

POLYMERNÍ NOSIČE LÉČIV

Andrea Trunkátová

Bakalářská práce
2009



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2008/2009

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Andrea TRUNKÁTOVÁ

Studijní program: B 2808 Chemie a technologie materiálů

Studijní obor: Chemie a technologie materiálů

Téma práce: Polymerní nosiče léčiv

Zásady pro vypracování:

- 1. Prostudujte zadanou literaturu.**
- 2. Vyhledejte další potřebnou literaturu k tématu.**
- 3. Na základě získaných informací z literatury sestavte osnovu bakalářské práce.**
- 4. Napište přehlednou stať na zadané téma.**

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

1. **HAMPL F., RÁDL S., PALEČEK J.** Farmakochemie, Vydavatelství VŠCHT, Praha 2007.
2. **PECHAR M., ULBRICH K.** Chem.listy 103, 3 (2009).
3. **VAVŘÍKOVÁ E., VINŠOVÁ J.** Chem.listy 103, 56 (2009).
4. **CHIELLINI E., SUNAMOTO J., MIGLIARESI C., OTTENBRITE R.M., COHN D.** Biomedical polymers and polymer therapeutics, Springer, New York 2001.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Stanislav Kafka, CSc.

Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2009


Termín odevzdání bakalářské práce:

29. května 2009

Ve Zlíně dne 11. února 2009


doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
vedoucí katedry

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá polymerními nosiči léčiv a přírodními polymery pro formulaci hydrofilních matricových tablet. Charakterizuje přírodní i syntetická polymerní terapeutika, jejich přípravu, členění a využití. Je zmíněn i současný stav klinického vývoje polymerních léčiv. Práce uvádí nejdůležitější přírodní polymery jako potenciální nosiče pro perorální hydrofilní systémy s řízeným uvolňováním léčiv. Popisuje jejich původ, vlastnosti a možnosti jejich využití ve farmacii.

Klíčová slova: polymerní léčiva, hydrofilní polymery, cílení léčiv, biodegradabilní nosič, hydrofilní matricové tablety

ABSTRACT

This work deals with polymeric carriers of drugs and natural polymers in the formulation of hydrophilic matrix tablets. It defines natural and synthetic polymer therapeutics, their preparation, classification and possible uses. The current status of clinical evaluation of the polymer therapeutics is also mentioned. This work surveys the most important natural polymers as potential carriers for oral hydrophilic systems with controlled release of active ingredients. It describes its origin, properties, and possible uses in pharmacy.

Keywords: polymer therapeutics, hydrophilic polymers, targeting of drugs, biodegradable carrier, hydrophilic matrix tablets

Děkuji vedoucímu své bakalářské práce doc. Ing. Stanislavu Kafkovi, CSc. za odborné vedení, podnětné připomínky a rady udílené při vypracování práce.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka.

Ve Zlíně, 29. 5. 2009

.....

Andrea Trunkátová

OBSAH

ÚVOD	7
1 CÍLENÍ POLYMERNÍCH NOSIČŮ	10
1.1 CÍLENÍ (TARGETING).....	10
1.2 SMĚROVANÁ A NESMĚROVANÁ POLYMERNÍ LÉČIVA	11
1.3 ZPŮSOBY CÍLENÍ POLYMERNÍCH NOSIČŮ PRO CÍLENÝ TRANSPORT	13
1.4 HLAVNÍ POŽADAVKY KLADENÉ NA POLYMERNÍ NOSIČE LÉČIV.....	17
2 ČLENĚNÍ A VYUŽITÍ POLYMERNÍCH TERAPEUTIK	19
2.1 SYNTETICKÉ POLYMERY.....	19
2.1.1 Kopolymery na bázi <i>N</i> -(2-hydroxypropyl) methakrylamidu	20
2.1.2 Vlastnosti chemoterapeutik využívajících vodorozpustný polymerní nosič HPMA.....	24
2.1.3 Deriváty poly(ethylenglykolu).....	25
2.1.4 Polymery pro genovou terapii	27
2.2 PŘÍRODNÍ POLYMERY	28
2.2.1 Chitosan.....	28
3 PŘÍRODNÍ POLYMERY PRO FORMULACI HYDROFILNÍCH MATRICOVÝCH TABLET	36
3.1 HYDROFILNÍ POLYMERY PŘÍRODNÍHO PŮVODU	37
3.1.1 Kyselina alginová, alginany	37
3.1.2 Karageny	39
3.1.3 Arabská guma.....	42
3.1.4 Pektiny.....	42
3.1.5 Galaktomanan guar	43
3.1.6 Ispaghula	43
3.1.7 Xantanová guma.....	44
ZÁVĚR	45
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	46
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	48
SEZNAM OBRÁZKŮ	49
SEZNAM TABULEK	50

