné do: 20.08.2017


vedoucí katedry / pracoviště


děkan

V Kladně dne 12.12.2015

Abstrakt

Diplomová práce s názvem „Vliv vybraných tvarových parametrů a struktury hydrogelových matric na kinetiku uvolňování benzokainu“ se zaměřuje na problematiku uvolňování léčiva nejen s ohledem na materiál matrice ale i na její strukturu, případně konkrétní tvarové parametry, které rychlost uvolňování bioaktivní látky – léčiva mohou ovlivnit. Tvar a struktura matrice jsou významné právě pro konkrétní cílovou aplikaci léčiva. Jednou z nich je použití anestetika benzokainu pro tkáňovou expanzi, tedy oblasti tkáňových expandérů, zejména pro použití v zubním lékařství. Praktická část práce je zaměřena na porovnání tvarových parametrů a struktury hydrogelových matric třech druhů materiálů – poly(HEMA-co-EDMA), poly(HEMA-co-MA) a poly(styren-co-maleinanhydrid) a jejich vliv na časový profil a množství uvolňovaného benzokainu. Množství uvolněného benzokainu je analyzováno na základě měření HPLC. Výsledky jsou diskutovány s ohledem na potenciální využití matric jako základu pro tkáňový expandér v zubním lékařství.

Klíčová slova: tkáňová expanze, tkáňový expandér, anestezie v zubním lékařství, řízené uvolňování benzokainu

Abstract

Diploma thesis “Effect of selected shape parameters and structure of hydrogel matrices on release kinetics of benzocaine” focuses on the field of drug release not only with respect on the material of the matrix, but also its structure or geometric shape that could effect the drug release rate. Geometric shape and structure of the matrix are limiting factors for the specific drug targeted site. One of the targeted sites is the use of anaesthetics in tissue expansion, therefore tissue expanders, especially in the field of dentistry. Experimental part studies the effect of shape parameters and structure of hydrogel matrices constructed of three materials – poly(HEMA-co-EDMA), poly(HEMA-co-MA) and poly(styrene-co-maleic anhydride) on the benzocaine release time profile and its total amount. The amount of released benzocaine is analyzed via HPLC measurements. The results are discussed with respect to the possible use of these matrices as the basis of soft tissue expander in dentistry.

Key words: soft tissue expansion, tissue expander, anaesthetics in dentistry, controlled release of benzocaine

Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu práce Ing. Jiřímu Michálkovi, CSc. a konzultantovi Ing. Jakobovi Hribovi za cenné rady, připomínky a pomoc při realizaci praktické části práce. Poděkování patří také celému Oddělení polymerních sítí a gelů Ústavu makromolekulární chemie AV ČR v.v.i., kde byla realizovaná praktická část práce, Ing. Michalu Radiměřskému za pomoc s grafikou a celé mé rodině za podporu a trpělivost.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem

Vliv vybraných tvarových parametrů a struktury hydrogelových matric na kinetiku uvolňování benzokainu

vypracovala samostatně a použila k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k diplomové práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu §60 Zákona č.121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon).

V dne

.....

podpis

Obsah

Abstrakt.....	iii
Abstract.....	iii
Poděkování.....	iv
Seznam symbolů a zkratk.....	9
Úvod.....	10
1. Hydrogely a jejich použití v medicíně.....	11
1.1. Hydrogely.....	11
1.2. Použití hydrogelů v medicíně.....	12
1.1.1 Aktivní vrstvy biologických senzorů.....	13
1.1.2 Povlaky přístrojů, nástrojů nebo implantabilních zdravotnických prostředků.....	13
1.1.3 Regenerace tkání.....	14
1.1.4 Implantabilní hydrogely.....	14
1.1.5 Nosiče léčiv.....	14
2. Uvolňování bioaktivních látek z polymeru.....	15
2.1 Princip uvolňování látky z polymeru.....	15
2.2 Matematické modely.....	15
2.2.1 Difuzní model.....	16
2.2.2 Model kinetiky 0. řádu.....	16
2.2.3 Model kinetiky 1. řádu.....	17
2.2.4 Higuchiův model.....	17
2.2.5 Korsmeyer-Peppasův model.....	17
2.2.6 Weibullův model.....	18
3. Vliv struktury a tvaru matric na uvolňování bioaktivní látky.....	19
3.1 Materiál polymerní matrice.....	19
3.1.1 pH senzitivní hydrogely.....	19
3.1.2 Teplotně senzitivní hydrogely.....	20
3.2 Interakce bioaktivní látky a polymerní sítě.....	21
3.2.1 Typy interakcí.....	21
3.2.2 Princip interakce.....	22
3.3 Struktura matric.....	22
3.4 Tvarové parametry.....	23

4.	Řízené uvolňování bioaktivních látek v medicíně.....	25
4.1	Uvolňování bioaktivních látek v oftalmologii	25
4.2	Implantabilní systémy s řízeným uvolňováním.....	26
5.	Tkáňové expandéry jako nosiče bioaktivních látek	27
5.1	Mechanismus expanze.....	27
5.2	Typy tkáňových expandérů.....	28
5.3	Materiál tkáňových expandérů.....	29
5.4	Hydrogelový expandér jako nosič léčiva.....	30
5.5	Tkáňová expanze ve stomatologii	31
6.	Řízené uvolňování benzokainu.....	32
6.1	Lipozomy.....	32
6.2	Nanočástice	33
6.3	Imobilizace benzokainu na grafitovou monovrstvu.....	34
6.4	Polymerní gely	34
6.5	Mukoadhezivní tablety.....	35
7.	Cíle.....	36
8.	Hypotézy	36
9.	Popis použitých hydrogelů.....	37
9.1.	Poly(HEMA-co-EDMA)	37
9.2.	Poly(HEMA-co-MA)	37
9.3.	Poly(styren-co-m.a.).....	38
10.	Metodika	39
10.1.	Výroba matric	39
10.1.1.	Polymerizační směsi	39
10.1.2.	Formy.....	40
10.1.3.	Polymerizace a příprava matric	41
10.2.	Stanovení časového profilu uvolňování benzokainu.....	42
10.2.1.	Uvolňování benzokainu	42
10.2.2.	Vysokoučinná kapalinová chromatografie	42
10.2.3.	Zpracování naměřených dat.....	43
10.3.	Stanovení stupně botnání	43
11.	Výsledky	44

11.1.	Časový profil uvolňovaného benzokainu	44
11.1.1.	Tloušťky hydrogelových matric	44
11.1.2.	Průřez hydrogelových matric	46
11.1.3.	Struktura hydrogelových matric	47
11.1.4.	Množství benzokainu v matrici	48
11.2.	Stupeň botnání	49
11.2.1.	Tloušťky hydrogelových matric	49
11.2.2.	Průřez hydrogelových matric	49
11.2.3.	Struktura hydrogelových matric	50
11.2.4.	Množství benzokainu v matrici	50
12.	Diskuse	51
12.1.	Materiálové charakteristiky matrice	51
12.1.1.	Materiál	51
12.1.2.	Stupeň botnání	52
12.2.	Tvarové parametry matrice	52
12.2.1.	Tloušťka	52
12.2.2.	Tvar průřezu	53
12.2.3.	Struktura matrice	53
12.2.4.	Koncentrace benzokainu v polymerizační směsi	54
13.	Závěr	56
	Seznam obrázků a grafů	58
	Seznam tabulek	59
	Seznam příloh	60
	Literatura	61
	Přílohy	68

Seznam symbolů a zkratek

ABIN	N,N'-azobis(isobutyronitril)
CaCMC	vápenatá sůl karboxymethylcelulózy
DVB	divinylbenzen
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv v USA
EDMA	etylendimetakrylát
HEMA	2-hydroxyethylmetakrylát
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
MA	kyselina metakrylová
m.a.	maleinanhydrid
PCL	poly(ϵ -kaprolaktan)
PLA	poly(L-mléčná kyselina)
PLGA	poly(mléčná-co-glykolová kyselina)
poly(HEMA-co-EDMA)	kopolymer 2-hydroxyethylmetakrylátu a etylendimetakrylátu
poly(HEMA-co-MA)	kopolymer 2-hydroxyethylmetakrylátu a kyseliny metakrylové
poly(styren-co-m.a.)	kopolymer styrenu a maleinanhydridu
PVP	polyvinylpyrolidon
HOPG	vysoce organizovaná monovrstva pyrolytického uhlíku
HPMC	hydroxypropylmethylcelulóza
T_g	teplota skelného přechodu
SAM	samoorganizovaná monovrstva
SB	stupeň botnání

Úvod

Pojem hydrogel vymezuje skupinu polymerních materiálů, které do sebe mohou sorbovat vodu, aniž by došlo k poškození jejich prostorové struktury. Jejich společným rysem je dobrá biokompatibilita, díky které mohou být s úspěchem použity v širokém spektru biomedicínských aplikací. Za první a zároveň asi nejznámější aplikaci hydrogelového materiálu v medicíně jsou považovány měkké kontaktní čočky. Ty byly představeny Otto Wichterlem za přispění Drahošlava Líma již v 60. letech 20. století. Hydrogelové materiály jsou v současnosti například běžnou součástí nosičů bioaktivních látek nebo slouží jako základ implantabilních zdravotnických prostředků.

Důležitou vlastností hydrogelu je jeho schopnost absorbovat tekutinu z okolí. Takovou tekutinou může být i mezibuněčná tekutina, a proto se nabízí možnost využít hydrogelů jako nosičů bioaktivních látek. Proces uvolnění bioaktivní látky není však tak jednoduchý, jak by se mohlo zdát. Uvolňování látky se nemusí řídit pouze parametry difuze tekutiny do materiálu, resp. difuze bioaktivní látky do této tekutiny, ale záleží také na relaxačních procesech v polymerní síti. Pro popis uvolňování bioaktivní látky tak nemusí ve všech případech platit Fickovy zákony difuze a je tedy nutné použít jiné matematické modely.

Kinetiku uvolňování bioaktivní látky mohou navíc ovlivnit i další parametry hydrogelové matrice. Takovými parametry mohou být materiál, jeho botnavost a interakce s molekulou bioaktivní látky, struktura nebo geometrický tvar matrice.

Jako hydrogelová matrice může sloužit i zdravotnický prostředek primárně určený k jinému účelu, např. hydrogelový tkáňový expandér. Ten na základě absorpce tekutiny botná a vytváří botnací tlak, který je přenášen na okolní tkáň a stimuluje jejich expanzi. Díky tomu, že hydrogelový expandér může být vyroben v dostatečně malých rozměrech, je možné takový expandér použít i v těžce dostupných oblastech, např. v ústní dutině.

Praktická část práce se zabývá zhodnocením vlivu vybraných charakteristik třech hydrogelových materiálů z hlediska kinetiky uvolňování modelové látky. Jako modelová látka slouží lokální anestetikum benzokain, který je běžně používán např. ve stomatologii. Hodnocené charakteristiky hydrogelových matric zahrnují tloušťku, specifický průřez a její strukturu. Hodnocen je i vliv množství inkorporované modelové látky do hydrogelové matrice na charakteristiku jejího uvolňování. Množství uvolňované látky in vitro je pro předem stanovené časové intervaly analyzováno vysokoučinnou kapalinovou chromatografií.

1. Hydrogely a jejich použití v medicíně

1.1. Hydrogely

Pojem hydrogel představuje skupinu polymerních materiálů, pro které je charakteristická vysoká absorpce vody, při níž nedochází k porušení prostorové struktury polymeru. V zásadě lze polymery dělit na základě jejich původu, struktury polymerní sítě, fyzikálních vlastností nebo biologické rozložitelnosti. Hydrogely mohou být složeny z čistě přirozených molekul, existují však také syntetické nebo hybridní hydrogely. Z hlediska struktury polymerní sítě můžeme hydrogely dělit na homopolymery, tedy polymery s jediným typem monomerní jednotky, kopolymery, kde se vyskytují dva nebo více typů monomerů, nebo polymery s navzájem provázanými sítěmi, tzv. interpenetrující polymery (1) (2).

Polymerní síť hydrogelu může být vytvořena na základě chemických vazeb, případně fyzikálních interakcí – van der Waalsovy síly. Povaha chemické vazby pak dále určuje charakteristiku polymeru. Na základě přítomnosti iontových vazeb rozlišujeme polymery neutrální, kationtové, aniontové, v případě přítomnosti obou typů náboje pak amfolytické (2). Struktura polymerní sítě může být charakterizována na základě prostorového uspořádání oblastí, kde dochází k síťování. Teoreticky ideální je pravidelné rozmístění těchto oblastí mezi čtyři různé molekulové řetězce, může však docházet k propojení několika řetězců na více místech, jejich zapletení, prodloužení řetězců bez vzniku prostorové sítě, případně ke vzniku smyček. V reálném případě pak dochází ke kombinaci zmíněných případů (2).



Obr 1.1: Struktura polymerní sítě (2)

Do širšího povědomí se hydrogely dostaly v 60. letech 20. století, kdy Otto Wichterle a Drahoslav Lím zkoumali materiály vhodné pro použití v medicíně, zejména pak v oftalmologii. Takový materiál měl být mj. biokompatibilní, dobře propustný pro látky rozpustné ve vodném prostředí, chemicky, biochemicky a tvarově stabilní a srovnatelně s okolními tkáněmi také jemný (1).

V rámci zkoumání polymerů na bázi triethylenglykol dimetakrylátů (TEGDMA) byl Drahoslav Lím jednoho dne nucen přerušit reakci dřívě, a proto přes noc ponechal její produkt ve vodném prostředí. Následující den zjistil, že došlo k absorpci vody do materiálu polymeru. Tento jev vedl Líma a Wichterleho k bližšímu zkoumání síťovaných polymerů na bázi metakrylátových esterů a následně i k publikacím prvních článků v Nature v roce 1959 a 1960 zmiňující hydrogely a jejich dobrou biokompatibilitu. První aplikací hydrogelů byly měkké kontaktní čočky, jež odstartovaly celou řadu aplikací hydrogelů v medicíně (1).

Biokompatibilita hydrogelů je zajištěna právě díky vysokému obsahu vody, který je materiál schopen pojmout. Množství vody, které je přítomno v hydrogelu v rovnovážném stavu zbotnění je určena rovnováhou mezi hnací silou mísení a mechanickou silou, která odpovídá rezistenci polymerní sítě na expanzi (1).

Příprava polymerních sítí hydrogelů může být provedena na základě chemické reakce nebo zářením. Polymerizace chemickou reakcí může být docílena pomocí síťovadla malé molekulové hmotnosti se dvěma, resp. několika funkčními skupinami, nebo v případě kopolymerizace také použitím dalšího typu monomeru. Pro polymerizaci zářením je pak nutná přítomnost elektronů ve svazku, proto je nejčastěji používáno záření gama, rentgenové nebo UV (2).

Klíčovou roli při samotné polymerizaci hraje iniciátor, jehož přítomnost je nezbytná pro nastartování řetězové reakce. Aktivací iniciátoru dojde k iniciační reakci s molekulou monomeru a vzniku růstového centra polymerizace. Aktivace iniciátoru pak v případě radikálové polymerizace může být docílena termickým rozkladem základní molekuly nebo rozkladem elektromagnetickým zářením. V případě oxidačně-redukční iniciace je iniciátorem systém peroxidických sloučenin, redoxních a komplexotvorných činidel nebo regulátorů pH (3).

1.2. Použití hydrogelů v medicíně

Vůbec první aplikací hydrogelů v medicíně byly měkké kontaktní čočky, nicméně téměř současně s vývojem materiálů pro kontaktní čočky byl zahájen také vývoj materiálů pro další medicínské aplikace. V současné době jsou hydrogely využívány v mnoha oblastech medicíny.

1.1.1 Aktivní vrstvy biologických senzorů

Modifikací hydrogelového materiálu může být dosaženo specifických vlastností důležitých pro detekci biologicky významných látek. Příkladem materiálu, který může být využit pro detekci takové látky, např. glukózy, může být poly(allylamin hydrochlorid). Kovalentní vazba materiálu se zlatým povrchem pak dává vznik selektivnímu senzoru. Modifikací poly(allylamin hydrochloridu) zlatými nanočásticemi dojde ke zvýšení indexu lomu materiálu, což v případě spektroskopické detekce může dále zvýšit citlivost senzoru s takovou aktivní vrstvou (4).

Detekce glukózy prostřednictvím hydrogelu může být realizována také na základě reverzibilních vazeb molekul glukózy, které z okolí difundují do materiálu. Vazba glukózy na materiál pak může měnit dielektrické vlastnosti hydrogelu (5).

Jinou oblastí detekce, kde je možné využít hydrogelové materiály, je změna vnějších podmínek, např. pH. Ke změně pH dochází např. při probíhajícím zánětu. Může být proto vhodné zkombinovat dva druhy hydrogelů, kde první z nich je citlivý na změnu pH. Spolu se zvýšením pH degraduje a dává přístup k druhému materiálu. Druhý hydrogel pak může obsahovat specifické barvivo, které v daných podmínkách produkuje luminiscenci (6).

1.1.2 Povlaky přístrojů, nástrojů nebo implantabilních zdravotnických prostředků

Hydrogely mají své uplatnění také jako materiály povlakových vrstev některých implantabilních zdravotnických prostředků nebo nástrojů.

Hydrofilní povlaky nemají za úkol, na rozdíl od jiných druhů povlaků, chránit povrch před mechanickým, resp. chemickým poškozením, nebo zlepšit estetické vlastnosti předmětu. Vytvořením hydrofilního povlaku může dojít k významnému vylepšení funkčních vlastností povrchu (7).

Většina polymerních materiálů, které mohou být teoreticky uvažovány jako prostředek pro modifikaci povrchu, vykazují neuspokojivou smáčivost především kvůli nízkému povrchovému napětí. Některé polymery, které naopak disponují smáčivými povrchy, zejména polyetylen nebo polyamidy, však v kontaktu s okolní biologickou tkání působí její iritaci nebo destrukci. Aplikace hydrofilních materiálů, hydrogelů, jako polymerních povlaků, může vylepšit stávající benefity zdravotnického prostředku a zároveň významně snížit riziko poškození okolní tkáně (7).

Příkladem takových povlaků může být kombinace poly(etylen glykol)-heparin se stříbrnými nanočásticemi jako povlaku katetrů pro simultánní zajištění antikoagulačního a antimikrobiálního efektu. To v porovnání s konvenčními přístupy jako je např. povlakování materiálu katetru vrstvami s bakteriocidními nebo bakteriostatickými účinky, přináší další výhodu použití takto upraveného katetru v podobě hemokompatibility (8).

Jiným příkladem hemokompatibilní hydrogelové povlakové vrstvy může být vrstva polyvinylpyrolidonu (PVP) nanesená na polyuretanový substrát. Hemokompatibilita PVP vrstvy může být využito u zdravotnických prostředků, které přichází do kontaktu s krví (9).

1.1.3 Regenerace tkání

Problematika léčby ran je komplikovaná a komplexní. Existuje mnoho způsobů jejich léčby a každý z nich více či méně splňuje požadavky pro vhodnou léčbu v konkrétním případě. Hydrogely jsou jedním z prostředků léčby ran. Jsou běžně používány jako materiály vhodné pro překlenutí ran, prostředků pro jejich kontinuální zvlhčování. Jako integrální součásti mastí odpadá potřeba hydrogel pravidelně zvlhčovat a hodí se tak i pro suché rány (10).

Výhodou kontinuálního zvlhčení ran v důsledku kontaktu s hydrogelem je podpoření produkce kolagenu, který je nezbytný pro tvorbu tkáně uzavírající ránu. Mohou navíc absorbovat a následně i zadržovat volné látky produkované z místa rány a znesnadňovat tak mj. přístup patogenů. Vysoký obsah vody v hydrogelu pak podporuje přístup kyslíku do prostoru rány (10).

V kombinaci s dalšími materiály, např. kovovými nanočásticemi nebo dalšími druhy hydrogelových materiálů jsou hydrogely slibnou cestou řešení léčby ran (10).

1.1.4 Implantabilní hydrogely

Díky vysoké biokompatibilitě mohou být hydrogely s vysokou úspěšností implantovány do těla. Klasickým případem jsou hydrofilní nitrooční čočky, které jsou vyrobeny na bázi poly(HEMA) a jiného akrylátu. Díky vysokému obsahu vody v materiálu lze čočky snadno deformovat, foldovat. Foldovaná čočka nevyžaduje při implantaci provádět velký řez do rohovky a významně tak snižuje riziko vzniku indukovaného astigmatismu (11).

Další oblastí, kde jsou hydrogely implantovány do těla, jsou implantáty, v případě omezené doby implantace pak tkáňové expandéry. Implantovaný hydrogel v suchém stavu po implantaci začne absorbovat tkáňovou tekutinu a následně vytvářet botnací tlak. Ten je přenášen na okolní tkáň a stimuluje a řídí tak tkáňovou expanzi.