ÚVOD

Nosiče léčiv jsou v současnosti stále více studovány v kontextu vývoje nových terapeutických systémů pro léčbu mnoha typů onemocnění. Tyto nosiče by měly především umožnit prodlouženou cirkulaci účinných látek v krevním řečišti, řízenou aktivaci a účinek selektivně zaměřených na cílovou tkáň, soubor buněk (např. nádor), jednotlivou buňku nebo dokonce i jen buněčné části. Tím lze omezit nežádoucí účinky terapie, zajistit rozpustnost ve vodě nerozpustných aktivních sloučenin, potlačit rezistenci cílové tkáně k léčivu aj. Byla vyvinuta celá řada typů nosičů založených na rozpustných polymerech, liposomech, nanočásticích a polymerních micelách.

Největší pozornost se zaměřuje na vývoj nosičů kancerostatik, a to především z důvodu vysoké společenské závažnosti nádorových onemocnění, která je dána jejich častým výskytem, dodnes mnohdy málo účinnou léčbou a s tím spojenou vysokou úmrtností. Dnes užívaná protinádorová léčiva jsou totiž nedostatečně selektivní pro nádorovou tkáň, což se projevuje výraznými nežádoucími vedlejšími účinky. Ty omezují účinnou léčbu mnoha typů nádorových onemocnění, protože dávky cytotoxického léčiva potřebné pro dosažení úplného terapeutického účinku jsou příliš vysoké. [1]

Na rozhraní makromolekulární chemie, farmakologie, biologie a medicíny se začal rozvíjet nový obor, který se zabývá vývojem systémů a lékových forem, umožňujících řízení uvolňování a cílený transport léčiv (v anglosaské literatuře „controlled drug release“ nebo „targeted drug delivery systems“). Většina těchto systémů je založena na využití makromolekulárních látek, buď přírodních, anebo, a to častěji, na míru připravených syntetických polymerů. [2]

Již v roce 1906 formuloval všestranně talentovaný německý lékař a nositel Nobelovy ceny za fyziologii Paul Ehrlich svou koncepci ideálního léčiva. Nazývá ho „magickou strelou“, která je specificky směřována pouze do místa požadovaného účinku (např. do nádorů) a zanechává zdravé části organismu zcela bez poškození. Mnoho let po Ehrlichovi, v roce 1975, přišel další německý badatel, chemik Helmut Ringsdorf, s myšlenkou použít pro cílený transport léčiv syntetické polymery. Navrhl obecný model polymerního systému umožňující cílený transport a řízené uvolňování léčiv. Tento model se skládal ze syntetického polymeru, na který byly kovalentně vázány molekuly účinné látky prostřednictvím spojky štěpitelné v cílové tkáni. Dále byly k polymernímu nosiči připojeny tzv. solubili-

zační skupiny (zajišťující dobrou rozpustnost systému ve vodě) a směřující jednotky zodpovědné za účinné cílení do místa požadovaného terapeutického působení. [3]

Na základě této koncepce byly v Ústavu makromolekulární chemie AV ČR (ÚMCH) v laboratoři biolékařských polymerů od konce 70. let připravovány a průběžně zdokonalovány polymerní nosiče léčiv. Páteř polymerního systému byla tvořena velmi dobře rozpustnými kopolymery *N*-(2-hydroxypropyl) methakrylamidu (HPMA), takže odpadla nutnost použití výše zmíněných solubilizačních jednotek. Kromě toho, že z HPMA monomeru připravené polymery splňují nutné požadavky na dokonalou snášitelnost organismem je monomer snadno připravitelný v krystalické podobě, což zásadním způsobem usnadňuje jeho čištění před polymerizací. Další významnou skupinou polymerů jsou vodorozpustné biodegradovatelné deriváty poly(ethylenglykolu). Oba typy polymerů jsou využívány jako nosiče kancerostatik (např. doxorubicinu), pro modifikaci terapeuticky významných proteinů (např.: enzymy ribonukleázy či protilátek) a v posledních letech také pro přípravu nových systémů pro přenos genů, tzv. vektorů pro genovou terapii.[4]

Pojem léčiva velmi podrobně definuje zákon. Zákon o léčivech č.79/1997 Sb., ve znění zákona č. 378/2007 Sb. a pozdějších předpisů. [5] Stručně lze konstatovat, že za léčiva se považují léčivé látky nebo jejich směsi anebo léčivé přípravky určené k podání lidem nebo zvířatům za účelem prevence chorob, k léčení chorob a mírnění jejich příznaků, k diagnostice a k ovlivňování fyziologických funkcí. Léčivými látkami (substancemi) se rozumějí látky přírodního nebo syntetického původu s farmakologickým či imunologickým účinkem nebo látky ovlivňující metabolismus. Relativní molekulová hmotnost léčiv se pohybuje v rozmezí několika řádů, od jednotek až do desítek tisíc. Léčivými přípravky se rozumějí produkty získané technologickým zpracováním léčivých substancí a látek pomocných do určité lékové formy. [6]

Z hlediska původu lze léčivo klasifikovat buď jako **originální léčivo**, nebo jako **generikum**. Originální léčiva jsou výsledkem dlouholetého výzkumu a vývoje v tzv. inovativních farmaceutických společnostech (pro jejich označení se používají rovněž synonyma originátoři či etické firmy). Po vypršení patentové nebo jiné ochrany originálu je toto léčivo „volné“ a mohou jej vyrábět i ostatní firmy. Tyto kopie originálního léčiva se nazývají generická léčiva nebo jen generika. Rozvoj farmaceutického průmyslu v průběhu 20. století dal vzniknout specializovanému farmaceutickému výzkumu a oboru **medicinální chemie**, je-

hož cílem je vyhledávání nových biologicky aktivních látek. Medicinální chemie je interdisciplinární obor integrující organickou chemii, biochemii a farmakologii. [7]

Testování a hodnocení nových léčiv

Nové sloučeniny představující potenciální léčiva jsou podrobeny přísnému a podrobnému testování. Způsob a podmínky tohoto procesu upravují zákony a dozor nad ním vykonávají příslušné státní instituce. V České republice dohlíží na vývoj a kontrolu nových léčiv Státní ústav pro kontrolu léčiv (**SÚKL**). Ve Spojených státech amerických vykonává tento dohled Food and Drug Administration (**FDA**), jehož normy a standardy často přebírají odpovídající instituce i v celé řadě jiných zemí. V Evropské unii je autoritou dohlížející na vývoj, výrobu a distribuci léčiv European Medicines Agency (**EMA**). Uvedení jakéhokoliv léčivého přípravku na trh není možné bez jeho registrace příslušnými orgány státu. Po úspěšné registraci léčivého přípravku musí jeho výroba probíhat striktně podle zásad správné výrobní praxe (SVP), které určuje rovněž zákon. [7]

1 CÍLENÍ POLYMERNÍCH NOSIČŮ

1.1 Cílení (targeting)

Léčiva jsou dopravována na místo svého působení v organismu buď krví po celkovém podání prostřednictvím systémového cévního řečiště, nebo se podávají topicky přímo na místo působení v povrchových strukturách organismu.

V posledních letech je věnována intenzivní pozornost zavádění moderních lékových forem umožňujících dosahování optimálních terapeutických koncentrací léčiva v cílových strukturách (biofázi), aniž by docházelo k nežádoucí distribuci látky do těch oblastí organismu, ve kterých je přítomnost léčiva zbytečná nebo přímo škodlivá. [8]