1.1.5 Nosiče léčiv

Nedlouho po objevu hydrogelů začal jejich vývoj směřovat směrem k nosičům bioaktivních látek. Forma nosiče je vždy přizpůsobená dané aplikaci. V některých případech botnající hydrogel funguje jako prostředek pro otevření zásobníku s látkou, jindy je nosičem samotný materiál hydrogelu. V závislosti na místě, kam má být bioaktivní látka dopravena, a požadovaném časovém profilu uvolňování, se volí materiál hydrogelu, který specificky interaguje s bioaktivní látkou, případně specificky reaguje na okolní podmínky, např. pH.

2. Uvolňování bioaktivních látek z polymeru

Jako prostředek pro řízené uvolňování bioaktivních látek může mj. sloužit polymerní matrice. Pro návrh a optimalizaci takového nosiče bioaktivní látky je však nutné znát kinetiku uvolňování dané látky z polymeru.

2.1 Princip uvolňování látky z polymeru

Uvolňování látky z polymeru je komplexní proces, který závisí nejen na struktuře polymeru, ale také na interakci bioaktivní látky s polymerem a okolních podmínkách, např. pH nebo teplota. Z výše zmíněných důvodů je proto poměrně obtížné stanovit přesný matematický model, který by do detailů vystihoval celý proces uvolňování (12) (13).

Ve většině aplikací je hydrogelový nosič látky na začátku v dehydrovaném stavu. V okamžiku, kdy je dehydrovaný hydrogel (xerogel) umístěn do vodného prostředí, dochází k absorpci vody do struktury hydrogelové matrice. Matrice v důsledku absorpce vody začíná bobtnat, zvětšovat svůj objem, a teplota skelného přechodu T_g se snižuje. Polymer začíná měnit svoji fázi z amorfni na viskoelastickou (kaučukovitou) a vzniká tak fázové rozhraní, které se pohybuje konstantní rychlostí od povrchu polymeru směrem k jeho středu. Současně s tímto procesem dochází k postupnému uvolňování léčiva rozpuštěného nebo rozptýleného v matrici skrz tuto kaučukovitou fázi. Díky přítomnosti relaxačních procesů, které v polymerní síti probíhají, se difuze látky z polymeru stejně jako absorpce vody, resp. bobtnání nemusí řídit Fickovým zákonem difuze. Hovoříme proto o nefickovském chování polymerů (12).

To, zda se difuze bude chovat podle Fickova zákona či nikoliv, závisí na poměru teploty okolí a teploty skelného přechodu hydrogelu a termodynamické kompatibilitě mezi rozpouštědlem a hydrogelem. Pokud je termodynamická kompatibilita příznivá, teplota skelného přechodu je snížena pod teplotu okolí, následkem čehož dochází k výraznému bobtnání hydrogelu a jeho přeměny v kaučukovitou fázi. Míra relaxačních procesů vznikajících na rozhraní amorfni a kaučukovité fáze je řídicím parametrem pro chování polymeru podle či proti Fickovu zákonu (12).

2.2 Matematické modely

V literatuře je popsáno několik přístupů zabývajících se řízeným uvolňováním léčiva z polymeru. Jedná se o přístupy čistě statistické, nebo metody založené na vytvořených modelech. Jednotlivé modely jsou pak založené na teoretických principech, empirickém pozorování nebo jejich kombinacemi.

Níže jsou uvedeny nejčastější modely, které se snaží předpovědět, jakým způsobem bude probíhat proces uvolňování bioaktivní látky z polymerní matrice.

2.2.1 Difuzní model (13) (14) (15)

Difuze je proces, kdy molekuly látky prostupují skrz membránu nebo její póry a kanály. V případě pasivní difuze je její hnací silou rozdíl koncentrací na obou stranách membrány. Usnadněná difuze, která se částečně uplatňuje u biologických membrán, je pak modifikací pasivní formy, kdy je přenosu látky uskutečněno díky její vazbě na specifické membránové proteiny nebo přenašeče. Pasivní proces difuze je popsán Fickovými zákony difuze.

První Fickův zákon popisuje tok látky na základě gradientu koncentrace.

$$J = -D \left(\frac{dc}{dx} \right) \quad (2.1)$$

Kde J je tok bioaktivní látky, D difuzní koeficient charakterizující míru odporu, který klade membrána difuzi. dc/dx je pak gradient koncentrace látky. Záporné znaménko značí fakt, že difuze probíhá v opačném směru k vzrůstající koncentraci látky.

Druhý Fickův zákon pak postuluje fakt, že změna koncentrace nastává nejen s prostorovou souřadnicí, ale také v čase. Látka tedy mění své rozložení v prostoru a v čase, její celkové množství je však konstantní.

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (2.2)$$

Jak bylo zmíněno výše, proces uvolňování látky z polymeru se nemusí vždy řídit Fickovými zákony.

2.2.2 Model kinetiky 0. řádu (13) (14)

V případě, že jsou splněny podmínky anomální (nefickovské difuze), je difuzní koeficient funkcí koncentrace a času. Tehdy můžeme říci, že hmotnost absorbované vody, resp. aktuální hmotnost zbotnalého polymeru, resp. hmotnost uvolněné bioaktivní látky, jsou konstantní. Tento jev popisuje model kinetiky 0. řádu. Matematicky ho vyjadřuje vzorec (2.3)

$$C = C_0 - K_0 t \quad (2.3)$$

kde C je množství uvolněné látky, C_0 počáteční množství látky v okolním prostředí, K_0 konstanta 0. řádu a t čas.

Model kinetiky 0. řádu je běžně používán pro matricové tablety obsahující rozpustné bioaktivní látky na povrchu, osmotické nebo transdermální systémy.

2.2.3 Model kinetiky 1. řádu (13) (14)

Model kinetiky 1. řádu je používán v případech, kde dochází k uvolnění látky, nicméně je složité proces vysvětlit teoreticky.

$$\log C = \log C_0 - \frac{Kt}{2,303} \quad (2.4)$$

kde C je koncentrace látky, C_0 je počáteční koncentrace látky, K je konstanta 1. řádu a t čas. Model kinetiky 1. řádu poměrně dobře popisuje proces uvolnění hydrofilních léčiv z porézních polymerních matic.

2.2.4 Higuchiův model (13) (14)

Higuchiův model je model pravděpodobně používán nejčastěji a dobře popisuje chování látky v případě rozdílných geometrií a porézních systémů. Pro tento model jsou klíčové předpoklady, že počáteční koncentrace látky v polymeru je významně vyšší než její koncentrace v okolí, difuze látky probíhá pouze v jednom směru, zanedbává tak tedy přítomnost hranového efektu, difuzivita látky je konstantní, velikost molekul látky je menší než tloušťka celé matrice, botnavost a rozložitelnost matrice je zanedbatelná. Z posledně jmenované podmínky je zřejmé, že tento model nelze použít u hydrogelových matic, pro úplnost zde však bude uvedeno matematické vyjádření tohoto modelu.

$$C = \{D(2qt - Cs)Cst\}^{\frac{1}{2}} \quad (2.5)$$

kde C je celkové množství uvolněné látky z jednotkové plochy, D difuzní koeficient látky v matrici, qt množství látky v jednotkovém objemu, Cs rozpustnost látky v objemu matrice a t čas.

2.2.5 Korsemeyer-Peppasův model (13) (14)

Korsemeyer-Peppasův model popisuje proces uvolňování látky z polymeru, přičemž uvažuje difuzi vody do matrice, její botnání, a difuzi látky z matrice. Předpokládá však, že difuze látky z matrice probíhá pouze v jednom směru a poměr tloušťky a délky systému by měl být co nejnižší.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{KP} t^n \quad (2.6)$$

kde M_t je množství uvolněného léčiva v čase t , M_∞ konečné množství uvolněného léčiva z matrice, k_{KP} kinetická konstanta a hodnota n se pohybuje v případě nefickovského chování v rozmezí 0,5-1.

2.2.6 Weibullův model (13) (14)

Model podle Weibulla je čistě empirický a je často používán pro popis uvolňování rozpustné látky z polymerních matric. Matematicky je vyjádřen vztahem (2.7)

$$C = C_0 \left\{ 1 - e^{\left[-\frac{(t-T)^b}{a} \right]} \right\} \quad (2.7)$$

kde C je množství rozpuštěné látky, C_0 celkové množství uvolněné látky, T mrtvý čas získaný díky rozpuštění látky v okolním médiu, a parametr, který představuje časovou závislost a b konstanta tvaru křivky. Hodnota $b = 1$ představuje exponenciální tvar, $b < 1$ představuje strmější křivku než v předchozím případě a $b > 1$ znázorňuje sinusový tvar křivky.

3. Vliv struktury a tvaru matric na uvolňování bioaktivní látky

3.1 Materiál polymerní matrice

V případě hydrogelových matric je uvolňování obsažené bioaktivní látky řízené botnáním celého systému. Bioaktivní látka, která je inkorporovaná do polymerní sítě, se v případě dehydrovaného stavu, xerogelu, nachází v jeho amorfní fázi. Během botnání dochází k fázové přeměně a vzniku rozhraní mezi kaučukovitou a amorfní fází. Toto rozhraní postupuje směrem z vnějšku matrice do jejího středu. Protože obsažená bioaktivní látka difunduje do okolního média skrz kaučukovitou fázi polymeru, je rychlost, s jakou dochází k přeměně fází, jedním z klíčových faktorů, které ovlivňují kinetiku uvolňování. (16)

Poměr rychlosti difuze bioaktivní látky v kaučukovité fázi a rychlosti šíření fázového rozhraní v polymeru je určující pro rychlost, s jakou se látka uvolňuje do okolí. Pokud je rychlost, s jakou je rozpouštědlo sorbováno do matrice vyšší než rychlost difuze bioaktivní látky, je rychlost botnání stěžejním faktorem celého procesu. Poměr mezi rychlostmi botnání a difuze S_w slouží jako parametr při posuzování, zda je při uvolňování bioaktivní látky dominantnější proces difuze nebo botnání (16).

$$S_w = \frac{u\delta(t)}{D_i} \quad (3.1)$$

kde u rychlost šíření fázového rozhraní, $\delta(t)$ tloušťka zbotnalé oblasti, kterou difunduje látka a D_i difuzní koeficient látky ve zbotnalé oblasti.

Rychlost, s jakou hydrogel botná, může být ovlivněna materiálem hydrogelu ale také vnějšími podmínkami. Modifikace stupně zbotnání hydrogelu a jeho časový profil může být například ovlivněn různou hydrofilitou, resp. hydrofobitou použitých monomerních jednotek. Změna okolních podmínek může hrát významnou roli v procesu fázové přeměny a tedy stupně zbotnání hydrogelu. Tento jev byl poprvé předpovězen v roce 1968 Duškem a Pattersonem a později byl ověřen i experimentálně. Změnou vnějších podmínek může být chápána expozice hydrogelu jiným teplotám nebo pH (1) (17) (18).

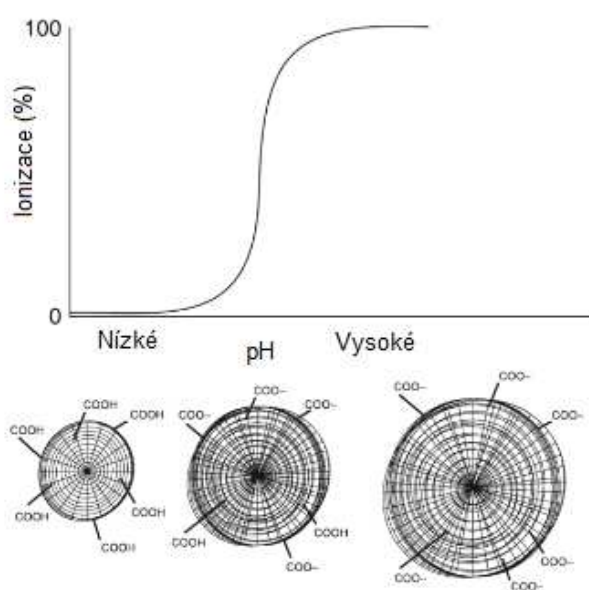
3.1.1 pH senzitivní hydrogely

Struktura pH senzitivního hydrogelu se může měnit v čase společně se změnou pH v jeho okolí. Senzitivity hydrogelu na pH může být dosaženo například přítomností ionogenních skupin v polymerním řetězci. Řetězce obsahující ionogenní skupiny jsou v ionizované formě odpuzovány vlivem elektrostatických sil a botnání hydrogelu je výraznější. V neionizované

formě není elektrostatická repulze tolik výrazná. Rychlost bobtnání pH senzitivního hydrogelu je pak úměrná rychlosti, se kterou proudí ionty rozpouštědla dovnitř a vně polymerní matrice (19) (20).

Příkladem pH senzitivního hydrogelu může být kopolymer 2-hydroxyethyl metakrylátu s kyselinou metakrylovou, poly(HEMA-co-EDMA), která v zásaditém pH poskytuje vyšší permeabilitu pro NaCl. Poly(HEMA-co-EDMA) jako pH senzitivní hydrogel byl poprvé představen Kopečkem a kol. (1).

Odpověď pH senzitivního hydrogelu na změnu pH v okolním médiu ilustruje Obr. 3.1.



Obr 3.1: Chování pH senzitivních hydrogelů (20)

3.1.2 Teplotně senzitivní hydrogely

Teplotně senzitivní hydrogely mohou prokazovat s rostoucí teplotou pozitivní nebo negativní změnu bobtnavosti. Pozitivní změna bobtnavosti s rostoucí teplotou je důsledkem silnějších interakcí mezi hydrofilními segmenty řetězce a molekulami vody (20) (21).

Negativní, inverzní, chování některých hydrogelů je zapříčiněno přítomností mírně hydrofobních skupin v polymerním řetězci nebo směsí hydrofilních a hydrofobních skupin. Podmínka mírně hydrofobních skupin je zde proto, že v případě silně hydrofobních skupin by k absorpci vody do matrice nedocházelo vůbec a nejednalo by se proto o hydrogel. Při nižších teplotách dominují vodíkové vazby mezi hydrofilními segmenty a molekulami vody a absorpce vody do matrice je výraznější. S rostoucí teplotou však roste síla interakcí mezi hydrofobními segmenty a zároveň klesá síla vodíkových vazeb. V důsledku tohoto jevu dochází ke snížení objemu absorbované vody a matrice jako takové (21).

Kritická teplota, při které dochází ke změně stavu hydrogelu, může být ovlivněna poměrem hydrofilních a hydrofobních skupin v polymeru. Kritická teplota velmi podobná tělesné teplotě může být požadována u specifických aplikací hydrogelů, zejména jako nosiče léků.

Příkladem teplotně senzitivních hydrogelů, u kterých dochází ke snížení kritické teploty mohou být polymery a kopolymery různých akrylamidů, např. poly(N-isopropylakrylamid) nebo polyetylenoxid (21).

3.2 Interakce bioaktivní látky a polymerní sítě

Hydrogelová matrice může být s úspěchem použita jako nosič hydrofilní bioaktivní látky, která z matrice snadno a dobře difunduje v průběhu jejího botnání. Pro bioaktivní látky hydrofobní povahy je však obtížnější nalézt vhodný způsob jejich navázání do polymerní sítě. Nejčastěji je toto realizováno na základě hydrofobních blokových domén polymerních řetězců, které nejsou kovalentně vázány a nejedná se tedy o hydrogelový matricový systém. S rostoucí teplotou dochází k agregaci těchto řetězců a vytvoření hydrofobních domén. Uvolnění hydrofilní látky z hydrogelu je připisováno její difuzi, hydrofobní látky jsou uvolňovány v počáteční fázi na základě difuze, v delším časovém horizontu pak na základě degradace polymerních vláken (22) (23) (24).

3.2.1 Typy interakcí

Síla interakce bioaktivní látky s řetězcem polymeru má vliv na kinetiku jejího uvolňování během botnání hydrogelu. Je proto při návrhu vhodného nosiče bioaktivní látky nutné volit takový materiál, který zajistí pro danou aplikaci a bioaktivní látku adekvátní profil jejího uvolňování.

Interakce bioaktivní látky a polymeru mohou být založeny na iontových interakcích, vodíkových můstcích, van der Waalsových silách nebo dipólových interakcích. Síla výše zmíněných vazebných interakcí klesá následovně: iontové interakce, vodíkové vazby, dipólové interakce a van der Waalsovy síly (25).

Podstatou iontových interakcí jsou elektrostatické síly a z výše zmíněných mají největší vazebnou energii. Jedná se proto o silnou interakci vznikající mezi ionizovanými molekulami. V závislosti na jejich náboji jsou tyto interakce přitažlivé nebo odpuzivé (25).

Elektrostatické síly hrají roli i v dipólových interakcích, kdy spolu interagují dvě polární molekuly. Pokud dojde k setkání dvou dipólových molekul, dojde k vytvoření vazebných sil mezi kladnou částí dipólu jedné molekuly a zápornou částí molekuly druhé. U interakcí polymerní sítě a bioaktivní látky nejsou dipólové interakce příliš běžné (25).

Vodíkové vazby jsou patrně nejčastější interakcí mezi bioaktivní látkou a polymerem. Atom vodíku se v tomto případě váže na atom disponující volným elektronovým párem, např. kyslík, dusík nebo fluor. Vodíková vazba se vyznačuje silnou polaritou a elektronový pár je posunut směrem k elektronegativnějším atomu (25) (26).

Van der Waalsovy síly jsou nejběžnějším typem vazby a vyskytují se pravděpodobně ve všech případech interakce bioaktivní látky s polymerem. Jejich podstatou je interakce mezi

dipóly molekul, a to jak stálých tak indukovaných. Van der Waalsovy síly zahrnují přitažlivé i odpudivé síly. Jedná se však o velmi slabou vazbu, proto ve vztahu bioaktivní látky a polymeru nehrají tak významnou roli (25) (26).

3.2.2 Princip interakce

Pokud je interakce mezi bioaktivní látkou a polymerem silnější než interakce mezi samotnými polymerními řetězci nebo molekulami látky, může docházet ke zvýšení teploty skelného přechodu T_g , tedy teploty, nad kterou polymer začíná přecházet z amorfni fáze do kaučukovitě. To je způsobeno snížením volného objemu v polymeru a snížením pohyblivosti řetězců. V opačném případě, kdy jsou interakce bioaktivní látky a polymeru slabší, dochází ke snížení hodnoty T_g . Posun hodnoty T_g může následně ovlivnit fázovou přeměnu v polymeru a nepřímo tak samotné botnání. Příkladem, kdy je T_g polymeru snižováno spolu s rostoucím obsahem bioaktivní látky může být systém itraconazol – HPMC (hydroxypropyl metylcelulóza) nebo bicalutamid – PVP (polyvinylpyrolidon) (25) (27) (28).

Pokud je obsah bioaktivní látky roven nebo je nižší než její rozpustnost v polymeru, nedochází k její krystalizaci. V případě, že je v polymeru obsaženo větší množství látky, dochází k její krystalizaci a termodynamické destabilizaci celého systému (25).

Protože rozpustnost bioaktivní látky v polymeru je ve většině případů nízká, je nutné hledat cesty jak dosáhnout vyššího obsahu látky v matrici a zároveň snížit pravděpodobnost krystalizace této látky. Jednou z možností, jak tohoto efektu dosáhnout, je připravit takový systém, který by obsahoval velké množství vodíkových vazeb mezi molekulami bioaktivní látky a polymerními řetězci. Mnohočetné interakce mezi bioaktivní látkou a polymerem mohou dále zamezit tepelné degradaci látky nebo zajistit větší fyzikální stabilitu systému (25).

U bioaktivních látek kyselé povahy se předpokládá větší vliv na rychlost hydrolyzy esterových vazeb polymeru, která usnadňuje jeho degradaci a uvolnění látky z matrice. U bazických látek může dojít k zásadité katalýze esterových vazeb nebo k neutralizaci karboxylových skupin na polymerních řetězcích, která zabrání jejich autokatalýze. Přítomnost bazických bioaktivních látek tak může zrychlit nebo zpomalit degradaci polymeru a prodloužit tak dobu, po kterou jsou uvolňovány z polymerní matrice (29).

3.3 Struktura matric

Rozmanitost hydrogelových materiálů spolu s velkým množstvím jejich aplikací s sebou přináší mnoho možností, jak kontrolovat množství vody, kterou do sebe sorbují. V homogenním materiálu je množství vody, které matrice dokáže pojmout limitováno rozměry mezi jednotlivými polymerními řetězci nebo průměry pórů matrice. Takové polymery, kde je absorbovaná kapalina rozmístěna v materiálu homogenně, jsou vhodnou volbou pro

všechny aplikace, které vyžadují např. kvalitní optické vlastnosti polymeru, nicméně pro některé aplikace mohou být výhodnější větší sorbovaný objem nebo možnost transferu makromolekul (30) (31).

Podle velikosti pórů v matrici rozlišujeme polymery mikroporézní (do 50 nm), makroporézní (50 nm – 1 μm) a supermakroporézní (1 μm a více). Velikost a počet pórů v matrici jsou důležitými faktory, které mohou zásadně ovlivnit transportní vlastnosti hydrogelu. Póry, které se v matrici nacházejí, mohou být izolované nebo propojené. Přítomnost pórů v matrici zrychlí absorpci a uvolnění látky z matrice, v případě propojených pórů jsou tyto procesy rychlejší. Nevýhodou makroporézních hydrogelů a hydrogelů obecně jsou však jejich špatné mechanické vlastnosti v hydratovaném stavu (32).

Kontrolu nad velikostí pórů může mít samozřejmě obsah síťovadla v polymerizační směsi, nicméně pro přípravu pórů větších rozměrů je nutné využít některý z následujících prostředků.

Příprava makroporézních hydrogelů může probíhat za přítomnosti krystalické matrice, která je pro vlastní polymerizaci hydrogelu dispergována nebo rozpuštěna zanechávajíc v hydrogelu póry. Známa je i příprava formou fázové separace (31).

Jednou z technik výroby makroporézních matric je tzv. „freeze-thaw“ technika, kde jako krystalická matrice slouží krystalky ledu, které jsou po vytvoření polymerní sítě rozmrazeny. Polymerizace směsi je dosaženo UV zářením za přítomnosti iniciátoru citlivého na UV. „Freeze-thaw“ technikou jsou vytvořeny matrice s propojenými póry (30).

Jako matrice, kolem které je vytvořen polymer a která v důsledku určuje velikost pórů, mohou sloužit i rozpustné nebo dispergovatelné porogeny. Ty po polymerizaci mohou být snadno odstraněny. Výhodou použití porogenů přesně daných rozměrů je snadná kontrola nad velikostí pórů nezávisle na složení výsledného polymeru. Ne všechny používané porogeny jsou však rozpustné ve vodě, např. dextrin, a k jejich eliminaci je nutné použít kyselé nebo zásadité prostředky. Důvodem jejich použití je však dostatečně velký průměr výsledných pórů (30).

Technika fázové separace je založena na rozdělení homogenní polymerizační směsi rozpouštědlem na oblasti bohaté a chudé na polymerní řetězce. Po odstranění rozpouštědla dojde k odstranění oblastí chudých na polymerní řetězce a vytvoření pórů v materiálu. Fázová separace může mít povahu kapalina - kapalina nebo pevná látka – kapalina, ke které může dojít např. vlivem krystalizace rozpouštědla (32).

3.4 Tvarové parametry

Na kinetiku uvolňování bioaktivní látky z hydrogelu má vliv i celkový geometrický tvar matrice. V literatuře je popsáno několik případů, kdy byl profil uvolňování bioaktivní látky z polymerní matrice jednotného složení závislý na jejím geometrickém tvaru.

Příkladem mohou být hydrogelové matricové tablety z HPMC lisované do válcovitého, polokulovitého a trojúhelníkovitého tvaru, které obsahovaly teofylin stejné koncentrace. Bylo zjištěno, že nejrychleji je teofylin uvolňován z trojúhelníkové matrice, následované válcovou a polokulovitou (33).

V případě válcové matrice z HPMC dochází se zvyšující se výškou k nárůstu množství uvolněné látky nezávisle na jejím druhu a typu okolního elučního média. To je připisováno faktu, že s rostoucí výškou válce roste relativní povrch tělesa, tedy poměr mezi absolutním povrchem a absolutním objemem. S kladnou změnou počátečního poloměru válcové matrice dochází naopak ke snížení celkového množství uvolněné látky, což je pravděpodobně způsobeno snížením relativního povrchu s tělesa (34).

Z výše zmíněného je tedy patrné, že s rostoucím poměrem povrchu a objemu tělesa dochází k efektivnějšímu a rychlejšímu uvolnění bioaktivní látky, zatímco s klesajícím poměrem povrchu a objemu je teoreticky potřeba delšího času k uvolnění stejného množství bioaktivní látky.

Vzhledem k tomu, že proces botnání postupuje z vnější části matrice směrem k jejímu středu, dochází v matrici k vytvoření rozdílného vnitřního napětí ve středové a externí části matrice. V oblasti hrany může být rozpouštědlo absorbováno hned z několika různých směrů – ze stran, z horní a spodní části matrice. Plocha, která je zde exponována okolnímu rozpouštědлу, je v porovnání s objemem této části matrice výrazně větší, a proto dochází k rychlejšímu botnání a dosažení rovnovážného stavu v této oblasti. Středová část matrice naopak disponuje menším poměrem exponované plochy a objemu, botná tedy o něco méně a pomaleji. To má za následek vytvoření rozdílného vnitřního napětí v těchto dvou oblastech matrice, které je kompenzováno přeskupením polymerních řetězců podle směru tohoto napětí. Pokud bychom uvažovali geometrický tvar matrice jako válec nebo hranol, mělo by u hranolu dojít k většímu nabotnání ve směru jeho delší hrany, u válce pak v jeho ose. Botnání hydrogelových matric se tedy nemusí chovat ve všech případech izotropně (35).

4.Řízené uvolňování bioaktivních látek v medicíně

Cesty, kterými může být bioaktivní látka dopravena na cílové místo, je několik. Rozlišujeme aplikace systémové a lokální. Systémovou aplikací pak rozumíme enterální aplikaci, kde dochází ke vstřebání látky do systémového oběhu gastrointestinálním traktem, a parenterální, kde je látka do systémového oběhu vstřebávána jinou cestou než gastrointestinálně. Lokální aplikace naopak nevyžaduje systémový oběh látky a terapeutického účinku je dosahováno v místě aplikace látky a to buď na kůži, sliznici nebo gastrointestinální sliznici (36).

Výhodou řízeného uvolňování bioaktivních látek je možnost snížit množství dodávané látky stejně jako upravit časový profil, s kterým je látka dodávána, aniž by byl narušen její terapeutický účinek. Navíc je možné látku lépe cílit směrem k cílové tkáni, aniž by byly ovlivněny další systémy v těle.

Zdravotnické prostředky, které nesou bioaktivní látku, mohou být pro tento účel primárně navrženy, v literatuře jsou však popsány i takové systémy, které uvolňují bioaktivní látku v návaznosti na svůj primární účel. Tato kapitola se více zaměří na druhý typ nosičů bioaktivních látek. Jejich kompletní výčet je však nad rámec této práce, a proto jsou zde uvedeny jen některé z nich.

4.1 Uvolňování bioaktivních látek v oftalmologii

Asi nejznámějším příkladem zdravotnického prostředku, který může být použit zároveň jako nosič bioaktivní látky, jsou měkké hydrogelové kontaktní čočky. Mechanismy, kterými je bioaktivní látka, většinou antibiotikum, do materiálu kontaktní čočky umístěna, zahrnují inkubaci čočky v roztoku této látky s následnou sorpcí do materiálu čočky, modifikaci povrchu kontaktní čočky, kam je látka následně vázána, dispergování koloidní struktury bioaktivní látky do materiálu kontaktní čočky nebo vytvoření tzv. „piggy-back“ čoček a další. Piggy-back čočky jsou speciálním typem kontaktních čoček, které jsou vytvořeny hned z několika na sebe navazujících materiálů, z nichž alespoň jeden je nosičem bioaktivní látky (37) (38).

Podobnými systémy dodávání bioaktivních látek do oka jako tomu je u kontaktních čoček jsou implantabilní hydrogelové prostředky. Ty jsou implantovány pod spojivku, do přední komory, do zadní komory nebo do sklivce. Nitrooční implantáty si kladou za cíl kontrolu nad hojením nitroočních tkání, snížení nitroočního tlaku, snížení rizika vzniku pooperačního zánětu, řešení nitroočních zánětů, lokální aplikaci antibiotik apod. (39).

4.2 Implantabilní systémy s řízeným uvolňováním

Společným rysem implantabilních systémů je jejich umístění dovnitř těla. Předpokládá se tedy, že takový systém by měl uvolňovat bioaktivní látku zcela automaticky. Implantabilních systémů je hojně využíváno např. pro dodávání insulínu, některých hormonů, chemoterapeutik, antibiotik, analgetik nebo protisrážlivých faktorů.

Konstrukce implantabilního nosiče může být závislá na jeho aplikaci. V literatuře jsou popsány dva přístupy – implantabilní elektricky aktivní pumpy a polymerní systémy degradující a nedegradující. Elektricky aktivní pumpy mohou být pravidelně injekčně doplňovány do zásobníku a mohou tedy sloužit dlouhodobě. Jejich velikost však vyžaduje při implantaci větší chirurgický zákrok, který může být spojen s vyšším rizikem infekce. Mechanismus uvolnění bioaktivní látky není řízen na základě koncentračního gradientu, ale rozdílu tlaku. Ten může být indukován vnější mechanickou silou indukovanou v pumpě nebo osmoticky (40).

U erodujících implantabilních systémů je naproti tomu uvolňování bioaktivní látky závislé na procesu eroze materiálu. Pro tyto systémy je nutné použít takový materiál, jehož produkty degradace jsou bezpečné. Ve většině případů je pro tyto účely využíváno polymerních materiálů, zejména poly(kyselina mléčná), poly(kyselina glykolová) a poly(ϵ -kaprolaktan). Tyto materiály jsou s úspěšností používány jako součást kontraceptivních prostředků, zejména nitroděložních tělísek (40).

Implantabilní polymerní systémy mohou být vyrobeny i z nedegradabilních materiálů, např. silikových elastomerů. Takové systémy jsou pak nejčastěji umísťovány subdermálně a jsou používány pro dodávání hormonů (40).

Jako nosiče bioaktivních látek mohou být využívány i biokeramické materiály primárně určené pro regeneraci kostí. Jejich výhodou jsou poměrně velké póry, které jsou v materiálu přítomné a které tedy mohou sloužit jako rezervoáry. Jako bioaktivní látky zde mohou sloužit aminokyseliny, polypeptidy nebo proteiny, např. sérové proteiny podporující regeneraci kostí (41).

5. Tkáňové expandéry jako nosiče bioaktivních

látek

Tkáňová expanze je jev, kdy vlivem působení vnitřních nebo vnějších sil na měkkou tkáň dochází k vytvoření nové tkáně histologicky i funkčně srovnatelné s původní. Tento mechanismus můžeme běžně pozorovat například během těhotenství, kdy dochází ke zvětšení břišní tkáně matky, během růstu mozku plodu, které stimuluje růst lebky, nebo při cílené expanzi tkání rtu nebo ušního laloku u některých původních etnik Afriky (42) (43).

Tohoto jevu bylo poprvé cíleně využito Neumanem, který jako první vytvořil tkáňový expandér pro překrytí zrekonstruované ušní chrupavky měkkou tkání. Na Neumana navázali Radovan a Austadt a Rose konceptem silikonového tkáňového expandéru. Tkáňová expanze je v současnosti využívána v celé řadě medicínských oblastí od chirurgie, korektivní dermatologie, oftalmologie po stomatologii (42) (43) (44) (45).

5.1 Mechanismus expanze

Za expanzi tkáně, která probíhá v řádu několika týdnů až měsíců, je částečně zodpovědná tzv. mechanická expanze, z větší části ale samotná novotvorba tkáně, tedy syntéza kolagenních vláken a myofilament, zvýšená mitotická aktivita buněk a neovaskularizace. Při dlouhodobé expanzi dochází mj. i ke změnám na okolních tkáních, např. ztenčení svalové tkáně, dermis a dočasně i tukové tkáně nebo zvýšení tloušťky epidermis (42) (43).

Krátkodobá expanze tkáně je naproti tomu převážně výsledkem mechanického roztahování tkáně, tzv. biologické roztahování zde není dominantní. To má za následek menší výtěžek expandované tkáně, která má navíc vyšší tendenci kontrahovat (42).

Tkáňová expanze s použitím umělého expandéru souvisí také s vytvořením pouzdra kolem expandéru už v horizontu několika dní. Pouzdro je tvořeno kolagenními vlákny orientovanými paralelně k povrchu expandéru, mezi kterými jsou umístěny protažené fibroblasty, v menší míře pak myofibroblasty. Po dokončení expanze a vyjmutí expandéru dochází ke ztenčení pouzdra, v delším časovém horizontu až k jeho vymizení (42) (45).

Při dlouhodobější expanzi dochází k trvalému snížení průtoku krve cévami. Indukovaná ischemie má za následek novotvorbu cév v oblasti expanze. Samotné zvýšení počtu cév zásobujících oblast expandované tkáně je následkem změny uspořádání cév původní tkáně, uzavřením arteriovenózních zkratů či vyčerpáním neurohumorálních vazoaktivních látek. Nejvíce cév může být pozorováno v oblasti mezi pouzdrem vytvořeným kolem expandéru a překrývající tkání. Zvýšená vaskularizace expandované tkáně zvyšuje pravděpodobnost její správné funkce (42) (43).

5.2 Typy tkáňových expandérů

Výběr správného typu expandéru se odvíjí od typu expandované tkáně nebo požadovaného množství novotvořené tkáně. S tím souvisí výběr správného tvaru a velikosti expandéru, materiálu či způsobu, kterým expandér dosahuje zvětšení svého objemu.

Tvar tkáňového expandéru může přímo souviset s množstvím tkáně, které bude expanzí vytvořeno. Tento předpoklad potvrdil van Rappard a kol., který na základě matematických předpokladů experimentálně ověřil, že největší zisk tkáně vykazují pravoúhlé expandéry v porovnání s poloměsíčitými a kulatými expandéry. Reálný zisk novotvořené tkáně je však o několik desítek procent nižší než předpokládaný. Tento nesoulad je připisován faktu, že dlouhodobá expanze tkáně je zajišťována jak její samotnou novotvorbou, tak ale i částečně jejím mechanickým napínáním, které může částečně vést ke zpětnému smrštění tkáně (46). Dle způsobu zvětšování objemu mohou být tkáňové expandéry rozděleny na dvě skupiny. První skupinu tvoří expandéry, které jsou závislé na plnění z externího zdroje, druhou pak expandéry absorbující mezibuněčnou kapalinu.

První externě plněný expandér byl navržen Radovanem a stal se vzorem pro většinu tkáňových expandérů používaných v současnosti. Sestával ze dvou ventilů spojených s hlavní komorou kumulující kapalinu. První ventil sloužil pro aplikaci tekutiny dovnitř, druhý pak pro případný zpětný odběr tekutiny z expandéru tak, aby bylo dosaženo optimální síly, kterou expandér působil na tkáň. V současné době již většina expandérů s nutností externího plnění obsahuje pouze jeden ventil splňující obě výše zmíněné funkce. Podle polohy ventilu vzhledem k tělu expandéru dále můžeme hovořit o expandérech s distálními nebo integrovanými porty. Výhodou distálních portů je oproti integrovaným nižší riziko perforace expandéru během jeho plnění (43).

Naproti tomu existují expandéry, které nevyžadují plnění z externího zdroje, ale využívají k tomuto účelu mezibuněčnou tekutinu. První absorbující expandér navrhli Austadt a Rose. Princip absorpce mezibuněčné tekutiny byl založen na osmotickém gradientu skrz semipermeabilní silikonovou membránu expandéru díky roztoku NaCl nacházejícímu se uvnitř těla expandéru. Kvůli vysokému riziku perforace expandéru a následné nekrózy okolních tkání nebyl schválen FDA. Novým přístupem pak může být použití takových materiálů, které ve vodném prostředí absorbují vlhkost a následně zvětšují svůj objem. V 90. letech 20. století Wiese navrhl jako vhodnou skupinu materiálů pro tkáňovou expanzi hydrogely. Hydrogelové expandéry jsou indikovány v podobných případech jako konvenční silikonové, otevřely ale další možnosti řešení v místech dostupných jen komplikovaně jako je například orbita nebo ústní dutina (43) (45) (47).

5.3 Materiál tkáňových expandérů

Tkáňové expandéry jsou vyráběny ze dvou skupin materiálů, silikonových elastomerů a hydrogelů.

Silikonové expandéry používané v dnešní době navazují na Radovanův typ, liší se od něj jen minimálně a v tkáňové expanzi představují jakýsi standard. Vyrábí se v mnoha velikostech a tvarech. Jejich nespornou výhodou je dlouhodobá zkušenost s jejich aplikací a průběhem expanze. Možné komplikace spojené s umístěním expandéru do těla zahrnují např. vznik infekce nebo zformování seromu. V případě seromu je tradičně tekutina odstraněna odsátím jehlou. To ale v případě probíhající expanze pomocí silikonového expandéru téměř není možné, protože hrozí riziko jeho propíchnutí. V případě infekce z podobného důvodu není možná aplikace antibiotik injekčně. Expandér musí být vyňat, zánět vyléčen a následně je možné v expanzi měkké tkáně pokračovat (48) (49) (50).

Nový přístup v oblasti silikonových expandérů tak představuje speciální systém komůrek a trubiček zakomponovaných do systému tkáňového expandéru, ze kterých je možné skrz drobné perforace dodávat antibiotika do oblasti kolem expandéru, nebo pokrytí expandéru specifickou vrstvou zabráňující formování biofilmu na povrchu expandéru či uvolňující antibiotikum do okolí (48) (50).

Použití hydrogelu jako materiálu vhodného pro tkáňovou expanzi poprvé navrhl Wiese v roce 1993. Absorpce vody xerogel začne měnit svůj objem. Botnací tlak je přenášen na okolní tkáň a přímo tak řídí vlastní expanzi tkáně. Původní hydrogelový expandér byl vytvořen na bázi kopolymeru metakrylátových derivátů a N-vinylpyrrolidonu a byl vyhodnocen jako biokompatibilní. Výhodou hydrogelového expandéru je vyšší odolnost vůči mechanickému poškození a poměrně snadná výroba požadovaného tvaru. Dokáže navíc produkovat nízký, ale konstantní tlak, který zajistí efektivní tkáňovou expanzi (45) (51).

V současné době je hydrogelový expandér navazující na práci Wiese a kol. k dostání pod obchodní značkou Osmed™. První generace expandérů Osmed™ sestávala pouze s hmoty kopolymeru. Docházelo u nich ale k velkému nárůstu objemu během prvních dní expanze. To zapříčiňovalo diskomfort v průběhu expanze, v některých případech i další komplikace. Řešením bylo tedy překrýt materiál kopolymeru polopropustnou perforovanou silikonovou membránou s předem stanoveným počtem a velikostí perforací. Silikonová membrána regulovala rychlost expanze a přispívala tak ke snadnějšímu přizpůsobení okolních tkání na expanzi. Čas potřebný k dosažení rovnovážného stavu zbotnění je funkcí hustoty perforací silikonové membrány (52) (53).



Obr. 5.1: Hydrogelový tkáňový expandér Osmed™, 2. generace (54)

Další vývoj hydrogelových expandérů obrátil pozornost na regulaci anizotropie botnání, tedy preferenci jednoho směru, ve kterém by mělo být zbotnání největší. Tímto způsobem by bylo možné produkovat novou tkáň tak, aby byla při následném chirurgickém zákroku maximálně využita. Pro anizotropické botnání expandéru byl využit kopolymer na bázi methyl metakrylátu a N-vinylpyrrolidonu. Regulace rychlosti botnání bylo dosaženo, podobně jako u expandéru Osmed™ potažením hmoty kopolymeru polopropustnou silikonovou membránou dané tloušťky s přesně určeným počtem a velikostí perforací. Jistým vylepšením anizotropického expandéru může být náhrada silikonové obálky vrstvou biodegradabilního polymeru, např. poly(mléčná-co-glykolová kyselina) (PLGA). Výhodou použití PLGA při výrobě tkáňového expandéru se zdá být možnost stanovit přesný čas začátku expanze po vložení expandéru do těla nebo možnost výroby expandérů různých tvarů v závislosti na anatomii expandované oblasti bez ohledu na tvar polopropustné silikonové membrány. Výše zmíněný anizotropický expandér je v současné době dostupný pod obchodním názvem Oxtex® a nabízí celou řadu aplikací od rekonstrukční a plastické chirurgie, veterinární použití po použití v zubní nebo oční chirurgii (55) (56) (57).



Obr. 5.2: Hydrogelový tkáňový expandér Oxtex® (58)

5.4 Hydrogelový expandér jako nosič léčiva

Novým přístupem v tkáňové expanzi je využití materiálu expandéru jako nosiče léčiva. Příkladem může být hydrogelový expandér s řízeným uvolňováním antibiotik podle Wackeho a kol. Výhodou současné expanze a antibiotické profylaxe může být snížení rizika potenciální infekce jako důsledku implantace tkáňového expandéru. Pro tyto účely byl použit komerčně dostupný orbitální expandér (Osmed, GmbH Ilmenau, Germany), který byl inkubován v komerčně dostupném roztoku 0,3%, resp. 0,03% tobramycinu nebo 0,3% ofloxacinu. Inkubovaný expandér byl následně vysušen a ponořen do elučního média (0,9% NaCl). Množství uvolněného antibiotika bylo studováno v předem stanovených

časových intervalech (do 72 h) a následně analyzováno. Koncentrace tobramycinu v odebraných vzorcích elučního média byla stanovena pomocí fluoroimunoanalytických metod, koncentrace ofloxacinu pak vysokoučinnou kapalinovou chromatografií (HPLC). Bylo zjištěno, že osmoticky aktivní hydrogelové expandéry jsou schopné absorbovat a následně desorbovat léčivo a mají potenciál jako nosiče léčiv s řízeným uvolňováním (59).