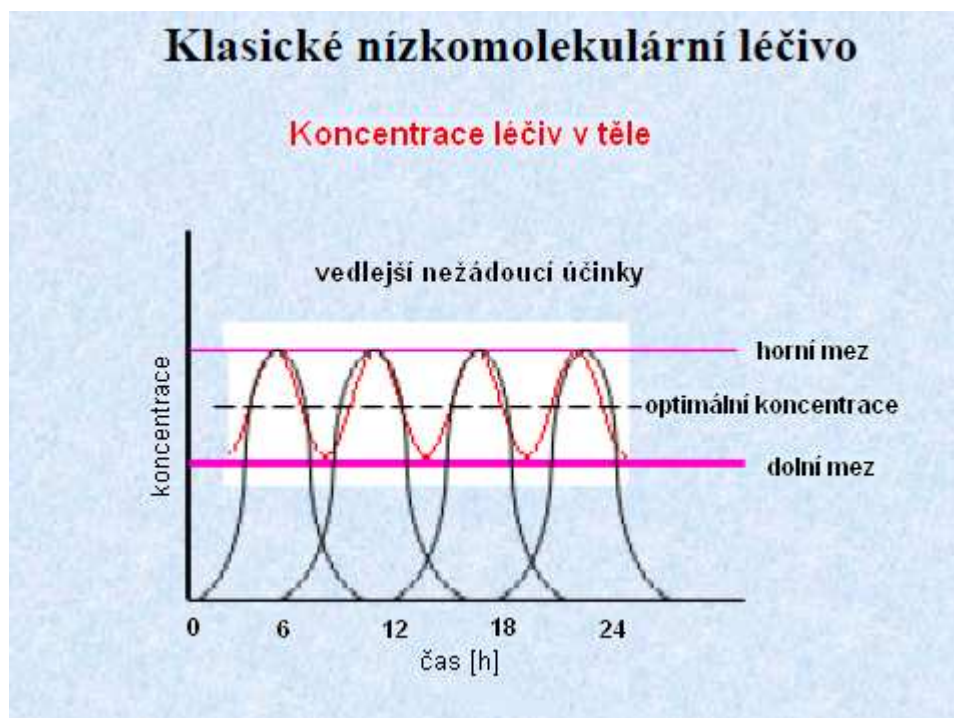
Jednou z cest vedoucích k žádoucí distribuci léčiva do tkáně či orgánu postiženého patologickým procesem je tzv. **targeting**, tj. cílené směřování léčiva do místa terapeutického působení. Směřování léčiv do příslušných cílových struktur umožňuje efektivnější léčbu za současného snížení rizika nežádoucích až toxických reakcí, které se při systémovém podání vyskytují v menší či větší míře v závislosti na vlastní toxicitě léčiva. Cílená distribuce je obzvláště důležitá u léčiv s nízkými terapeutickými indexy, jako jsou cytostatika, imunosupresiva, více toxická antimikrobiální a antifungální léčiva apod. Vhodně volené složení léčivého přípravku umožňuje i prodloužené setrvávání léčiva v cirkulaci, a tím i delší působení v organismu.

Mezi perspektivní lékové formy využitelné při řízeném uvolňování a cílené distribuci léčiv patří mj. **komplexy léčiv s polymery (mikročástice, dendrimery) a lipozomální lékové formy**.

Vytváření **komplexů s polymery** je založeno na skutečnosti, že léčiva mají schopnost vytvářet stabilní struktury vazbou na jednoduché řetězce polymerů a tyto komplexy pak mohou přetrvávat v cirkulaci po poměrně dlouhou dobu. Nevýhodou je však malé množství léčiva, které jsou polymerové řetězce schopny pojmout, velikost aplikované dávky léčiva na jednotku objemu je pak omezená. Navíc tato forma neposkytuje dostatečnou možnost směřování léčiva do oblasti patologického procesu. [8]

1.2 Směřovaná a nasměřovaná polymerní léčiva

Hlavní rozdíl mezi nízkomolekulární a vysokomolekulární (polymerní) formou léčiva je v jejich distribuci, aktivaci a mechanismu pronikání do buňky, (obr.1).



Obr. 1. Koncentrace léčiv v těle [9]

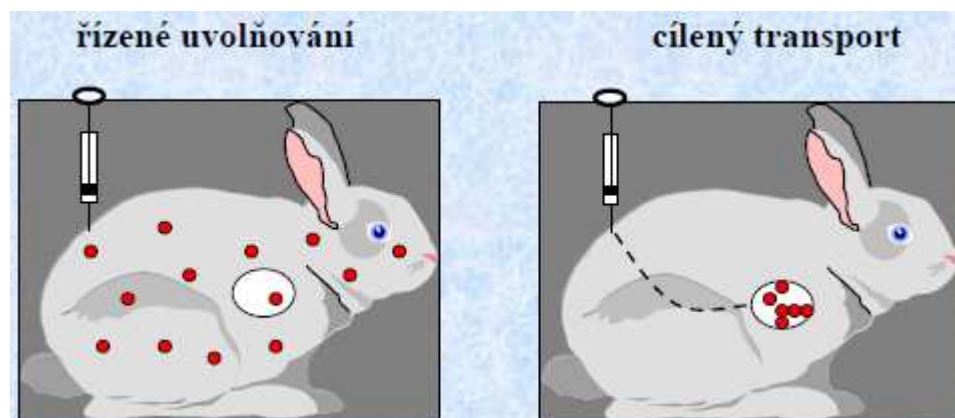
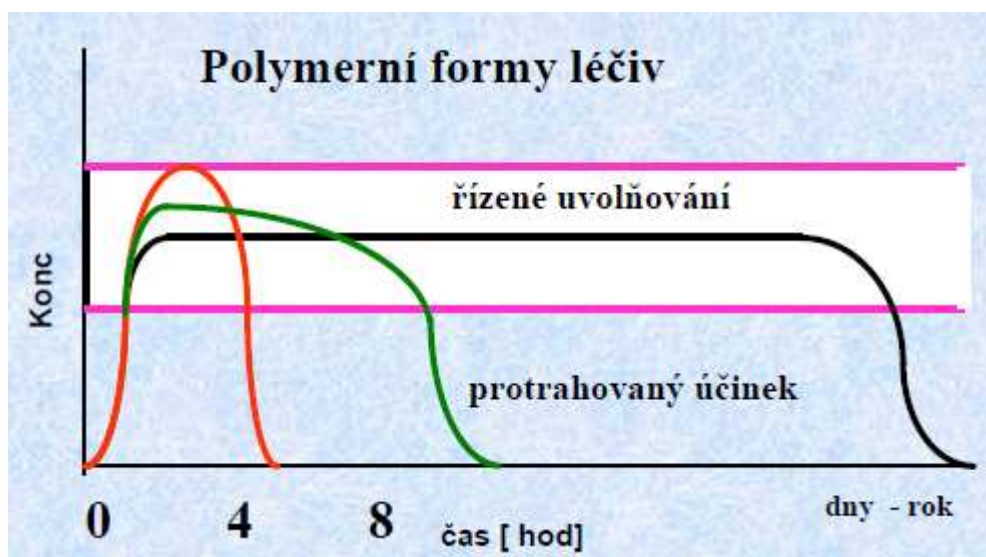
Aktivní směřování

Je takové směřování, kterému Paul Ehrlich ve svých představách říkal „kouzelná střela“. Součástí polymerního konjugátu léčiva je „poštovní doručovatel“, jímž je směřující molekula. Ta hledá cílovou buňku s odpovídajícím receptorem, na nějž se potom naváže. Je to jistě nejlepší, nejúčinnější, ale zároveň technicky nejnáročnější způsob směřování léčiv. Potýká se s tím, že jen málo nemocných buněk vystavuje specifické receptory, a téměř nikdy je nevystavují všechny nemocné buňky.

Jako směřující jednotky byly s různými úspěchy použity např.: protilátky nebo jejich fragmenty, lektiny, růstové faktory, cytokiny, oligopeptidy, hormony, cukry, deriváty kyseliny listové. [3]

Pasivní směřování

Objevil ho japonský lékař H. Maeda se spolupracovníky. Všiml si obecně platného jevu, který způsobuje, že se makromolekulární látky v pevných (solidních) nádorech hromadí. Na rozdíl od normálních cév propouštějí cévy zásobující nádor z krevního řečiště i velké molekuly. Ty se v pevných nádorech – s omezeným lymfatickým odvodem – hromadí. Pasivnímu směřování se říká též **EPR efekt** (z anglického „Enhanced Permeability and Retention“, zvýšená propustnost a zadrž). Tento jev je mnohými autory považován za nejdůležitější příčinu lepších farmakologických vlastností polymerních terapeutik ve srovnání s jejich nízkomolekulárními analogy, (obr.2). Tím se zároveň vysvětluje, proč i nesměrovaná makromolekulární polymerní léčiva mívají výrazně lepší farmakologický účinek než klasická nízkomolekulární cytostatika. [4]



Obr. 2. Koncentrace polymerní formy léčiv v těle [9]

1.3 Způsoby cílení polymerních nosičů pro cílený transport

1. Cílení účinku lokální aplikací

Jde o nejjednodušší způsob cílení účinku léčiva, kdy je účinná látka navázaná na polymerní nosič aplikována přímo na místo určení. Polymerní nosič zajistí setrvání léčiva na místě aplikace a jeho řízené uvolňování. Z hlediska léčby nádorových onemocnění jsou z tohoto pohledu zejména studovány gely a implantáty určené k chirurgické implantaci po vyjmutí většiny té nádorové tkáně, která je operabilní, dále pak intratumorální injekce a případně intraperitoneálně aplikované systémy proti nádorům diseminovaným v dutině břišní. Tento postup lze však použít jen u lokalizovaných nádorů. [1]

2. Cílení účinku léčiva fyzikální aktivací zvnějšku organismu

Jeden způsob je založen na uvolnění fyzikálně (hydrofóbními interakcemi) vázaného léčiva z polymerní micely ultrazvukem. Nevýhodou je to, že ultrazvuk zrychluje uvolňování léčiva z micely jen málo a že je nutné použít výkonný ultrazvukový svazek, který už sám může mechanicky poškodit okolní tkáň.