5.5 Tkáňová expanze ve stomatologii

Hydrogelové expandéry přináší možnost využít tkáňovou expanzi i v oblastech, které jsou přístupné pouze obtížně a které kladou důraz na specifický tvar a velikost expandéru. Jednou z takových oblastí je i ústní dutina. Expanze měkkých tkání je zde využívána především jako součást řešení augmentace resorbovaného zubního oblouku horní či spodní čelisti, lze ji ale využít i v dalších případech jako např. léčba zkříženého skusu nebo rozštěpu patra (48) (60) (61) (62).

Cílem augmentace kosti je náhrada chybějící kostní tkáně. Nedostatečné množství kosti může být např. následkem resorpce kosti, ke které dochází v místě ztráty zubu. Dostatečné množství kosti je pak primárním předpokladem pro umístění zubního implantátu v tomto místě. Techniky augmentace zahrnují umístění kostního štěpu nebo řízenou regeneraci kosti nebo distrakční osteogenezi. Kostní štěp je nejčastěji autologního původu z oblasti brady nebo dolní čelisti, případně lopaty kyčelní kosti apod. Řízená regenerace pak spočívá v umístění bariér do okolí defektu tak, aby bylo zabráněno migraci buněk z okolí do rány a zároveň byla podpořena regenerace kosti osteoblasty. Princip distrakční osteogeneze spočívá ve vytvoření dvou nebo více segmentů kosti, které jsou od sebe odtahovány distrakčním přístrojem danou rychlostí. V místě distrakční štěrbiny vzniká koagulát, který je základem novotvořené kosti (61) (63) (64) (65) (66).

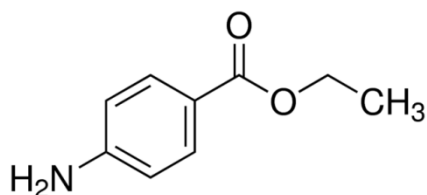
Kostní augmentát vytváří napětí okolních tkání, které nečistě přechází k dehiscenci rány a následné expozici augmentátu vnějšímu prostředí. To vede ke zvýšení rizika následné ztráty augmentátu. Vyzdvižení měkké tkáně augmentátem může zároveň vést ke změnám perfuze a ischemii, proto je udržení optimálního průtoku krve měkkou tkání nad augmentátem důležité pro zachování správné funkce tkáně a zamezení vzniku nekrózy. Změny vaskularizace a napětí měkké tkáně nad augmentátem mohou souviset s jeho zvýšenou resorpcí a následným nedostatkem objemu kosti potřebného pro zavedení zubního implantátu (48) (63).

Tkáňová expanze před augmentací kosti zubního oblouku se jeví jako vhodná metoda pro zajištění dostatečného množství měkké tkáně překrývající budoucí augmentát. V takovém případě nehrozí přílišné napínání tkáně nad augmentátem a následná dehiscence. Nová měkká tkáň zároveň obsahuje síť krevních cév navazujících na původní systém a je tak proto zajištěna její dostatečná výživa (48) (61) (62).

6. Řízené uvolňování benzokainu

Benzokain, jedno z lokálních anestetik, může být příkladem řízeně uvolňovaného léčiva. Jako anestetikum je benzokain využíván především pro topickou aplikaci na kůži či sliznice. Vzhledem k vysoce účinnému znecitlivění ale zároveň krátké době účinku může regulace uvolňování benzokainu z lékových forem přinést komfortnější a bezpečnější cestu k místnímu znecitlivění (67) (68).

V literatuře je popsáno několik druhů lékových forem s řízeným uvolňováním benzokainu.



Obr. 6.1: Molekula benzokainu (69)

6.1 Lipozomy

Lipozomy jsou specifické sférické vezikuly tvořené fosfolipidovou dvojrůstvou a průměrem pohybujícím se od 20 nm do několika μm . Díky tomu, že lipidové konce molekul fosfolipidové dvojrůstvy jsou vzájemně orientované k sobě, disponuje lipozom oblastmi čistě hydrofilními a čistě lipofilními. Počet těchto oblastí se může lišit v závislosti na počtu fosfolipidových dvojrůstev, který daný lipozom obsahuje. Přítomnost těchto oblastí v lipozomu je s velkou oblibou využívána pro navázání a přenos látek hydrofilní i lipofilní povahy, potažmo pro řízené uvolňování léčiv (70).

Lipozomy přenášející benzokain, anestetikum lipofilní povahy, by měly splňovat požadavky na snadnou inkorporaci tohoto léčiva. Možným přístupem může být vytvoření lipozomů na základě směsi fosfatidylcholinu, cholesterolu a popř. dicetylfosfátu jako lipofilní fáze na jedné straně a směsi vody a etanolu jako hydrofilní fáze na straně druhé. Takové lipozomy, resp. ethosomy, pak mohou být bez větších problémů začleněny do carbopolového gelu jako cílové lékové formy (71) (72).

Porovnáním vlastností *in vitro* a *in vivo* takto připravených unilamelárních a multilamelárních lipozomů samostatně i v polymerním gelu bylo zjištěno, že nejefektivněji je benzokain inkorporován do velkých unilamelárních a multilamelárních lipozomů. To je vysvětlováno vysokou účinností inkorporace benzokainu do těchto typů lipozomů. Množství benzokainu, které je z těchto částic následně uvolňováno a difundováno přes uměle vytvořenou membránu a kůži *in vitro*, je vysoké, a to jak v případě čisté suspenze tak jako součást gelu. Z hlediska morfologie a množství inkorporovaného benzokainu jsou tyto lipozomy také stabilní v čase (71) (72).

Naproti tomu malé unilamelární lipozomy nevykazují tak uspokojivé vlastnosti. I přesto, že díky menší velikosti snadněji difundují skrz umělou membránu, nevykazují dostatečně vysoký prostup kůží *in vitro*. Jejich malá velikost, potažmo větší kontaktní plocha, může pozitivně ovlivnit dobu trvání anestetického účinku (71) (72).

Zkouškou anestetické účinnosti na základě rohovkového reflexu králíků bylo zjištěno, že carbopolový gel obsahující benzokain v lipozomech zajišťuje účinnější a déle trvající znecitlivění tkáně ve srovnání s gelem obsahujícím benzokain o stejné koncentrace (71).

6.2 Nanočástice

Polymerní nanočástice jsou jako nosiče léčiv s řízeným uvolňováním využívány poměrně často. Jejich průměr se pohybuje zhruba v rozmezí 1 – 1000 nm. Na základě jejich fyzikálně-chemické struktury rozlišujeme nanočástice ve formě nanopouzder, vezikul s lipidovou fází ve středu, a nanosfér, uniformních částic formovaných prostorovou strukturou polymerní sítě (73).

Nanočástice, resp. nanopouzdra, mohou být využity mj. jako prostředek pro řízené uvolňování benzokainu jako součást koloidní suspenze při injekčním podání lokálního anestetika. Vhodným polymerem pro jejich výrobu může být např. poly(mléčná-co-glykolová kyselina) (PLGA) (73) (74) nebo také poly(L-kyselina mléčná) (PLA) či poly(ϵ -kapolaktan) (PCL) (75).

Uvolňování benzokainu z prostředí nanopouzder tvořených výše zmíněnými polymery není fickovské. Svou roli zde patrně hraje počáteční desorpce benzokainu z povrchu nanočástice, která je následně nahrazena postupným uvolňováním z vnitřku nanopouzdra skrz celou tloušťku polymerního obalu. Pomalejší uvolňování benzokainu, které je žádoucí, bylo zaznamenáno u nanopouzder z PLA ve srovnání s PLGA a PCL. To patrně souvisí s vyšší odolností vůči degradaci PLA vlivem hydrolyzy vazeb (75).

Spolu s volbou vhodného polymeru k vytvoření samotného nanopouzdra je také nutné zvolit co možná nejlepší lipidovou fázi vyplňující jeho vnitřek v tom smyslu, aby byla maximalizována stabilita nanopouzder v čase a efektivita inkorporace benzokainu do nanopouzdra. Efektivita inkorporace souvisí především s charakterem interakce benzokainu a lipidové fáze. Inkorporace benzokainu je tím úspěšnější, čím méně polární je lipidová fáze. Větší afinita benzokainu k nepolárním látkám může být vysvětlena přítomností uhlíkové řetězce v molekule benzokainu, který zvyšuje jeho lipofilitu. Různé typy lipidových fází mohou významně ovlivnit efektivitu inkorporace benzokainu do nanopouzdra, profil uvolňování benzokainu z nanopouzdra v čase i stabilitu nanopouzdra (74).

Benzokain vykazuje nízkou rozpustnost ve vodním prostředí (0,66 mg/ml), nicméně prostřednictvím jeho inkorporace do nanopouzder a dalších nanočástic může být k cílové tkáni dopraven ve větším množství (4 mg/ml). Následně může být zvýšena intenzita

z necitlivujícího účinku a vlivem postupného uvolňování anestetika z nanopouzdra skrz polymerní síť také doba trvání lokální anestezie (73) (74) (75).

6.3 Imobilizace benzokainu na grafitovou monovrstvu

Jiným přístupem řízeného uvolňování benzokainu může být jeho imobilizace na samoorganizovanou monovrstvu (SAM). Příkladem může být vysoce organizovaná monovrstva pyrolytického uhlíku (HOPG). HOPG není zcela biokompatibilní, může nicméně dobře sloužit jako modelový materiál pro studium sorpce bioaktivních látek. Vazba benzokainu na SAM pak může být důsledkem chemisorpce nebo fyzisorpce. Vzhledem k tomu, že převážná většina vazeb u fyzisorpce je tvořena vodíkovými můstky nebo Van der Waalsovými silami, které mají menší sílu interakce, může být následné uvolnění benzokainu do okolí snadnější (76).

Benzokain je modifikován acyl chloridem (palmitoyl chlorid) tak, že je k jeho molekule připojen dlouhý alifatický řetězec. Benzokain palmitamid je v těle snadno hydrolyzován a převeden zpět na aktivní formu lokálního anestetika. Alifatický řetězec tohoto derivátu se snadno váže na povrch HOPG prostřednictvím vodíkových můstků a Van der Waalsových sil (76).

Molekuly benzokain palmitamidu vytváří na HOPG organizovanou strukturu domén. Depozice podobných monovrstev se sorbovanými molekulami derivátů benzokainu by mohla v budoucnosti představovat další metodu řízeného uvolňování benzokainu (76).

6.4 Polymerní gely

V případě použití benzokainu jako prostředku pro místní znecitlivění kůže může být jeho léková forma (např. masť, roztok) snadno eliminována z povrchu vlivem okolních jevů jako např. pocením, prouděním vzduchu nebo pohyby těla. Použití polymerních gelů s dobrou adhezí ke kůži jako nosiče benzokainu se zdá být dobrým řešením. Příkladem takového polymerního gelu může být například HPMC (77).

S rostoucí teplotou okolí se zvyšuje i rychlost uvolňování benzokainu z HPMC. Rychlost, se kterou je benzokain uvolňován je tedy funkcí teploty. Pro zvýšení permeability benzokainu kůží může být do polymerního gelu přidán enhancer. Jako enhancery mohou být použity některé mastné kyseliny (kyselina myristová, laurová nebo kaprylová) nebo glykoly (dietylglykol). Z výše zmíněných enhancerů vykazuje dietylglykol nejlepší schopnost zvýšení propustnosti benzokainu kůží krysu. HPMC s přítomností dietylglykolu zároveň v porovnání s HPMC bez přítomnosti enhanceru prodlužuje znecitlivující účinek anestetika (77).

6.5 Mukoadhezivní tablety

Komerčně dostupné prostředky obsahující benzokain pro použití v zubním lékařství (roztoky, pasty, mukoadhezivní gely) vykazují jisté nedostatky. Zejména všesměrové uvolňování anestetika nemusí být v žádoucí, přebytek anestetika může být navíc spolknut, může se tak dostat do celkového oběhu a v krajních případech i zapříčinit vznik methemoglobinémie. Dalšími negativními vlivy na účinek běžně dostupných prostředků obsahujících benzokain pak může být příjem tekutin a potravy nebo mechanické pohyby při mluvení (78).

Snahu co nejvíce eliminovat výše zmíněné nedostatky komerčně dostupných prostředků reprezentuje např. speciálně navržená dvouvrstvá tableta. Mukoadhezivní vrstva této tablety obsahující benzokain je překrytá ochrannou vrstvou. Materiál ochranné vrstvy postupně botná a mění se na gelovitou strukturu, čímž v důsledku snižuje pocit cizího tělesa v ústní dutině a zároveň účinně chrání tabletu před mechanickým poškozením, všesměrovým uvolňováním anestetika a případné anestezii okolních tkání, např. rtu (78).

Mukoadhezivní vrstva je tvořena kombinací HPMC, karbomeru a monohydrátu laktózy. HPMC po kontaktu s vodou začne uvolňovat anestetikum navázané na jeho povrchu a zároveň začne hydratovat, botnat a vytvářet gelovitou strukturu. Vrstva gelu pak umožňuje kontinuální pronikání vody dále do materiálu mukoadhezivní vrstvy a následně řízené a stálé uvolňování anestetika z matrice HPMC. Přítomnost karbomeru pak zaručuje kvalitní přichycení ke sliznici a monohydrát laktózy pak slouží jako plnivo. Ochranná vrstva je pak složena z HPMC, vápenaté soli karboxymetylcelulózy (CaCMC) a PVP K30 (77) (68).

Na základě testů *in vitro* a *in vivo* bylo zjištěno, že přítomnost ochranné vrstvy zpomaluje rychlost uvolňování benzokainu z tablety a může tak prodloužit dobu anestezie. Její tloušťka navíc neomezuje množství uvolněného anestetika, může nicméně ovlivnit kvalitu mukoadhezivního efektu tablety. Dvouvrstvá tableta výše zmíněného složení účinně snižuje množství benzokainu uvolňovaného do ústní dutiny resp. do celkového oběhu a pomáhá tak distribuovat anestetikum pouze do oblastí nezbytně nutných (78).

7.Cíle

Na základě materiálových charakteristik, strukturních a tvarových parametrů hydrogelových matric obsahujících bioaktivní látku, může být ovlivněn proces jejího uvolňování do okolního prostředí. Jako modelová bioaktivní látka může sloužit lokální anestetikum benzokain.

Cílem práce bylo stanovení kinetik uvolňování modelového léčiva – benzokainu z hydrogelových matric připravených ze tří různých materiálů, které se liší svou strukturou a tvarovými parametry. Byly navrženy tři typy hydrogelových materiálů, neutrální kopolymer poly(HEMA-co-EDMA), pH citlivý polymer se záporně nabitými karboxylovými skupinami poly(HEMA-co-MA) a termopolymer poly(styren-co-maleinanhydrid).

Prvním krokem k naplnění cíle byla příprava jednotlivých matric z těchto materiálů s inkorporovaným benzokainem v různých koncentracích. Z matric byly vytvořeny vzorky, které se vzájemně lišily svými tvarovými parametry - tloušťkou, tvarem a plochou průřezu, případně i svou porozitou.

Sledován byl časový profil uvolňování anestetika z matrice do prostředí fosfátového pufru. Časový profil uvolňování benzokainu byl stanoven na základě analýzy vzorků fosfátového pufru odebraných v předem stanovených časových intervalech HPLC. Zjištěné výsledky analyzovány a diskutovány s ohledem na materiál, tvarové parametry a obsah benzokainu v konkrétní matrici.

U všech skupin matric byla zjištěna rovnovážný stupeň botnání, která byla porovnána s příslušným časovým profilem uvolňování benzokainu a diskutována.

8.Hypotézy

Předpokládáme, že materiál a tvarové parametry hydrogelových matric mají zásadní vliv na časový profil uvolňování benzokainu.

Se zvyšující se tloušťkou matrice a se snižující se plochou průřezu, resp. povrchem, bude klesat množství uvolněného benzokainu.

Se zvyšující se porozitou materiálu bude benzokain uvolňován rychleji. U materiálu vyšší porozity je médium vystavena větší plocha, skrz kterou médium difunduje dovnitř. Rychlost botnání v takovém případě roste. Benzokain navíc nemusí difundovat až k okraji matrice, jako je tomu u neporézních matric, ale pouze k hranicím těchto pórů.

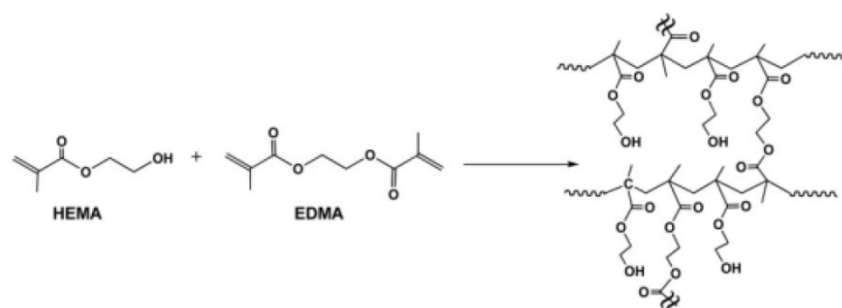
Přítomnost benzokainu v materiálu může významně měnit jeho botnavost. Benzokain zde může hrát roli plniva, které brání polymerní síti v absorpci okolního média.

9. Popis použitých hydrogelů

9.1. Poly(HEMA-co-EDMA)

Radikálovou polymerizací 2-hydroxyetyl metakrylátu s etylenglykol dimetakrylátem (EDMA) vzniká poly(HEMA-co-EDMA). Tento hydrogel byl poprvé představen už v roce 1960 v Nature O. Wichterlem a D. Límem (79). Díky chemické stabilitě, odolnosti vůči degradaci, dobrým mechanickým vlastnostem, biokompatibilitě a transparentci byl zvolen jako první materiál pro výrobu měkkých kontaktních čoček. Další výhodou tohoto materiálu je snadná možnost sterilizace (teplota skelného přechodu $T_g > 100^\circ\text{C}$) a relativně stabilní obsah vody v rovnovážném zbotnalém stavu (40 hm.%). Za dobré mechanické vlastnosti odpovídá EDMA, které je svou povahou, na rozdíl od HEMA, hydrofobní a zároveň disponuje čtyřmi funkčními skupinami. Mechanické vlastnosti materiálu se zlepšují s rostoucí molární hmotností látky, která je u polymerů obecně velmi vysoká. (80) (81) (82).

Do polymerizační směsi může být přidáno také rozpouštědlo (voda). Poměrem obsahu vody a monomerů v polymerizační směsi mohou být vytvořeny matrice stejného chemického složení, které se však liší strukturně. Obsah vody do 50% zapříčiňuje tvorbu homogenních, transparentních matric, 50-70% vody ve směsi pak tvoří mikroporézní matrice a více než 70% obsah vody makroporézní matrice (80).



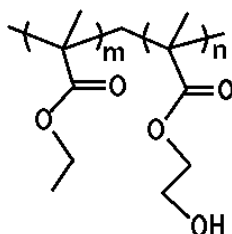
Obr. 9.1: Poly(HEMA-co-EDMA) (80)

9.2. Poly(HEMA-co-MA)

Specifické aplikace hydrogelů mohou požadovat zvýšení stupně botnání (SB) materiálu. Jedním z přístupů, jak dosáhnout vyššího SB, je použití ko-monomeru. Takovým ko-monomerem může být kyselina akrylová nebo metakrylová. I malý obsah kyseliny metakrylové (MA), v jejíž molekule se vyskytují ionogenní skupiny, dokáže zajistit několikanásobné zvýšení SB (55 – 85 hm.%) (83).

V případě poly(HEMA-co-MA) je rovnovážný stav nabotnání matrice přímo úměrný pH okolního prostředí a obsahu MA v kopolymeru. Kopolymer HEMA a MA byl jedním z prvních

syntetizovaných hydrogelových materiálů senzitivních na okolní podmínky. Se zvyšujícím se pH dochází k disociaci karboxylových skupin MA a jejich převod do formy ionizované soli, která zvyšuje hydrofilitu a tím i stupeň bobtnání daného materiálu. Doprovodným efektem pak přítomnost záporného náboje v hydrogelu, který podporuje absorpci proteinů do matrice vlivem vzniku elektrostatických sil (80) (83).