Další způsob je založen na termosenzitivním chování speciálního polymerního nosiče, aktivovaného lokálním zvýšením teploty v nádorové tkáni vnějším zahřátím. Je-li v krevním oběhu přítomen nosič léčiva, který je při teplotě lidského těla v krevní plazmě rozpustný, ale za zvýšené teploty se sráží, lze jej v takto přehřáté tkáni zkoncentrovat. Ze systémů, které jsou ve vodném prostředí rozpustné při laboratorní teplotě jsou studovány především elastinu podobné peptidové systémy, polyethylenoxid-*block*-polypropylenoxid-*block*-polyethylenoxid a kopolymery *N*-isopropylakrylamidu, *N*-isopropylmethakrylamidu a *N,N*-diethylakrylamidu. [20]

Společnou nevýhodou termosenzitivních systémů je fakt, že praktickou limitou lokální hypertermie je teplota cca 42 – 43 °C, což je jen o 5 – 6 °C více, než je normální teplota lidského těla. [1]

3. Cílení založené na morfologické, případně obecně fyziologické specifitě nádorové tkáně

Nově vzniklá nádorová tkáň má řadu morfologických specifíků, na kterých lze založit cílení nosičů léčiv. Především jde o mnohem větší prostupnost cévního systému nádorové tkáně pro velké molekuly (fenestrace), což spolu s nedostatečným nebo často i úplně chybějícím odtokem lymfy způsobuje hromadění velkých molekul v nádorové tkáni. Proto se makromolekuly o velké relativní molekulové hmotnosti hromadí v nádorové tkáni, často s více než dvacetinásobnou selektivitou oproti normální tkáni. Nádorová tkáň je díky intenzivnímu metabolismu a relativnímu nedostatku kyslíku poměrně kyselá (pH 5-6) ve srovnání s krevní plazmou (pH 7,4). Lze tedy využít systémů, které uvolní léčivo při snížení pH z neutrální do mírně kyselé oblasti. Toho lze dosáhnout např. štěpením acidolabilní hydrazonové spojky mezi léčivem a polymerem, užitím liposomálních lékových forem, kde se liposom rozpadne v kyselém prostředí. [1]

4. Cílení buněčně specifickým ligandem

Jestliže je k nosiči léčiva připojen příslušný ligand komplementární k takovému receptoru nebo protilátka proti takovému antigenu, pak může dojít ke specifické interakci takového nosiče léčiva s nádorovými buňkami a v důsledku toho k jeho akumulaci v nádorové tkáni. Je-li navíc receptor – po vazbě ligandu – schopen endocytózy, může takový ligand zprostředkovat i endocytózu celého systému. Cílení ligandem může být velmi specifické, ligand však musí být kovalentně navázán na nosič přes spojku („spacer“), která nebrání vazbě na receptor. Hlavní nevýhody a omezení cílení ligandem vyplývají z různých fází vývoje nádorové buňky, ve kterých buňka nemusí exprimovat příslušný receptor či antigen. Ke studiu cílení léčiv do jater je využívána laktosa, galaktosa nebo galaktosamin, resp. trinitrofenylová skupina. Retikuloendotelový systém (RES, játra, slezina, lymfatické uzliny) rovněž zachytává látky s obecně málo biokompatibilní strukturou. Toho se dá využít i pro radiodiagnostiku RES. [1]

5. Selektivní enzymatická aktivace léčiva v nádorové tkáni

Selektivní účinek léčiva vázaného na polymerní konjugát lze cílit i tím, že k uvolnění aktivní látky enzymaticky štěpitelnou spojkou dojde selektivně především v nádorové tkáni díky zvýšené aktivitě příslušného enzymu v této tkáni. Nejčastěji je studováno cílení založené na oligopeptidických spojkách štěpených nádorově specifickými metaloproteasami. Z enzymaticky štěpitelných spojek jsou dále studovány oligopeptidy hydrolyzovatelné endosomálními enzymy (např. sekvence Gly-Phe-Leu-Gly), tyto enzymy však nejsou nádorově specifické, a proto lze tuto aktivaci použít pouze v kombinaci s jiným cílením celého systému. [1]

6. Cílení specifickými přenašeči živin a vitamínů ve zvýšené míře vychytávanými nádorem

Nádor je tkáň, která se rychle dělí a rychle roste, a proto spotřebovává mnoho organických i minerálních živin a vitamínů, více než nedělící se tkáň. Je tedy přirozené, že ve zvýšené míře také akumuluje tyto živiny, případně jejich přenašeče, což lze využít pro cílení nosičů léčiv. Železo je v organismu transportováno v podobě bílkoviny, transferrinu. Bylo zjištěno, že transferrin je účinným nástrojem cílení různých nosičů léčiv do nádorové tkáně. Jeho hlavní nevýhodou však je nutnost jeho izolace z lidské plazmy. Jedním z vitamínů je kyselina listová. Bylo zjištěno, že receptory zprostředkovávající příjem solí kyseliny listové (folátů) jsou silně hyperexprimovány v mnoha typech nádorů. Folát je proto dodnes velmi studovaným cílícím ligandem. [1]

7. Pretargeting

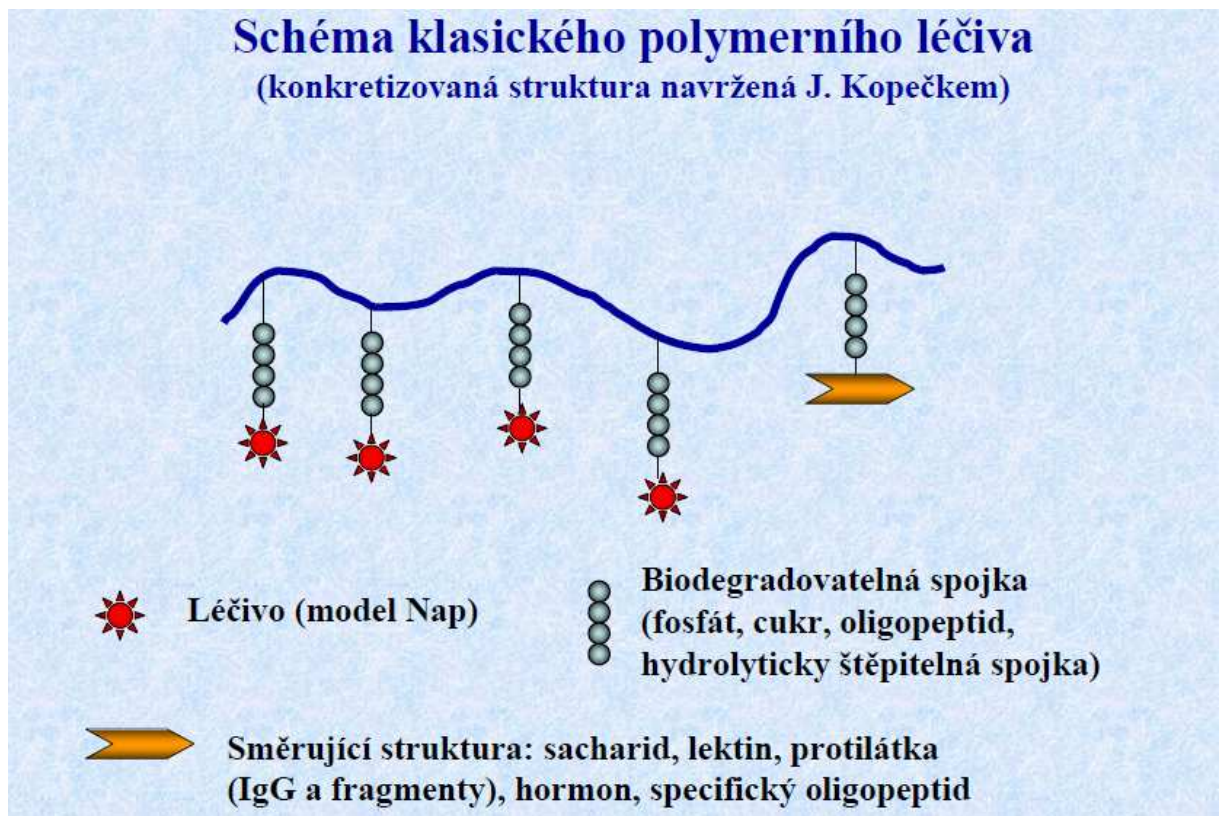
„Pretargeting“ je založen na rozdělení cílení do dvou kroků. Nejprve se do cílové tkáně vnese selektivní, ale pomalu cílící skupinou sám o sobě neškodný receptor, na který existuje cílení s podstatně rychlejší kinetikou. Po určité době nutné k akumulaci v cílové tkáni se pak podá vlastní účinné léčivo cílené ligandem vhodným pro tento sekundárně vnesený receptor. Nevýhodou pretargetingu je značná složitost těchto systémů, ze které plyne jejich vysoká cena, obtížná reprodukovatelnost přípravy a těžko předvídatelný, nespolehlivý účinek.[1]

Výhody polymerních terapeutik

V případě terapeuticky významných proteinů jsou to zejména prodloužená doba cirkulace v krevním řečišti, zvýšení odolnosti vůči proteolýze a výrazně snížená imunogenicita. Další nejvýznamnější skupinu léčiv, u nichž kovalentní (ale i nekovalentní) vazba na polymerní nosiče může přinést dramatické zlepšení jejich farmakologických vlastností, představují kancerostatika. Bylo mnohokrát potvrzeno, že polymerní konjugáty protinádorových léčiv mají daleko nižší nescifickou toxicitu, tj. mnohem méně poškozují zdravé části organismu, zejména imunitní systém, srdce, játra a ledviny. [4]