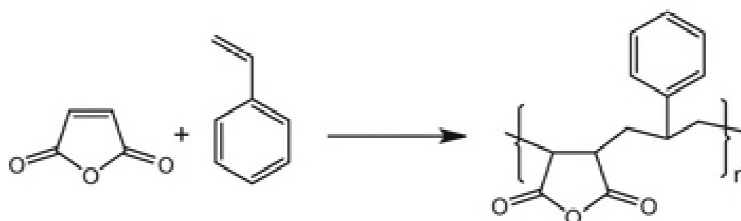


Obr. 9.2: Poly(HEMA-co-MA) (84)

9.3. Poly(styren-co-m.a.)

Vzhledem k tomu, že není možné vytvořit čistý homopolymer maleinanhydridu, je nutné pro syntézu polymeru, který by jej obsahoval, využít ko-monomer. Obsah maleinanhydridu v polymerizační směsi pak není obvykle vyšší než 50 mol.%. Vzhledem k charakteru zabudování monomerních jednotek by vyšší koncentrace maleinanhydridu vedla k přítomnosti nezreagovaných molekul v polymeru (3). Proces polymerizace v případě vysokého podílu maleinanhydridu ve směsi musí být proveden v přítomnosti organického rozpouštědla (85).

Vhodným komonomerem k maleinanhydridu může být například styren. Blokovaný kopolymer styrenu a maleinanhydridu lze snadno modifikovat a to především díky vysoké chemické reaktivitě maleinanhydridu. Tohoto faktu je využíváno u velkého množství aplikací, zejména jako součásti polymerních povlaků, čisticích prostředků, nátěrových hmot apod. Přítomnost hydrofobního styrenu s pětičlenným aromatickým jádrem zajišťuje požadované mechanické vlastnosti kopolymeru, hydrofilní maleinanhydrid pak stojí za afinitou vody k makromolekule, respektive dobrou adhezí k okolnímu povrchu (85) (86) (87).



Obr. 9.3: Poly(styren-co-m.a.) (88)

10. Metodika

10.1. Výroba matric

10.1.1. Polymerizační směsi

Poly(HEMA-co-EDMA)

Monomery HEMA a EDMA byly v polymerizační směsi obsaženy v poměru 99,5 : 0,5 hm.%. Množství iniciátoru a anestetika bylo vypočteno na základě celkové hmotnosti monomerů. Iniciátor byl ve směsi obsažen v 0,5 hm.%. Obsah benzokainu byl standardně 5 hm.%, pro skupinu matric určených pro studium závislosti uvolněného množství benzokainu na jeho počáteční koncentraci byl jeho obsah v 2, 5, 10, 15, 20 a 40 hm.%.

Pro přípravu porézních matric polymerizační směs obsahovala navíc rozpouštědlo v množstvích 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 hm.% vztažených na celkovou hmotnost monomerů, iniciátoru a anestetika.

Tabulka 10.1.1: Chemikálie polymerizační směsi pro poly(HEMA-co-EDMA)

Monomery	<i>2-Hydroxyetyl metakrylát (HEMA)</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS: 868-77-9)
	<i>Etylenglykol dimethakrylát (EDMA)</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS: 97-90-5)
Iniciátor	<i>Azobisisobutyronitril (ABIN)</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS: 78-67-1)
Anestetikum	<i>Benzokain</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS: 94-09-7)
Rozpouštědlo	<i>Destilovaná voda</i>

Poly(HEMA-co-MA)

V polymerizační směsi byly monomery zastoupeny ve stechiometrickém poměru 4:1 a společně tvořily 99,5 hm.% polymerizační směsi. Síťovací činidlo EDMA tvořilo 0,5 hm.% polymerizační směsi. Množství iniciátoru (0,5 hm.%) a anestetika (5 hm.%) bylo vztaženo na celkové množství monomerů a síťovadla. V případě skupiny matric určených pro studium závislosti uvolněného množství benzokainu na jeho počáteční koncentraci byl jeho obsah v hodnotách 2, 5, 10, 15, 20 a 40 hm.%.

Tabulka 10.1.2: Chemikálie polymerizační směsi pro poly(HEMA-co-MA)

Monomery	<i>2-Hydroxyetyl metakrylát (HEMA)</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS: 868-77-9)
	<i>Kyselina metakrylová</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS: 79-41-4)
Sít'ovadlo	<i>Etylenglykol dimethakrylát (EDMA)</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS: 97-90-5)
Iniciátor	<i>Azobisisobutyronitril (ABIN)</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS: 78-67-1)
Anestetikum	<i>Benzokain</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS: 94-09-7)

Poly(styren-co-m.a.)

Maleinanhydrid se styrenem a síťovadlem (divinylbenzen, DVB) byly v polymerizační směsi zastoupeny ve stechiometrickém poměru 1:1. Množství síťovadla pak bylo 0,7 hm. % z celkového množství styrenu a síťovadla. Obsah iniciátoru (0,5 hm.%) a anestetika (5 hm.%) byl vztažen na celkové množství monomerů a síťovadla. Obsah rozpouštědla pak představoval 70 hm.% vztažených na hmotnost všech výše zmíněných látek. Obsah benzokainu v polymerizační směsi pro skupinu matric určených pro studium závislosti uvolněného množství benzokainu na jeho počáteční koncentraci byl v hodnotách 2, 5, 10, 15, 20 a 40 hm.%.

Tabulka 10.1.3: Chemikálie polymerizační směsi pro poly(styren-co-m.a.)

Monomery	<i>Styren</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS:100-42-5)
	<i>Maleinanhydrid</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS:108-31-6)
Sít'ovadlo	<i>Divinylbenzen</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS:1321-74-0)
Iniciátor	<i>Azobisisobutyronitril (ABIN)</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS: 78-67-1)
Anestetikum	<i>Benzokain</i> (Sigma-Aldrich Chem. Co., CAS: 94-09-7)
Rozpouštědlo	<i>Ethylacetát</i> (Lach-Ner, ČR, CAS: 141-78-6)

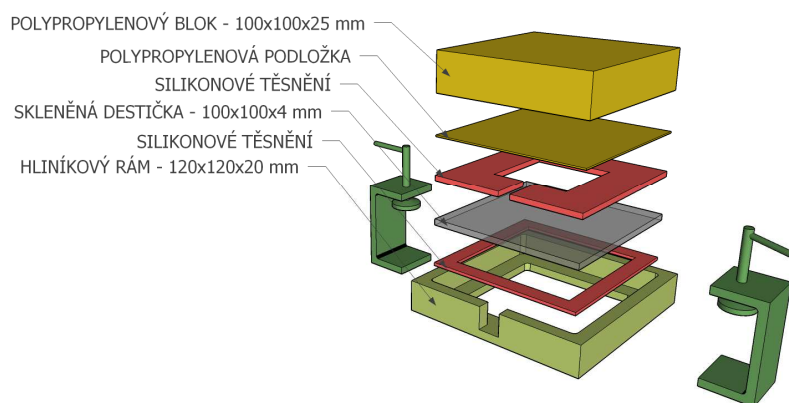
10.1.2. Formy

Polymerizační směsi byly pomocí injekčních stříkaček a jehel vpraveny do připravených forem.

Forma pro výrobu polymerní matrice sestávala z hliníkového rámečku s podpěrou pro další komponenty a otvorem pro plnění polymerizační směsí. Do vnitřního prostoru rámečku byly vloženy další komponenty v následujícím pořadí: silikonové těsnění, skleněná destička,

silikonové těsnění volitelné tloušťky, polypropylenová podložka a polypropylenový blok. Hliníkový rámeček i s komponenty byl poté zajištěn párem hliníkových svorek.

Silikonové těsnění v prostoru mezi skleněnou destičkou a polypropylenovou podložkou bylo voleno dle aktuální potřeby tvaru a tloušťky výsledné polymerní matrice. Pro výrobu matic různé tloušťky bylo zvoleno těsnění s centrálním čtvercovým otvorem a tloušťkou 0,49 mm, 0,97 mm nebo 2,95 mm. Pro matrice definovaného průřezu (kruh, čtverec, trojúhelník) bylo zvoleno těsnění s tloušťkou 0,97 mm, které bylo upraveno tak, aby vznikly vždy 4 otvory požadovaného tvaru. Rozměry otvorů pro vytvoření definovaných průřezů matic byly následující: kruh s poloměrem 13,75 mm, čtverec s délkou strany 30 mm a trojúhelník o straně 40 mm.



Obr. 10.1: Forma pro výrobu polymerní matrice

10.1.3. Polymerizace a příprava matic

Formy obsahující polymerizační směsi byly umístěny do vnitřního prostoru lázně Memmert One 22 naplněné destilovanou vodou termostatovanou na 60 °C, a to na dobu 12 hodin, po kterou probíhala termická polymerizace.

Po polymerizaci byly matrice vyjmuty z forem. V případě polymerů odlišné tloušťky byly matrice z forem s centrálním otvorem navíc rozděleny na 3-5 menších částí. Všechny takto připravené matrice byly následně vysušeny ve vakuu při 100 °C v sušárně Memmert, zváženy pomocí analytických vah Electronic Balance AC, A&D Company, Limited. Rozměry matic byly zjištěny na základě měření posuvným měřítkem Schut Filetta. Obsah benzokainu v konkrétní matici byl stanoven na základě jeho koncentrace v polymerizační směsi a hmotnosti matrice po vysušení.

10.2. Stanovení časového profilu uvolňování benzokainu

10.2.1. Uvolňování benzokainu

Připravené matrice všech tří výše uvedených materiálů o požadovaných tloušťkách a průřezích byly v plastových kelímcích s 50 ml elučního média - fosfátového pufru (pH 7,4: Sigma-Aldrich Chem. Co.) umístěny do laboratorní třepačky IKA® KS 4000 s vyhřívaným vnitřním prostorem termostatovaným na 37 °C. Za těchto podmínek probíhalo botnění a uvolňování anestetika do pufru. Objem elučního média byl stanoven v návaznosti na teplotě, při které byl benzokain uvolňován a zároveň na jeho obsahu v matricích (89). Ve stanovených časových intervalech byl odebrán 200 µl vzorek pufru z každého kelímku. Odebrané vzorky byly následně analyzovány pomocí HPLC Shimadzu LC Solutions.

10.2.2. Vysokoučinná kapalinová chromatografie

Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC) je jednou ze separačních analytických metod stanovení chemických látek. Podobně jako u všech chromatografických metod je měřený vzorek postupně dělen mezi mobilní a stacionární fázi. V případě kapalinové chromatografie je mobilní fází kapalina nebo směs kapalin. Mobilní fáze unáší vzorek separačním prostorem a na základě interakcí vzorku, resp. jeho složek, s prostředím stacionární fáze dochází k separaci jednotlivých složek. Kvalita separace jednotlivých složek vzorku závisí na volbě složení mobilní, resp. stacionární fáze. K rozdělení dvou chemických látek může dojít tehdy, když se liší jejich distribuční poměr mezi mobilní a stacionární fází. V opačném případě k rozdělení nedochází a není je proto možné detekovat samostatně (90). Stacionární fáze je v případě HPLC lokalizována v chromatografické koloně, která je nejčastěji ohraničena kovovou trubicí. Na konci procesu separace následuje detekce separovaných složek. Záznam odezvy detektoru v čase se nazývá chromatogram. Odezva detektoru je přímo úměrná koncentraci analytu, a proto ze znalosti plochy, kterou vymezuje chromatografický pík na chromatogramu, lze určit koncentraci analytu v původním vzorku. V případě spektrálního detektoru lze na základě zhodnocení spektra konkrétního chromatografického píku identifikovat analyzovanou látku, které pík náleží (90).

Vysoké účinnosti separace je u HPLC dosahováno zejména díky konstrukci kolon stacionární fáze. Stacionární fáze je charakterizována vysokou hustotou v koloně a vysokou homogenitou a malou velikostí částic. Z tohoto důvodu vykazují chromatografické kolony u HPLC vysoký hydrodynamický odpor. Pro zajištění dostatečného průtoku mobilní fáze je tedy nutné zajistit přetlak o velikosti jednotek až desítek MPa (91).

Základní instrumentální části HPLC zahrnují vysokotlaké čerpadlo mobilní fáze, dávkovací zařízení, chromatografickou kolonu a detektor. Dávkovací zařízení zde hraje důležitou roli, protože složitou soustavou pístů a ventilů zamezuje fluktuacím průtokové rychlosti mobilní

fáze. Nejčastěji používaným typem detektoru HPLC je fotometrický detektor, který detekuje analyt na základě absorpance záření procházejícího od zdroje přes průtočnou celu na detektor (91).

Detekce uvolněného benzokainu byla provedena pomocí HPLC jednotky Shimadzu: DGU-20As, LC-20AD, SIL-20A, RF-10AXL, CBM-20A, CTO-20AC. Spektrofotometrický detektor (SPD-M20A) připojený k jednotce detekuje na vlnových délkách 190 až 800 nm s přesností 0,1 - 1 nm (92).

Experimentální nastavení HPLC analýzy

Režim:	Low pressure gradient
Celkový průtok čerpadlem:	1.5 ml/min
Nástřik:	10 μ l
Mobilní fáze:	50% H ₂ O; 50% Acetonitril
Chromatografická kolona:	MERCK Chromolith RP-18e
Detekce benzokainu:	298 nm

10.2.3. Zpracování naměřených dat

Naměřené hodnoty byly odečteny integrací chromatografického píku odpovídající benzokainu v software LCsolution kompatibilním s HPLC jednotkou Shimadzu. Koncentrace benzokainu v odebraném vzorku byla zjištěna přepočtením hodnoty plochy chromatografického píku dle předchozí kalibrace.

Množství benzokainu ve vzorku bylo stanoveno na základě znalosti aktuálního objemu elučního média v konkrétním časovém intervalu. Aktuální množství uvolněného benzokainu z hydrogelové matrice bylo v každém časovém intervalu vztaženo k jeho počátečnímu množství v matrici jako relativní množství.

Relativní množství uvolněného benzokainu v daném časovém okamžiku bylo pro každou skupinu vzorků zprůměrováno. Průměrné hodnoty relativního množství uvolněného benzokainu byly vyneseny do grafů a v prostředí MATLAB aproximovány. Spolehlivost aproximace byla stanovena dle parametru R^2 podle vzorce (10.1)

$$R^2 = 1 - \frac{SSR}{SST} \quad (10.1)$$

kde SSR je suma regresních čtverců a SST celková suma čtverců.

10.3. Stanovení stupně botnání

Stupeň botnání (SB) hydrogelových matric Q byl stanoven na základě vázkové analýzy dle vzorce (10.2).

$$Q = \frac{m_b - m_s}{m_b} \cdot 100 \quad [Q] = \% \quad (10.2)$$

kde m_b je hmotnost matrice ve zbotnalém stavu a m_s hmotnost v suchém stavu.

11. Výsledky

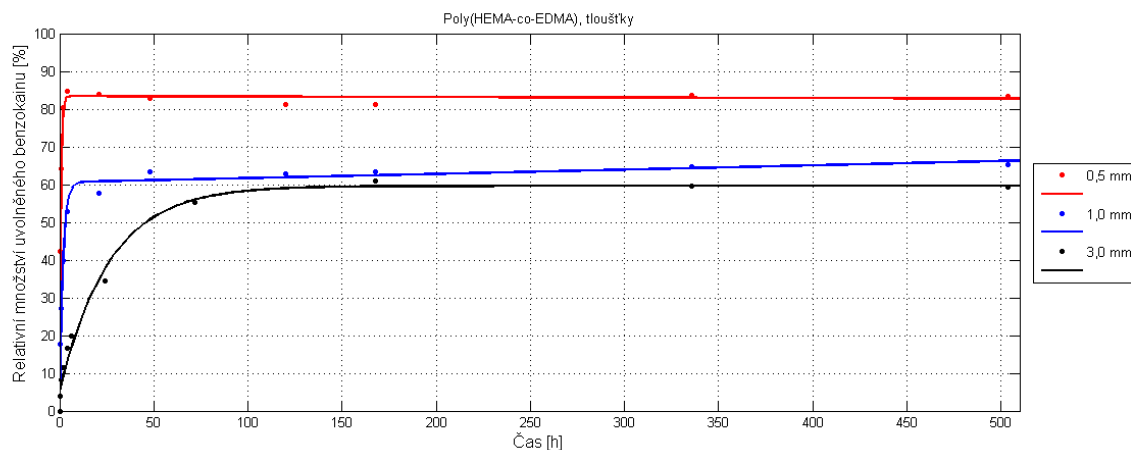
11.1. Časový profil uvolňovaného benzokainu

Množství uvolněného benzokainu je v každém časovém intervalu vztaženo na absolutní množství benzokainu inkorporovaného do matrice. Zjištěné hodnoty množství uvolněného benzokainu z každé matrice byly v každém časovém intervalu zprůměrovány v rámci jednotlivých skupin.

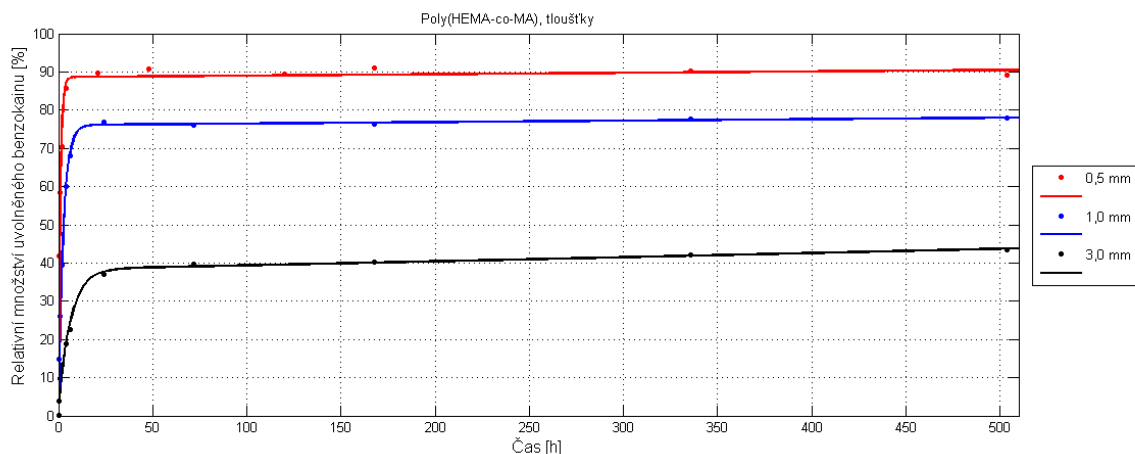
Grafy 11.1.1 – 11.1.9 reprezentují průměrné hodnoty kumulativního relativního množství uvolněného benzokainu pro jednotlivé materiály a skupiny matric lišících se svojí tloušťkou, tvarem a plochou průřezu, množstvím inkorporovaného benzokainu a případně svojí porozitou.

Průměrné hodnoty byly aproximovány v prostředí MATLAB. Spolehlivost jednotlivých aproximací je reprezentována parametrem R^2 . Hodnoty R^2 jsou uvedené v souhrnných tabulkách.

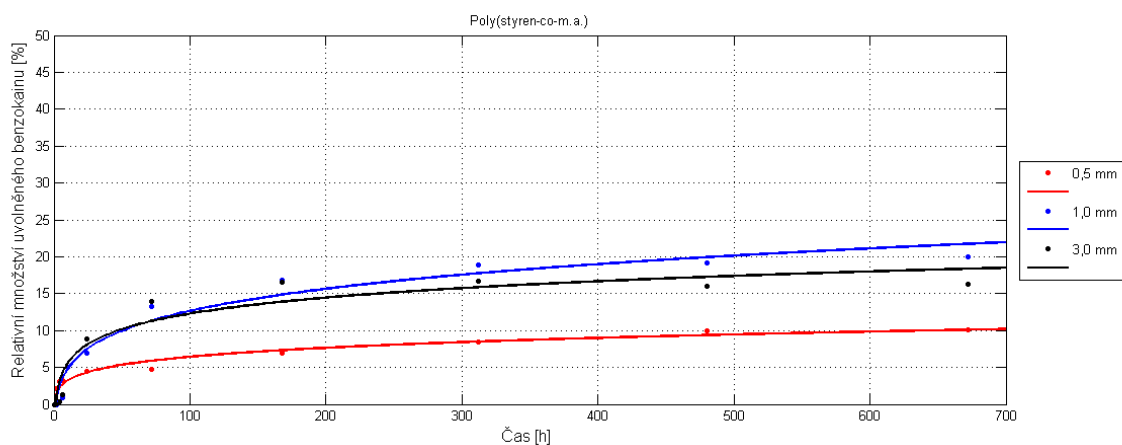
11.1.1. Tloušťky hydrogelových matric



Graf 11.1.1: Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-EDMA) matric různých tloušťek.



Graf 11.1.2: Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-MA) matric různých tloušťek.

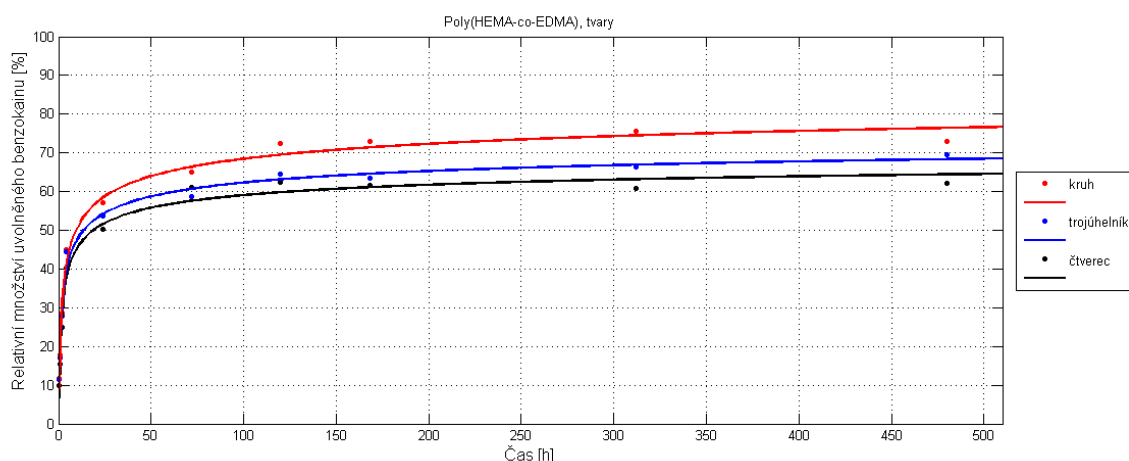


Graf 11.1.3: Časový profil uvolňování benzokainu z poly(styren-co-m.a.) matric různých tloušťek.

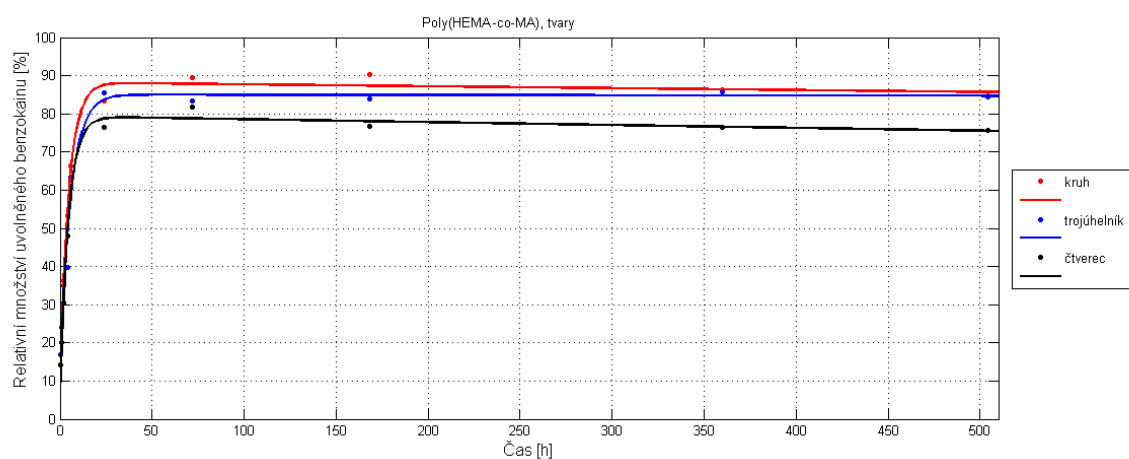
Tabulka 11.1.1: Spolehlivost regresních křivek pro matrice různé tloušťky

Tvar průřezu	R ²		
	Poly(HEMA-co-EDMA)	Poly(HEMA-co-MA)	Poly(styren-co-m.a.)
0,5 mm	0,9970	0,9841	0,9607
1,0 mm	0,9924	0,9989	0,9562
3,0 mm	0,9815	0,9912	0,9108

11.1.2. Průřez hydrogelových matic



Graf 11.1.4: Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-EDMA) matic různého průřezu.



Graf 11.1.5: Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-MA) matic různého průřezu.

Tabulka 11.1.2: Spolehlivost regresních křivek pro matrice různého tvaru průřezu

Tvar průřezu	R^2	
	Poly(HEMA-co-EDMA)	Poly(HEMA-co-MA)
kruh	0,9820	0,9937
trojúhelník	0,9792	0,9788
čtverec	0,9739	0,9943

Pro porovnání efektivity uvolnění inkorporovaného benzokainu z matic různého tvaru průřezu byly absolutní hodnoty množství uvolněného benzokainu normovány povrchem a objemem matrice v suchém stavu.

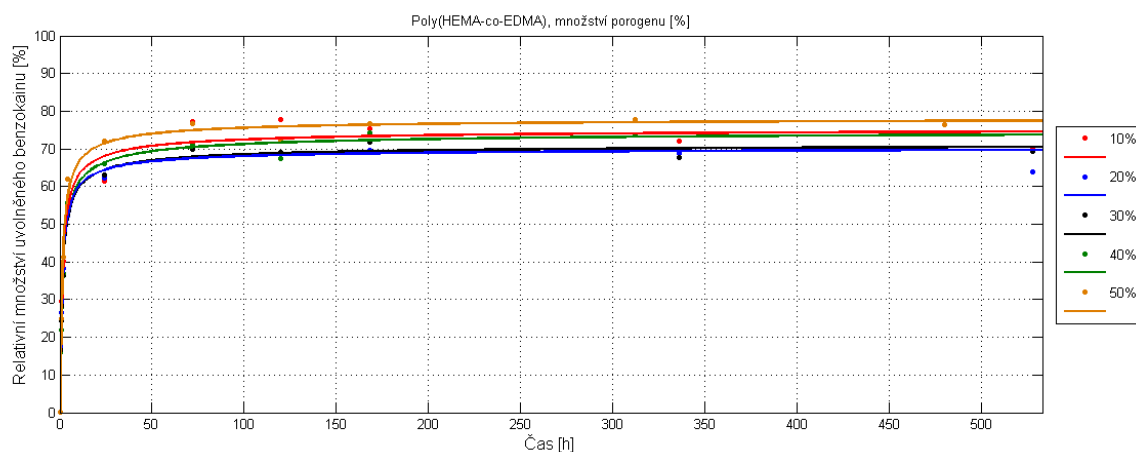
Tabulka 11.1.3: Vztah množství uvolněného benzokainu a poměru objemu a povrchu matric na bázi poly(HEMA-co-EDMA)

Tvar průřezu	Poměr objemu a povrchu matrice [mm]	Celkové množství uvolněného benzokainu z jednotkového povrchu [g]
Kruh	0,45304	0,72855
Trojúhelník	0,44742	0,69449
Čtverec	0,45554	0,81096

Tabulka 11.1.4: Vztah množství uvolněného benzokainu a poměru objemu a povrchu matric na bázi poly(HEMA-co-MA)

Tvar průřezu	Poměr objemu a povrchu matrice [mm]	Celkové množství uvolněného benzokainu z jednotkového povrchu [g]
Kruh	0,45304	0,71218
Trojúhelník	0,44742	0,49568
Čtverec	0,45554	0,71669

11.1.3. Struktura hydrogelových matric

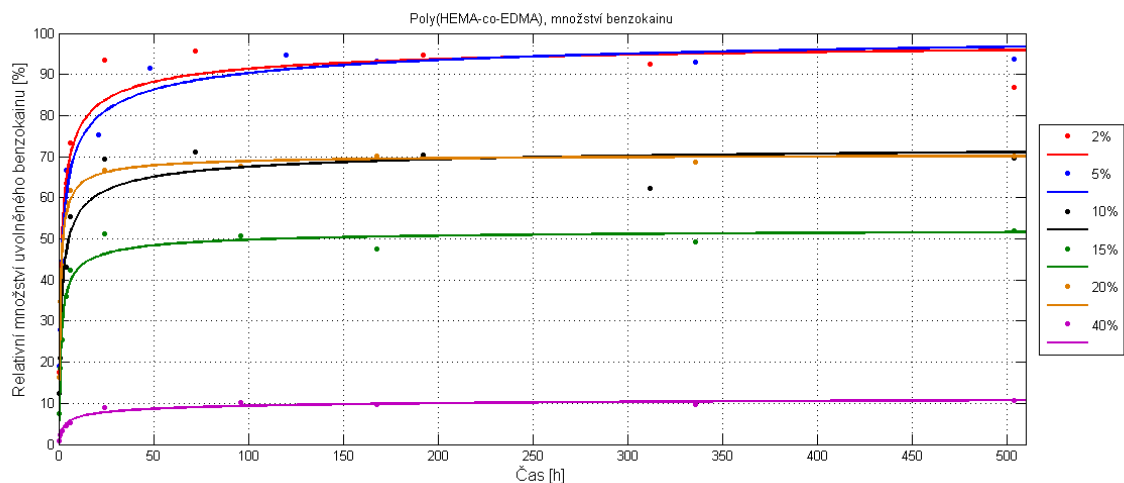


Graf 11.1.6: Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-EDMA) matric různé porozity.

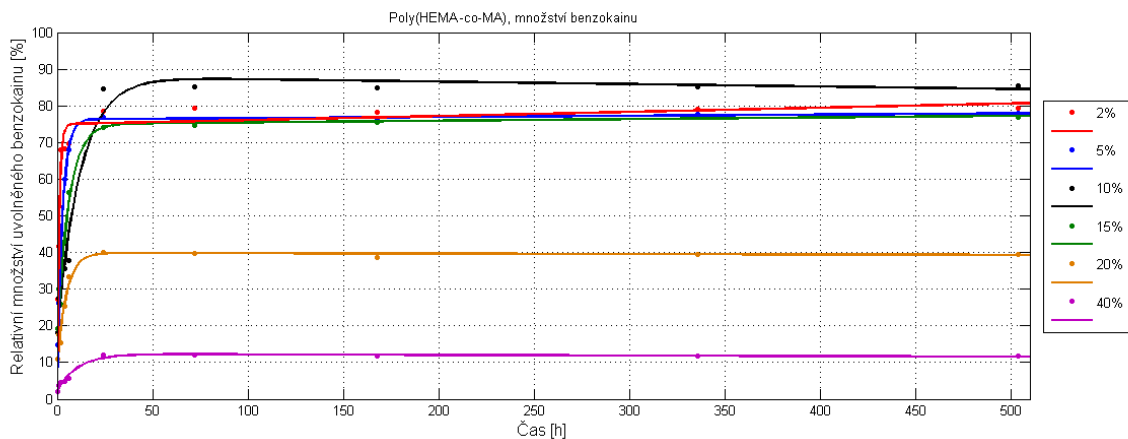
Tabulka 11.1.5: Spolehlivost regresních křivek pro různé porozity matric

Množství porogenu [%]	R^2
	Poly(HEMA-co-EDMA)
10	0,9682
20	0,9793
30	0,9905
40	0,9885
50	0,9875

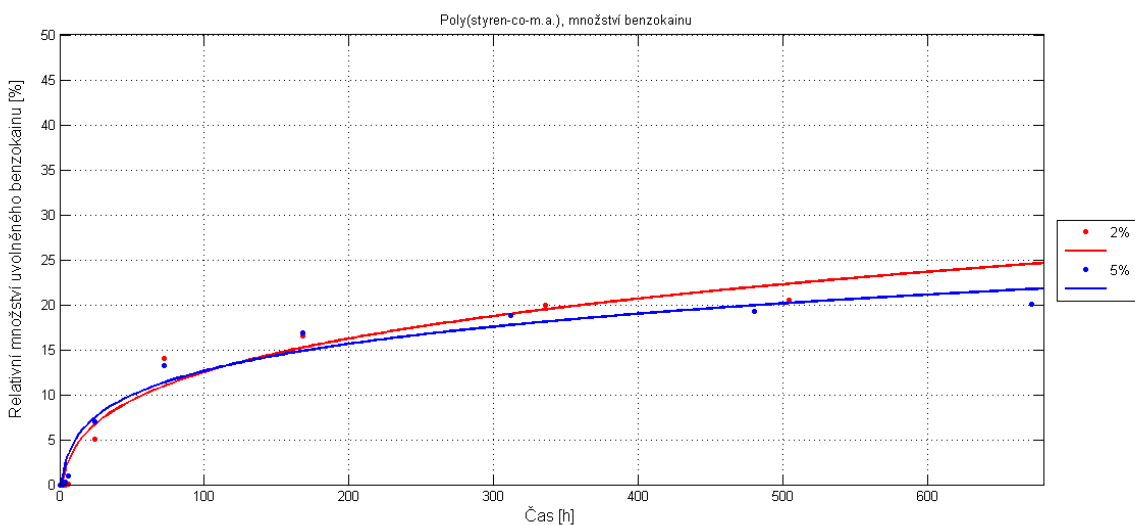
11.1.4. Množství benzokainu v matrici



Graf 11.1.7: Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-EDMA) matric v závislosti na jeho množství



Graf 11.1.8: Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-MA) matric v závislosti na jeho množství



Graf 11.1.9: Časový profil uvolňování benzokainu z poly(styren-co-m.a.) matric v závislosti na jeho množství

Tabulka 11.1.6: Spolehlivost regresních křivek pro různé koncentrace benzokainu v matricích

Koncentrace benzokainu v matrici [hm.%]	R ²		
	Poly(HEMA-co-EDMA)	Poly(HEMA-co-MA)	Poly(styren-co-m.a.)
2	0,9377	0,9431	0,9960
5	0,9700	0,9989	0,9562
10	0,9289	0,9717	-
15	0,9623	0,9737	-
20	0,9835	0,9597	-
40	0,9536	0,9669	-

11.2. Stupeň botnání

11.2.1. Tloušťky hydrogelových matric

Tabulka 11.2.1: Stupeň botnání matric v závislosti na jejich tloušťce

Materiál	Botnavost - bez benz. (%)	Tloušťka (mm)	Stupeň botnání (%)
Poly(HEMA-co-EDMA)	40	0,49	30,73 ± 0,593
		0,97	31,07 ± 0,375
		2,95	32,81 ± 1,211
Poly(HEMA-co-MA)	77	0,49	80,33 ± 1,625
		0,97	73,36 ± 3,705
		2,95	47,68 ± 5,087
Poly(styren-co-m.a.)	91	0,49	96,28 ± 0,340
		0,97	89,28 ± 1,686
		2,95	56,01 ± 4,305

11.2.2. Průřez hydrogelových matric

Tabulka 11.2.2: Stupeň botnání matric v závislosti na jejich průřezu

Materiál	Botnavost - bez benz. (%)	Průřez	Poměr objemu a povrchu [mm]	Stupeň botnání (%)
Poly(HEMA-co-EDMA)	40	Kruh	0,45304	35,25 ± 1,272
		Čtverec	0,44742	33,90 ± 0,470
		Trojúhelník	0,45554	34,93 ± 0,644
Poly(HEMA-co-MA)	77	Kruh	0,45304	65,03 ± 0,804
		Čtverec	0,44742	55,66 ± 1,115
		Trojúhelník	0,45554	62,71 ± 0,991

11.2.3. Struktura hydrogelových matic

Tabulka 11.2.3: Stupeň botnání matic v závislosti na jejich porozitě

Materiál	Botnavost - bez benzokainu (%)	Množství porogenu (hm.%)	Stupeň botnání (%)
Poly(HEMA-co-EDMA)	40	10	36,49 ± 0,659
		20	39,55 ± 0,813
		30	38,95 ± 0,547
		40	39,62 ± 0,558
		50	44,60 ± 0,502

11.2.4. Množství benzokainu v matici

Tabulka 11.2.4: Stupeň botnání matic v závislosti na množství obsaženého benzokainu

Materiál	Botnavost - bez benz. (%)	Množství benz. (hm.%)	Stupeň botnání (%)
Poly(HEMA-co-EDMA)	40	2	35,11 ± 1,184
		5	31,07 ± 0,375
		10	29,32 ± 1,124
		15	28,53 ± 1,960
		20	28,74 ± 0,942
		40	13,70 ± 3,062
Poly(HEMA-co-MA)	77	2	69,09 ± 3,602
		5	73,36 ± 3,705
		10	66,35 ± 1,731
		15	75,60 ± 0,613
		20	78,64 ± 1,250
		40	81,30 ± 0,577
Poly(styren-co-m.a.)	91	2	83,71 ± 1,131
		5	89,28 ± 1,686

12. Diskuse

Na základě chromatografické analýzy vzorků elučního média obsahujícího modelovou látku – lokální anestetikum benzokain uvolněného z hydrogelových matric třech materiálů, byly zjištěny kinetiky jeho uvolňování. Na kinetiku uvolňování benzokainu mají vliv materiálové, tvarové i strukturní charakteristiky matrice stejně tak jako koncentrace benzokainu v polymerizační směsi.

12.1. Materiálové charakteristiky matrice

12.1.1. Materiál

Materiál hydrogelové matrice má zásadní vliv na absolutní množství benzokainu, které je z matrice uvolněno.

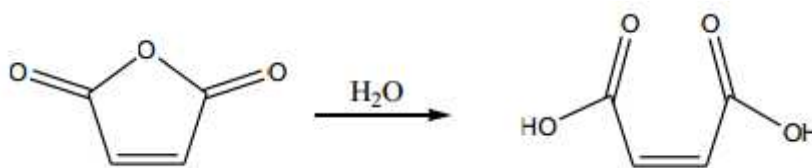
Z poly(HEMA-co-EDMA) matric bylo uvolněno relativně vysoké množství inkorporovaného benzokainu. V případě 5% koncentrace benzokainu v polymerizační směsi, bylo množství uvolněného benzokainu ovlivněno strukturou a tvarovými parametry jednotlivých matric. Úspěšnost, s jakou byl benzokain uvolněn, se v tomto případě pohybovala v rozmezí 65 – 85 %. Čas, za který bylo dosaženo maximální koncentrace benzokainu v elučním médiu – fosfátovém pufru, se nejčastěji pohyboval kolem hodnoty 72 hodin.

Poly(HEMA-co-MA) matrice vykazovaly srovnatelné chování s matricemi z poly(HEMA-co-EDMA). Relativní množství uvolněného benzokainu bylo však při jeho stejné koncentraci v matrici ve většině případů vyšší a dosahovalo až k 90 %. Větší množství uvolněného benzokainu je přičítáno vyššímu SB tohoto materiálu, který v případě matric bez obsahu anestetika dosahuje 77 %. Vyšší SB materiálu souvisí s obsahem ionogenních skupin MA, které specificky reagují na okolní pH. Čas potřebný k dosažení rovnováhy byl u těchto matric kratší a ve většině případů nepřesahoval 24 hodin.

Přítomnost benzokainu ve fosfátovém pufru ovlivňuje pH tohoto média směrem k nižším hodnotám. Rostoucí acidita média pak pozitivně ovlivňuje SB poly(HEMA-co-MA), která v důsledku podporuje uvolňování inkorporovaného benzokainu.

U matric z poly(styren-co-m.a.) byl benzokain uvolňován o poznání pomaleji než u matric obou výše zmíněných materiálů. Čas potřebný k dosažení rovnováhy koncentrace benzokainu v elučním médiu byl vyšší než 300 hodin. Botnění materiálu je důsledkem hydrolyzy maleinanhydridu na kyselinu maleinovou (viz obrázek 12.1). Dochází tak k rozvolnění polymerního řetězce, síť se stává flexibilnější a je schopna absorbovat médium. Hydrolyza maleinanhydridu může v závislosti na okolních podmínkách (teplota, rychlost proudění okolního média a jeho složení) trvat v řádu několika hodin až dní. Z tohoto důvodu

je difuze média do poly(styren-co-m.a.) v počátku obtížná a nedochází tak ani k uvolnění obsaženého benzokainu. Hydrogely na bázi MA naproti tomu botnají velmi rychle ihned po jejich ponoření do média.



Obr. 12.1: Hydrolýza maleinanhydridu (93)

12.1.2. Stupeň botnání

Vázkovou analýzou zkoumaných matric byl na základě vzorce (10.2) vypočten SB pro jednotlivé skupiny hydrogelových matric. Porovnáním s údaji o SB matric všech třech použitých materiálů bez obsahu benzokainu bylo zjištěno, zda inkorporovaný benzokain a případně jeho množství, stejně jako tvarové a strukturní parametry, ovlivňují SB těchto matric.

U matric všech třech materiálů byly zaznamenány odlišnosti hodnot SB vzhledem k hodnotě SB matric bez benzokainu. Tyto hodnoty jsou jednotlivě diskutovány v následujících oddílech.

12.2. Tvarové parametry matrice

12.2.1. Tloušťka

S rostoucí tloušťkou matrice dochází k výraznému nárůstu jejího počátečního objemu. S rostoucím objemem matrice se zvyšuje pravděpodobnost, že se bude inkorporovaný benzokain nacházet uvnitř hmoty matrice. Protože k uvolnění benzokainu může docházet prakticky jen z povrchu matrice, musí benzokain z vnitřku difundovat k okrajovým částem, odkud může být uvolněn do okolí. Podle této teorie by pak k uvolnění stejného množství benzokainu z matric zvyšujícího se objemu ale stejného složení a struktury měl být potřebný delší čas.

Tento předpoklad je v praxi potvrzen pro matrice z poly(HEMA-co-EDMA) a poly(HEMA-co-MA), viz Grafy 11.1.1 a 11.1.2. U matric poly(styren-co-m.a.), Graf 11.1.3, není tloušťka matrice výrazně limitujícím pro čas, kdy dochází k uvolnění maximálního množství benzokainu.

Konečná hodnota relativního množství uvolněného benzokainu je však u všech třech materiálů závislá na počáteční tloušťce matrice. S rostoucí tloušťkou matrice dochází k poklesu konečné hodnoty relativního množství uvolněného benzokainu. Polymerní síť s inkorporovaným benzokainem je o něco řidší než síť bez navázaného benzokainu.

Hydrogel tedy může botnat o něco více a uvolnění benzokainu je snadnější. Tento efekt se více projevuje u tenších matric. U silnějších matric pak benzokain spíše hraje roli plniva a omezuje nárůst objemu, viz Tabulka 11.2.1. U matric na bázi poly(styren-co-m.a.) bylo zaznamenáno s nejmenší tloušťkou matrice nejmenší množství uvolněného benzokainu. Tento efekt mohl být však ovlivněn problematickou rozpustností benzokainu v tomto systému a mírnou nehomogenitou jeho rozmístění v matricích menší tloušťky.

V případě matric na bázi poly(HEMA-co-EDMA) nebyl zaznamenán výrazný rozdíl SB matric různých tlouštěk (Tabulka 11.2.1), jeho hodnoty jsou však v porovnání se SB matric, které benzokain neobsahují, nižší. Benzokain pravděpodobně v tomto případě funguje jako plnivo, které snižuje SB materiálu.

12.2.2. Tvar průřezu

Hydrogelové matrice různého geometrického průřezu byly připraveny z materiálů poly(HEMA-co-EDMA) a poly(HEMA-co-MA). Polymerační kontrakce poly(styren-co-m.a.) byla natolik velká, že matrice různého tvaru průřezu z tohoto materiálu nebylo možno stejným postupem připravit.

Matrice různého tvaru průřezu z poly(HEMA-co-EDMA) i poly(HEMA-co-MA) vykazují stejný trend uvolňování benzokainu, viz Grafy 11.1.4 a 11.1.5. Největší relativní množství uvolněného benzokainu bylo zaznamenáno u kruhového průřezu, nejmenší naopak u čtvercového. Konečné hodnoty uvolněného množství se však nelišily o více než 15 % a v porovnání s matricemi rozdílné tloušťky nehraje tvar průřezu tak významnou roli.

Pro bližší porovnání matric různého geometrického tvaru průřezu byla konečná hodnota relativního množství uvolněného benzokainu porovnána s poměrem počátečního objemu a povrchu jednotlivých matric, viz Tabulky 11.1.3 a 11.1.4. Z těchto údajů je patrné, že hodnoty tohoto poměru korelují s údaji o množství uvolněného benzokainu z těchto matric. S rostoucím poměrem objemu vůči povrchu roste i množství uvolněného benzokainu.

SB matric není výrazně ovlivněn geometrickým tvarem průřezu. Z Tabulky 11.2.2 lze nicméně usuzovat, že s klesajícím poměrem počátečního objemu a povrchu SB nezávisle na materiálu matrice roste.

12.2.3. Struktura matrice

Pro zjištění vlivu porozity na kinetiku uvolňování benzokainu byly využity matrice s 5% obsahem benzokainu. Matrice s vyšším obsahem porogenu (60 – 80 %) nemohly být do zkoumání zahrnuty, protože u takto vysokých podílů porogenu v polymerizační směsi nedošlo k uspokojivé polymerizaci materiálu. Materiál zároveň vykazoval vysokou polymerní kontrakci.

Podle teorie by matrice s vyšším počtem pórů nebo jejich větší velikostí měla sorbovat tekutinu rychleji. Rychleji by se proto měla uvolňovat také bioaktivní látka obsažená v matrici. To potvrzuje Graf 11.1.6. Benzokain je nejrychleji uvolňován z poly(HEMA-co-EDMA) matric, jejichž polymerizační směs obsahovala 50 % porogenu – destilované vody. S klesající porozitou matrice klesá také rychlost, s jakou je benzokain uvolňován. Zároveň s tímto efektem klesá i hodnota relativního množství uvolněného benzokainu z matrice. To patrně souvisí s tím, že v poréznější matrici je přístup tekutiny do celého objemu snadnější a samotné uvolnění benzokainu z hlubších oblastí je efektivnější.

Struktura matric na bázi poly(HEMA-co-EDMA) dále ovlivňuje SB. Z Tabulky 11.2.3 je patrné, že s rostoucím obsahem porogenu v polymerizační směsi, a tedy s rostoucí velikostí, resp. počtem pórů v matrici roste i její SB. Hodnoty SB porézních matric se pohybují v rozmezí od 36 do 45 % a příliš se tedy neliší od hodnoty 40 %, která náleží neporézním matricím bez obsaženého benzokainu.

12.2.4. Koncentrace benzokainu v polymerizační směsi

Se zvyšující se koncentrací benzokainu v polymerizační směsi roste i množství této látky, které je do matrice inkorporováno. Vzhledem k tomu, že může docházet k interakcím mezi polymerní sítí a molekulou bioaktivní látky, lze předpokládat, že množství inkorporované bioaktivní látky v matrici má vliv na množství, které je z matrice uvolněno.

Grafy 11.1.7 a 11.1.8 znázorňují časové profily uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-EDMA), resp. poly(HEMA-co-MA) matric s různým množstvím inkorporovaného benzokainu. V případě matric z poly(HEMA-co-EDMA) mohou být časové profily rozděleny do třech skupin. První skupinou jsou časové profily matric s 2 a 5% koncentrací benzokainu v polymerizační směsi. U těchto matric bylo konečné množství uvolněného benzokainu blízké 95 %. Druhou skupinu tvoří matrice s 10, 15 a 20% koncentrací v polymerizační směsi. Zde se množství uvolněného benzokainu pohybovalo v rozmezí 50 - 73 %. Třetí skupinu pak tvoří matrice s vysokým obsahem inkorporovaného benzokainu, tedy takové, kde byla koncentrace benzokainu v polymerizační směsi 40 %.

Časové profily uvolňování benzokainu matric z poly(HEMA-co-MA) jsou srovnatelné s předcházejícím případem, nicméně se zde vyskytuje několik odlišností. Množství uvolněného benzokainu je o něco nižší, nepřevyšuje 90% hranici. Matrice s 10 a 15% koncentrací benzokainu v polymerizační směsi vykazují velmi vysoké množství uvolněného benzokainu, zatímco u matric s 20% koncentrací se tato hodnota snížila k 40 %. Nejméně (10 %) byl benzokain uvolňován z matric, které obsahovaly jeho největší množství, stejně jako tomu bylo u předcházejícího případu.

V případě poly(styren-co-m.a.), Graf 11.1.9, nedošlo u koncentrací benzokainu vyšší než 5 % v polymerizační směsi k jeho úplnému rozpuštění. Z tohoto důvodu mohly být připraveny

pouze matrice s 2 a 5% koncentrací benzokainu. V tomto případě se výsledné množství uvolněného benzokainu příliš nelišilo. Jeho absolutní hodnota je však v porovnání s předchozími dvěma materiály nízká, nepřesahuje 25 %.

Z výše zmíněného proto můžeme usuzovat, že s rostoucí koncentrací klesá hodnota množství uvolněného benzokainu z matrice. Tento fakt přičítáme pravděpodobným interakcím materiálů hydrogelových matric s molekulami tohoto lokálního anestetika.

SB matric s různým množstvím inkorporovaného benzokainu, Tabulka 11.2.4, se lišil nejen pro jednotlivé skupiny matric v rámci jednoho materiálu, ale i napříč všemi materiály. Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) vykazují předpokládaný trend, kdy s rostoucí koncentrací inkorporovaného benzokainu klesá jejich SB. U poly(HEMA-co-MA) matric však s rostoucí koncentrací benzokainu SB mírně roste. Důvodem, proč byl benzokain z koncentrovanějších matric uvolňován obtížněji pak pravděpodobně souvisí s vyšší mírou interakcí polymerní sítě a lokálním anestetikem.

13. Závěr

Hydrogely jsou v centru pozornosti již od 60. let 20. století, kdy Wichterle a Lím představili první syntetický hydrogelový materiál, poly(HEMA-co-EDMA), jako materiál měkkých kontaktních čoček. Hydrogely jsou známé svou vysokou biokompatibilitou, a staly se proto záhy zcela novou skupinou materiálů, které bylo možné s úspěchem použít v mnoha medicínských oblastech.

Jednou z takových oblastí je i dodávání léčiv. Hydrogely mohou ve své prostorové síti snadno přenášet bioaktivní látky, které jsou v návaznosti na bobtnání hydrogelu v organismu desorbovány a uvolňovány do okolí. Modifikace hydrogelu, jako nosiče léčiva a lékové formy jako takové přináší možnost cíleně řídit kinetiku uvolňování bioaktivní látky v těle.

Na kinetiku uvolňování bioaktivní látky má vliv nejen typ hydrogelového materiálu, ale také jeho struktura a tvarové parametry hydrogelové matrice.

Pro studium vlivu materiálu, struktury a tvarových parametrů hydrogelových matric na kinetiku uvolňování modelové látky byla jako modelová látka zvoleno lokální anestetikum benzokain, běžně používané například ve stomatologii. Hydrogelové matrice byly vytvořeny ze třech materiálů – poly(HEMA-co-EDMA), poly(HEMA-co-MA) a poly(styren-co-m.a.). Jednotlivé matrice se lišily svojí tloušťkou, geometrickým tvarem průřezu, obsahem benzokainu a případně i svou porézní strukturou. Benzokain byl do matric inkorporován v průběhu jejich polymerizace.

Na základě chromatografické analýzy vzorků elučního média - fosfátového pufru, do kterého byl benzokain z matric uvolňován, byly stanoveny časové profily uvolňování benzokainu z jednotlivých matric. Zjištěn byl také stupeň bobtnání těchto matric.

Na kinetiku uvolňování benzokainu má zásadní vliv materiál hydrogelové matrice. Z poly(styren-co-m.a.) matric byl benzokain v porovnání s ostatními zkoumanými materiály uvolňován s menší efektivitou, maximum uvolněného množství nepřesáhlo 25 % z inkorporovaného množství benzokainu. Tento materiál zároveň vykazoval velmi pozvolné uvolňování benzokainu, které patrně souvisí s postupnou hydrolyzou maleinanhydridových jednotek na kyselinu maleinovou. Rychlost hydrolyzy závisí na okolních podmínkách a může probíhat v řádu hodin až dní.

Kromě materiálu byly hydrogelové matrice porovnány i z hlediska tvarových parametrů. Zvyšující se tloušťka matrice negativně ovlivňuje množství uvolněného benzokainu.

Geometrický tvar průřezu není v porovnání se změnou tloušťky matrice tolik dominantní. Můžeme nicméně říci, že se zvyšujícím se poměrem počátečního objemu a povrchu poroste i množství benzokainu, které bude z matrice uvolněno.

Vliv struktury materiálu byl zkoumán na poly(HEMA-co-EDMA) maticích. Podle předpokladů dochází u poréznějších matic ke zrychlení uvolnění benzokainu, které souvisí s rychlejším botnáním těchto matic. Uvolněné množství je ve srovnání s méně porézními maticemi vyšší, což pravděpodobně souvisí se snadnějším prostupem elučního média do struktury matrice. Se zvyšující se porozitou matrice roste i stupeň botnání.

Počáteční množství inkorporovaného benzokainu má přímý vliv na množství, které je z matrice uvolněno. U nízkých množství inkorporovaného benzokainu v matrici dochází k poměrně snadnému uvolnění velké části obsaženého benzokainu, se zvyšujícím se počátečním množstvím v matrici procento uvolněného benzokainu klesá. To pravděpodobně souvisí s vyšší mírou interakcí benzokainu a polymerní sítě. Uvolnění benzokainu do elučního média se v takovém případě stává komplikovanější.

Je zřejmé, že všechny výše zmíněné parametry hydrogelových matic mohou mít vliv na kinetiku uvolňování modelové látky. Materiál, stejně jako tvarové parametry hydrogelové matrice je pak vhodné volit na základě zamýšlené aplikace hydrogelu. Spojení hydrogelové matrice a lokálního anestetika benzokainu může být například vhodné u tkáňové expanze v zubním lékařství. Botnající hydrogel stimuluje okolní tkáň k její expanzi a zároveň s botnáním hydrogelu je do okolí uvolňováno anestetikum, které může tlumit bolest spojenou s expanzí. Pro tento účel může být zajímavá například aplikace poly(styren-co-m.a.) matic, které anestetikum uvolňují velmi pozvolna a zároveň dlouhý čas. Množství uvolněného anestetika bylo v našem experimentu nízké, na tomto místě si ale dovoluji upozornit, že benzokain byl do matrice inkorporován již během polymerizace. Bylo by proto vhodné zvážit, zda by jiný způsob inkorporace benzokainu do materiálu nebyl pro tyto účely vhodnějším řešením. Takovým způsobem může být například inkubace matic v roztoku látky a jejich následné vysušení.

Seznam obrázků a grafů

- Obr. 1.1 Struktura polymerní sítě
- Obr. 3.1 Chování pH senzitivních hydrogelů
- Obr. 5.1 Hydrogelový tkáňový expandér Osmed™, 2. generace
- Obr. 5.2 Hydrogelový tkáňový expandér Oxtex®
- Obr. 6.1 Molekula benzokainu
- Obr. 9.1 Poly(HEMA-co-EDMA)
- Obr. 9.2 Poly(HEMA-co-MA)
- Obr. 9.3 Poly(styren-co-m.a.)
- Obr. 10.1 Forma pro výrobu polymerní matrice
- Obr. 12.1 Hydrolýza maleinanhydridu
-
- Graf 11.1.1 Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-EDMA) matric různých tloušťek
- Graf 11.1.2 Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-MA) matric různých tloušťek
- Graf 11.1.3 Časový profil uvolňování benzokainu z poly(styren-co-m.a.) matric různých tloušťek
- Graf 11.1.4 Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-EDMA) matric různého průřezu
- Graf 11.1.5 Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-MA) matric různého průřezu
- Graf 11.1.6 Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-EDMA) matric různé porozity
- Graf 11.1.7 Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-EDMA) matric v závislosti na jeho množství
- Graf 11.1.8: Časový profil uvolňování benzokainu z poly(HEMA-co-MA) matric v závislosti na jeho množství
- Graf 11.1.9 Časový profil uvolňování benzokainu z poly(styren-co-m.a.) matric v závislosti na jeho množství

Seznam tabulek

Tabulka 10.1.1	Chemikálie polymerizační směsi pro poly(HEMA-co-EDMA)
Tabulka 10.1.2	Chemikálie polymerizační směsi pro poly(HEMA-co-MA)
Tabulka 10.1.3	Chemikálie polymerizační směsi pro poly(styren-co-m.a.)
Tabulka 11.1.1	Spolehlivost regresních křivek pro matrice různé tloušťky
Tabulka 11.1.2	Spolehlivost regresních křivek pro matrice různého tvaru průřezu
Tabulka 11.1.3	Vztah množství uvolněného benzokainu a poměru objemu a povrchu matric na bázi poly(HEMA-co-EDMA)
Tabulka 11.1.4:	Vztah množství uvolněného benzokainu a poměru objemu a povrchu matric na bázi poly(HEMA-co-MA)
Tabulka 11.1.5	Spolehlivost regresních křivek pro různé porozity matric
Tabulka 11.1.6	Spolehlivost regresních křivek pro různé koncentrace benzokainu v matricích
Tabulka 11.2.1	Stupeň zbotnění matric v závislosti na jejich tloušťce
Tabulka 11.2.2	Stupeň zbotnění matric v závislosti na jejich průřezu
Tabulka 11.2.3	Stupeň zbotnění matric v závislosti na jejich porozitě
Tabulka 11.2.4	Stupeň zbotnění matric v závislosti na množství obsaženého benzokainu

Seznam příloh

- P/1 Sušárna Memmert
- P/2 Laboratorní třepačka IKA® KS 4000
- P/3 HPLC Shimadzu LC Solutions
- P/4 Forma s matricemi z poly(HEMA-co-EDMA) s 60% rozpouštědla
- P/5 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) kruhového průřezu před a po zbotnění
- P/6 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) trojúhelníkového průřezu před a po zbotnění
- P/7 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) čtvercového průřezu před a po zbotnění
- P/8 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) s 15% obsahem benzokainu před a po zbotnění
- P/9 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) s obsahem porogenu 10 – 50 % před zbotněním
- P/10 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) s obsahem porogenu 10 a 20 % po zbotnění
- P/11 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) s obsahem porogenu 30 a 40 % po zbotnění
- P/12 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) s obsahem porogenu 50 % po zbotnění
- P/13 Matrice z poly(HEMA-co-MA) s 15% obsahem benzokainu před a po zbotnění
- P/14 Matrice z poly(HEMA-co-MA) s 40% obsahem benzokainu před a po zbotnění

Literatura

1. KOPECEK, Jindrich. Hydrogels: From soft contact lenses and implants to self-assembled nanomaterials. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* [online]. 2009, roč. 47, č. 22, s. 5929–5946. ISSN 0887624X, 10990518. Dostupné z: doi:10.1002/pola.23607
2. BARBUCCI, Rolando, ed. *Hydrogels: biological properties and applications*. Milan ; New York: Springer, 2009. ISBN 978-88-470-1103-8.
3. PROKOPOVÁ, Irena a VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE. *Makromolekulární chemie*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2007. ISBN 978-80-7080-662-3.
4. WANG, Jing, et al. Glucose detection with surface plasmon resonance spectroscopy and molecularly imprinted hydrogel coatings. *Talanta* [online]. 2011, roč. 86, s. 133–141. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2011.08.046
5. SHANG, Junyi, et al. A hydrogel-based glucose affinity microsensor. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2016 [vid. 2016-05-04]. ISSN 09254005. Dostupné z: doi:10.1016/j.snb.2016.03.146
6. MILO, Scarlet, et al. An in-situ infection detection sensor coating for urinary catheters. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2016, roč. 81, s. 166–172. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2016.02.059
7. LAPORTE, Richard J. *Hydrophilic polymer coatings for medical devices: structure/properties, development, manufacture, and applications*. Lancaster, PA: Technomic Pub, 1997. ISBN 978-1-56676-504-6.
8. FISCHER, Marion, et al. Multilayer hydrogel coatings to combine hemocompatibility and antimicrobial activity. *Biomaterials* [online]. 2015, roč. 56, s. 198–205. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2015.03.056
9. BUTRUK-RASZEJA, Beata A., et al. Athrombogenic hydrogel coatings for medical devices – Examination of biological properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2015, roč. 130, s. 192–198. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2015.04.008
10. CALÓ, Enrica a Vitaliy V. KHUTORYANSKIY. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European Polymer Journal* [online]. 2015, roč. 65, s. 252–267. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2014.11.024
11. MAŠEK, Petr, Jiří PAŠTA a Miroslav BŘEŠŤÁK. *60 let nitrooční čočky*. Hradec Králové: Nucleus HK, 2010. ISBN 978-80-87009-73-4.
12. LEE, Ping I. Kinetics of drug release from hydrogel matrices. *Journal of Controlled Release* [online]. 1985, roč. 2, s. 277–288. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/0168-3659(85)90051-3
13. HINA KOUSER SHAIKH, R. V. KSHIRSAGAR a S. G. PATIL. Mathematical models for drug release characterization: a review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2015, roč. 4, č. 4, s. 324–338. ISSN 2278 – 4357.

14. DASH, Suvakanta, et al. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 2010, roč. 67, č. 3, s. 217–223. ISSN 0001-6837.
15. DOSTÁLEK, Miroslav. *Farmakokinetika*. Praha: Grada, 2006. ISBN 978-80-247-1464-6.
16. OKANO, Teruo, ed. *Advances in polymeric systems for drug delivery*. Yverdon: Gordon and Breach, 1994. Japanese technology reviews Section E, Biotechnology, 4,1. ISBN 978-2-88124-947-1.
17. DUŠEK, K. a D. PATTERSON. Transition in swollen polymer networks induced by intramolecular condensation. *Journal of Polymer Science Part A-2: Polymer Physics* [online]. 1968, roč. 6, č. 7, s. 1209–1216. ISSN 04492978, 15429377. Dostupné z: doi:10.1002/pol.1968.160060701
18. TANAKA, Toyochi. Collapse of Gels and the Critical Endpoint. *Physical Review Letters* [online]. 1978, roč. 40, č. 12, s. 820–823. ISSN 0031-9007. Dostupné z: doi:10.1103/PhysRevLett.40.820
19. PETERSON, Dominic S. pH-Sensitive Hydrogel. In: Dongqing LI, ed. *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics* [online]. Boston, MA: Springer US, 2014 [vid. 2016-05-05], s. 1–5. ISBN 978-3-642-27758-0. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-27758-0_1230-2
20. RIMMER, Steve, ed. *Biomedical hydrogels: biochemistry, manufacture, and medical applications*. Cambridge, UK ; Philadelphia, PA: Woodhead Publishing, 2011. Woodhead Publishing in materials. ISBN 978-1-84569-590-3.
21. QIU, Yong a Kinam PARK. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2001, roč. 53, č. 3, s. 321–339. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/S0169-409X(01)00203-4
22. MARK, H. F., ed. *Encyclopedia of polymer science and technology*. Concise 3rd ed. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience, 2007. ISBN 978-0-470-04610-4.
23. MCKENZIE, Matthew, et al. Hydrogel-Based Drug Delivery Systems for Poorly Water-Soluble Drugs. *Molecules* [online]. 2015, roč. 20, č. 12, s. 20397–20408. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules201119705
24. HOARE, Todd R. a Daniel S. KOHANE. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer* [online]. 2008, roč. 49, č. 8, s. 1993–2007. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2008.01.027
25. LI, Yongcheng, et al. Interactions between drugs and polymers influencing hot melt extrusion: Drug-polymer interactions in HME. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* [online]. 2014, roč. 66, č. 2, s. 148–166. ISSN 00223573. Dostupné z: doi:10.1111/jphp.12183
26. VACÍK, Jiří. *Přehled středoškolské chemie: Učeb. pro stř. šk.* Praha: SPN-pedagogické nakladatelství, 1995. ISBN 978-80-85937-08-4.
27. SIX, Karel, et al. Characterization of solid dispersions of itraconazole and hydroxypropylmethylcellulose prepared by melt extrusion, Part II. *Pharmaceutical Research*. 2003, roč. 20, č. 7, s. 1047–1054. ISSN 0724-8741.

28. ANDREWS, Gavin P., Osama A. ABUDIYAK a David S. JONES. Physicochemical characterization of hot melt extruded bicalutamide-polyvinylpyrrolidone solid dispersions. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2010, roč. 99, č. 3, s. 1322–1335. ISSN 1520-6017. Dostupné z: doi:10.1002/jps.21914
29. PROIKAKIS, C.S., P.A. TARANTILI a A.G. ANDREOPOULOS. The role of polymer/drug interactions on the sustained release from poly(dl-lactic acid) tablets. *European Polymer Journal* [online]. 2006, roč. 42, č. 12, s. 3269–3276. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2006.08.023
30. OXLEY, H. R., et al. Macroporous hydrogels for biomedical applications: methodology and morphology. *Biomaterials*. 1993, roč. 14, č. 14, s. 1064–1072. ISSN 0142-9612.
31. CHIRILA, Traian V., ed. *Biomaterials and regenerative medicine in ophthalmology*. Boca Raton, Fla.: CRC Press [u.a.], 2010. Woodhead publishing in materials. ISBN 978-1-84569-743-3.
32. MATTIASSON, Bo, Ashok KUMAR a Igor GALAEV. *Macroporous polymers production properties and biotechnological/biomedical applications* [online]. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2010 [vid. 2016-05-06]. ISBN 978-1-4200-8462-7. Dostupné z: <http://www.crcnetbase.com/isbn/9781420084610>
33. KARASULU, H. Yeşim a Gökhan ERTAN. Different geometric shaped hydrogel theophylline tablets: statistical approach for estimating drug release. *Farmaco (Società Chimica Italiana: 1989)*. 2002, roč. 57, č. 11, s. 939–945. ISSN 0014-827X.
34. SIEPMANN, J., et al. Calculation of the required size and shape of hydroxypropyl methylcellulose matrices to achieve desired drug release profiles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2000, roč. 201, č. 2, s. 151–164. ISSN 0378-5173.
35. ARIFUZZAMAN, Md., et al. Geometric and Edge Effects on Swelling-Induced Ordered Structure Formation in Polyelectrolyte Hydrogels. *Macromolecules* [online]. 2013, roč. 46, č. 22, s. 9083–9090. ISSN 0024-9297, 1520-5835. Dostupné z: doi:10.1021/ma401773w
36. TIWARI, Gaurav, et al. Drug delivery systems: An updated review. *International Journal of Pharmaceutical Investigation* [online]. 2012, roč. 2, č. 1, s. 2. ISSN 2230-973X. Dostupné z: doi:10.4103/2230-973X.96920
37. KUNO, Noriyuki a Shinobu FUJII. Recent Advances in Ocular Drug Delivery Systems. *Polymers* [online]. 2011, roč. 3, č. 4, s. 193–221. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym3010193
38. HSU, K.-H., S. GAUSE a A. CHAUHAN. Review of ophthalmic drug delivery by contact lenses. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* [online]. 2014, roč. 24, č. 2, s. 123–135. ISSN 17732247. Dostupné z: doi:10.1016/S1773-2247(14)50021-4
39. BOURGES, J.L., et al. Intraocular implants for extended drug delivery: Therapeutic applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2006, roč. 58, č. 11, s. 1182–1202. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2006.07.026
40. RANADE, Vasant V. a John B. CANNON. *Drug delivery systems*. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2011. ISBN 978-1-4398-0618-0.
41. COLILLA, Montserrat, Miguel MANZANO a María VALLET-REGÍ. Recent advances in ceramic implants as drug delivery systems for biomedical applications. *International Journal of Nanomedicine*. 2008, roč. 3, č. 4, s. 403–414. ISSN 1178-2013.

42. JOHNSON, Timothy M., et al. Histology and Physiology of Tissue Expansion. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology* [online]. 1993, roč. 19, č. 12, s. 1074–1078. ISSN 01480812. Dostupné z: doi:10.1111/j.1524-4725.1993.tb01002.x
43. NELIGAN, Peter, Richard J. WARREN a Allen VAN BEEK, ed. Principles and applications of tissue expansion. In: Peter NELIGAN, Richard J. WARREN a Allen VAN BEEK, ed. *Plastic surgery*. 3rd ed. London ; New York: Elsevier Saunders, 2013. ISBN 978-1-4377-1733-4.
44. YANG, Mingyong. 'Expansion in-situ' concept as a new technique for expanding skin and soft tissue. *Experimental and Therapeutic Medicine* [online]. 2013 [vid. 2015-12-27]. ISSN 1792-0981, 1792-1015. Dostupné z: doi:10.3892/etm.2013.1269
45. WIESE, K. G. Osmotically induced tissue expansion with hydrogels: a new dimension in tissue expansion? A preliminary report. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery: Official Publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 1993, roč. 21, č. 7, s. 309–313. ISSN 1010-5182.
46. VAN RAPPARD, Julien H. A., et al. Surface-Area Increase in Tissue Expansion: *Plastic and Reconstructive Surgery* [online]. 1988, roč. 82, č. 5, s. 838–839. ISSN 0032-1052. Dostupné z: doi:10.1097/00006534-198811000-00017
47. AUSTAD, Eric David, Gregory L. ROSE a Chedomir RADOVAN. A Self-Inflating Tissue Expander: *Plastic and Reconstructive Surgery* [online]. 1982, roč. 70, č. 5, s. 594. ISSN 0032-1052. Dostupné z: doi:10.1097/00006534-198211000-00012
48. DHADSE, Prasad Vijayrao, et al. Soft tissue expansion before vertical ridge augmentation: Inflatable silicone balloons or self-filling osmotic tissue expanders? *Journal of Indian Society of Periodontology* [online]. 2014, roč. 18, č. 4, s. 433–440. ISSN 0972-124X. Dostupné z: doi:10.4103/0972-124X.138680
49. Tissue expander system [online]. [vid. 2015-12-27]. Dostupné z: <http://www.google.com/patents/US4685447>
50. Systems and methods for tissue expansion with fluid delivery and drainage system [online]. [vid. 2015-12-27]. Dostupné z: <http://www.google.com/patents/US8454690>
51. WIESE, K. G., et al. Biomaterial properties and biocompatibility in cell culture of a novel self-inflating hydrogel tissue expander. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2001, roč. 54, č. 2, s. 179–188. ISSN 0021-9304.
52. *osmed - Self inflating tissue expander - Breast reconstruction - Anophthalmia - Augmentation of resorbed edentulous ridges - and more* [online]. B.m.: Osmed GmbH. [vid. 2015-12-28]. Dostupné z: http://www.osmed.biz/en/20_indikationen.php
53. RONERT, Marc Alexander, et al. The Beginning of a New Era in Tissue Expansion: Self-Filling Osmotic Tissue Expander, Four-Year Clinical Experience: *Plastic and Reconstructive Surgery* [online]. 2004, s. 1025–1031. ISSN 0032-1052. Dostupné z: doi:10.1097/01.PRS.0000135325.13474.D3
54. *osmed - Hydrogel expander for plastic surgery* [online]. B.m.: Osmed GmbH. [vid. 2015-12-28]. Dostupné z: http://www.osmed.biz/en/11_plastische_chirurgie.php
55. SWAN, M. C., et al. Synthesis and properties of a novel anisotropic self-inflating hydrogel tissue expander. *Acta Biomaterialia* [online]. 2011, roč. 7, č. 3, s. 1126–1132. ISSN 1878-7568. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2010.10.017

56. ZHU, Yun a Jan T. CZERNUSZKA. Inter-penetrating Polymer Network Hydrogel Tissue Expanders with Controlled Expansion and Anisotropic Properties. *Journal of Medical and Bioengineering* [online]. 2015, roč. 4, č. 2, s. 86–92. ISSN 23013796. Dostupné z: doi:10.12720/jomb.4.2.86-92
57. *Oxtex :: Applications* [online]. B.m.: Oxtex Limited 2015. Dostupné z: <http://www.oxtex.com/applications/>
58. *Oxtex :: Oxtex technology* [online]. B.m.: Oxtex Limited 2015. [vid. 2015-12-28]. Dostupné z: <http://www.oxtex.com/about/tissue-expansion/technology/>
59. WACKE, R., B., et al. In vitro kinetics of delivery of tobramycin and ofloxacin from osmotic hydro gel expanders. *Int. Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* [online]. 2011, roč. 49, č. 7, s. 422–427. ISSN 0946-1965. Dostupné z: doi:10.5414/CP201516
60. *Oxtex :: Dental & Oral* [online]. B.m.: Oxtex Limited 2015. [vid. 2015-12-28]. Dostupné z: <http://www.oxtex.com/applications/dentistry/>
61. *Tkářový hydrogelový osmotický expander OSMED* [online]. B.m.: EveryDent s.r.o., Osmed GmbH. březen 2012. [vid. 2015-12-27]. Dostupné z: http://www.osmed.biz/pdf/osmed-brochure_Dental_Czech.pdf
62. ASA'AD, Farah, et al. Pre-augmentation soft tissue expansion: an overview. *Clinical Oral Implants Research* [online]. 2015, s. n/a-n/a. ISSN 09057161. Dostupné z: doi:10.1111/clr.12617
63. KANER, Doğan a Anton FRIEDMANN. Soft tissue expansion with self-filling osmotic tissue expanders before vertical ridge augmentation: a proof of principle study. *Journal of Clinical Periodontology* [online]. 2011, roč. 38, č. 1, s. 95–101. ISSN 1600-051X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01630.x
64. MCALLISTER, Bradley S. a Kamran HAGHIGHAT. Bone Augmentation Techniques. *Journal of Periodontology* [online]. 2007, roč. 78, č. 3, s. 377–396. ISSN 0022-3492. Dostupné z: doi:10.1902/jop.2007.060048
65. KULEWICZ, M., Z. DUDKIEWICZ a D. CUDZILO. Distrakční osteogeneze při léčbě asymetrické mikrogenie. *Ortodoncie*. 2003, roč. 12, č. 2, s. 24–30. ISSN 1210-4272.
66. DOSTÁLOVÁ, Tatjana a Michaela SEYDLOVÁ. *Stomatologie*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-2700-4.
67. ŠČIGEL, Vladimír. *Lokální anestezie v praxi zubního lékaře*. Praha: Quintessenz, 2004. ISBN 978-80-903181-4-4.
68. MILOSLAVA RABIŠKOVÁ. *Perorální matricové tablety s řízeným uvolňováním léčiva – Lékové formy – Články – Remedia – farmakoterapeutický časopis* [online]. březen 2007 [vid. 2016-04-01]. Dostupné z: <http://www.remédia.cz/Clanky/Lekove-formy/Peroralni-matricove-tablety-s-rozenym-uvolnovanim-leciva/6-H-hD.magarticle.aspx>
69. *Benzocaine | Sigma-Aldrich* [online]. [vid. 2016-04-22]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/benzocaine165199409711?lang=en®ion=CZ>
70. HADAŠOVÁ EVA. Lipozomální lékové formy pro topické využití. *Remedia*. 2006, roč. 16/2006, č. 4, s. 433–437. ISSN 2336-3541.

71. MURA, Paola, et al. Development, characterization and in vivo evaluation of benzocaine-loaded liposomes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [online]. 2007, roč. 67, č. 1, s. 86–95. ISSN 09396411. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejpb.2007.01.020
72. MAESTRELLI, Francesca, et al. Effect of preparation technique on the properties and *in vivo* efficacy of benzocaine-loaded ethosomes. *Journal of Liposome Research* [online]. 2009, roč. 19, č. 4, s. 253–260. ISSN 0898-2104, 1532-2394. Dostupné z: doi:10.3109/08982100902788408
73. MORAES, Carolina Morales, et al. Benzocaine loaded biodegradable poly-(d,l-lactide-co-glycolide) nanocapsules: factorial design and characterization. *Materials Science and Engineering: B* [online]. 2009, roč. 165, č. 3, s. 243–246. ISSN 09215107. Dostupné z: doi:10.1016/j.mseb.2009.06.011
74. DE MELO, Nathalie Ferreira, et al. Poly(Lactide-co-Glycolide) Nanocapsules Containing Benzocaine: Influence of the Composition of the Oily Nucleus on Physico-Chemical Properties and Anesthetic Activity. *Pharmaceutical Research* [online]. 2011, roč. 28, č. 8, s. 1984–1994. ISSN 0724-8741, 1573-904X. Dostupné z: doi:10.1007/s11095-011-0425-6
75. SILVA DE MELO, Nathalie Ferreira, et al. Benzocaine-Loaded Polymeric Nanocapsules: Study of the Anesthetic Activities. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2012, roč. 101, č. 3, s. 1157–1165. ISSN 00223549. Dostupné z: doi:10.1002/jps.22829
76. POPOFF, Alexandre a Denis FICHOU. Immobilization of paracetamol and benzocaine pro-drug derivatives as long-range self-organized monolayers on graphite. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2008, roč. 63, č. 1, s. 153–158. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2007.11.003
77. SHIN, S. Preparation and evaluation of bioadhesive benzocaine gels for enhanced local anesthetic effects. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2003, roč. 260, č. 1, s. 77–81. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-5173(03)00256-4
78. MAFFEI, P., S., et al. Design and in vitro-in vivo evaluation of a bi-layered tablet containing benzocaine for local buccal administration. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* [online]. 2004, roč. 14, č. 5, s. 363–372. ISSN 17732247. Dostupné z: doi:10.1016/S1773-2247(04)50065-5
79. WICHTERLE, O. a D. LÍM. Hydrophilic Gels for Biological Use. *Nature* [online]. 1960, roč. 185, č. 4706, s. 117–118. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/185117a0
80. KOPECEK, Jindrich. Hydrogels: From soft contact lenses and implants to self-assembled nanomaterials. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* [online]. 2009, roč. 47, č. 22, s. 5929–5946. ISSN 0887624X, 10990518. Dostupné z: doi:10.1002/pola.23607
81. SALAMONE, Joseph C., ed. *Concise polymeric materials encyclopedia*. Boca Raton: CRC Press, 1999. ISBN 978-0-8493-2226-6.
82. RATNER, B. D., ed. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. 3rd ed. Amsterdam ; Boston: Elsevier/Academic Press, 2013. ISBN 978-0-12-374626-9.

83. JIŘÍ MICHÁLEK, et al. Hydrogels Contact Lenses. In: *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*. New York, N. Y: Springer New York, 2010, s. 303–315. ISBN 978-1-4419-5918-8.
84. BACH, Long Giang, et al. Synthesis and Characterization of Multiwalled Carbon Nanotubes/Poly(HEMA- co -MMA) by Utilizing Click Chemistry. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* [online]. 2016, roč. 16, č. 3, s. 2975–2978. ISSN 15334880, 15334899. Dostupné z: doi:10.1166/jnn.2016.11049
85. SCHEIRS, John a Duane PRIDDY. *Modern styrenic polymers: polystyrenes and styrenic copolymers* [online]. Chichester, West Sussex, England; Hoboken, NJ: J. Wiley, 2003 [vid. 2016-04-22]. ISBN 978-0-470-86247-6. Dostupné z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=83717>
86. HOWARD L GERHART. Conjoint polymerization of dicarboxylic acids and olefinic compounds [online]. US 2297351 A. Dostupné z: <http://www.google.com/patents/US2297351>
87. MICHAEL H. GRAY a HAY F. SPARKS, JR. Styrene-Maleic anhydride copolymerization process [online]. US 3297657 A. Dostupné z: <https://www.google.com/patents/US3297657?dq=styrene+maleic+anhydride&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwjx-fHP7qHMAhWJnRoKHXYKDzUQ6AEIRTAC>
88. *Poly(styrene-co-maleic anhydride) average Mw ~224,000 by GPC, maleic anhydride ~7 wt. % | Sigma-Aldrich* [online]. [vid. 2016-04-22]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/426946?lang=en®ion=CZ>
89. ÁVILA, Carolina M. a Fleming MARTÍNEZ. Thermodynamic Study of the Solubility of Benzocaine in some Organic and Aqueous Solvents. *Journal of Solution Chemistry* [online]. 2002, roč. 31, č. 12, s. 975–985. ISSN 0095-9782, 1572-8927. Dostupné z: doi:10.1023/A:1021825509697
90. OPEKAR, František a UNIVERZITA KARLOVA. *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Praha: Karolinum, 2010. ISBN 978-80-246-1775-6.
91. SCHIMADZU CORPORATION, INTERNATIONAL MARKETING DIVISION. *Prominence, Shimadzu High Performance Liquid Chromatograph* [online]. [vid. 2016-04-20]. Dostupné z: http://www.ssi.shimadzu.com/products/literature/hplc/shimadzu_prominence_brochure.pdf
92. *Liquid Chromatography - SPD-M20A : Shimadzu Scientific Instruments* [online]. [vid. 2016-04-22]. Dostupné z: <http://www.ssi.shimadzu.com/products/product.cfm?product=spd-m20a>
93. *Chegg.com* [online]. [vid. 2016-05-16]. Dostupné z: <http://www.chegg.com/homework-help/questions-and-answers/glassware-predried-drying-tube-used-prevent-hydrolysis-maleic-anhydride-maleic-acid-cis-2--q3647522>

Přílohy

P/1 Sušárna Memmert



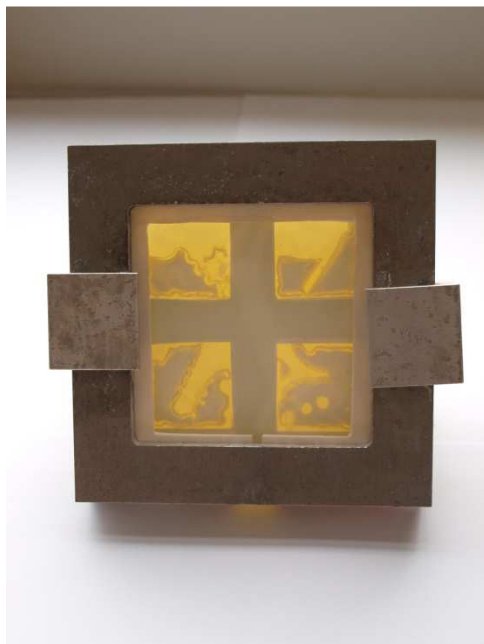
P/2 Laboratorní třepačka IKA® KS 4000



P/3 HPLC Schimadzu LC Solutions



P/4 Forma s matricemi z poly(HEMA-co-EDMA) s 60% rozpouštědla



P/5 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) kruhového průřezu před a po zbotnění



P/6 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) trojúhelníkového průřezu před a po zbotnění



P/7 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) čtvercového průřezu před a po zbotnění



P/8 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) s 15% obsahem benzokainu před a po zbotnění



P/9 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) s obsahem porogenu 10 – 50 % před zbotněním



P/10 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) s obsahem porogenu 10 a 20 % po zbotnění



P/11 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) s obsahem porogenu 30 a 40 % po zbotnění



P/12 Matrice z poly(HEMA-co-EDMA) s obsahem porogenu 50 % po zbotnění



P/13 Matrice z poly(HEMA-co-MA) s 15% obsahem benzokainu před a po zbotnění



P/14 Matrice z poly(HEMA-co-MA) s 40% obsahem benzokainu před a po zbotnění