1.4 Hlavní požadavky kladené na polymerní nosiče léčiv

- stabilita v průběhu transportu (chemická vazba léčiva na nosič)
- řízené uvolnění léčiva z nosiče (chemická hydrolýza, enzymolýza)
- cílený transport k nádoru, nádorovým buňkám (pasivní směřování pomocí EPR efektu, aktivní směřování směřující strukturou)
- eliminace nosiče z organismu (degradovatelný nosič, micelární nosič), (obr.3) [9]



Obr. 3. Schéma klasického polymerního léčiva [9]

POŽADAVKY NA „IDEÁLNÍ LÉČIVO“

- biologicky aktivní látka (BAL, léčivo) je v lékové formě neaktivní, bez jakéhokoliv vlivu na organismus (buňky imunitního systému, neukládá se v játrech, není vyloučeno ledvinami)
- v této formě je specificky dopraveno do místa požadovaného účinku (orgán, tkáň, buňky)
- aktivuje se pouze v místě požadovaného účinku, působí v požadované koncentraci
- působí po dobu optimální pro dosažení maximálních léčebných účinků

- léčivo, metabolity a všechny komponenty nosičového systému jsou po dosažení efektu eliminovány z organismu [9]

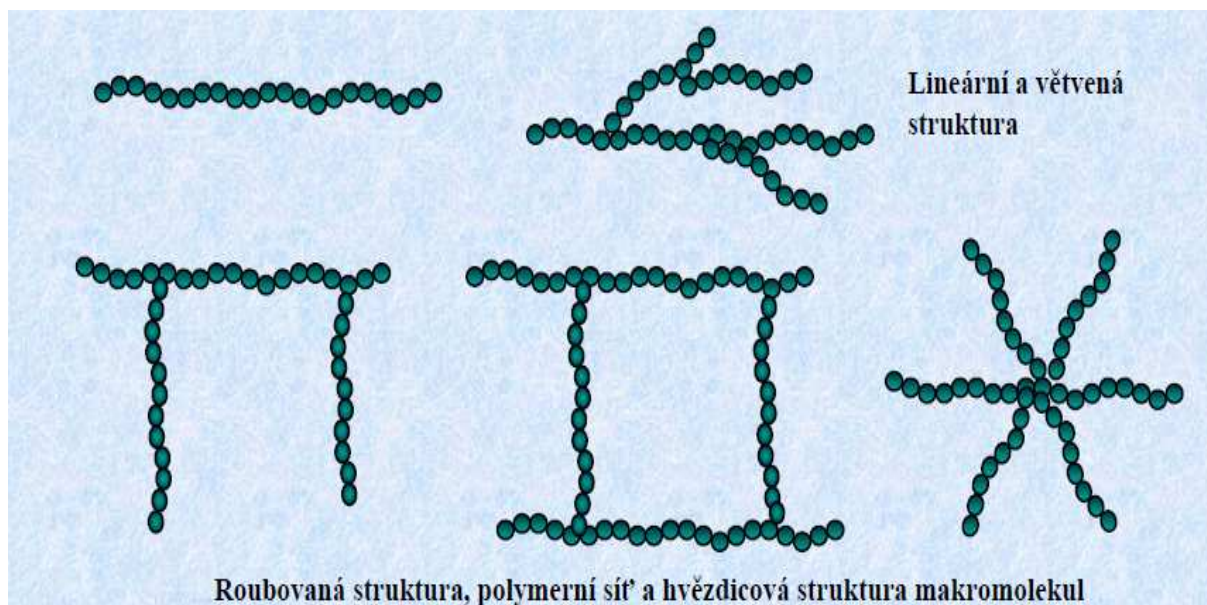
2 ČLENĚNÍ A VYUŽITÍ POLYMERNÍCH TERAPEUTIK

Polymery pro lékařské aplikace lze z hlediska jejich použití rozdělit do mnoha skupin. Jak přírodní, tak syntetické polymery se běžně používají např.: jako materiály pro různé tělní náhrady, kontaktní čočky, podložky pro kultivaci a následnou transplantaci buněk, materiály pro šití a krytí ran, součásti lékařské přístrojové techniky a v neposlední řadě i jako pomocné látky (excipienty) v tradičních lékových formách. V nedávné době se objevily poměrně sofistikované polymerní implantáty pro řízené uvolňování léčiv, např. hormonů či kancerostatik, z polymerní matrice, v níž je účinná látka zachycena nekovalentně.

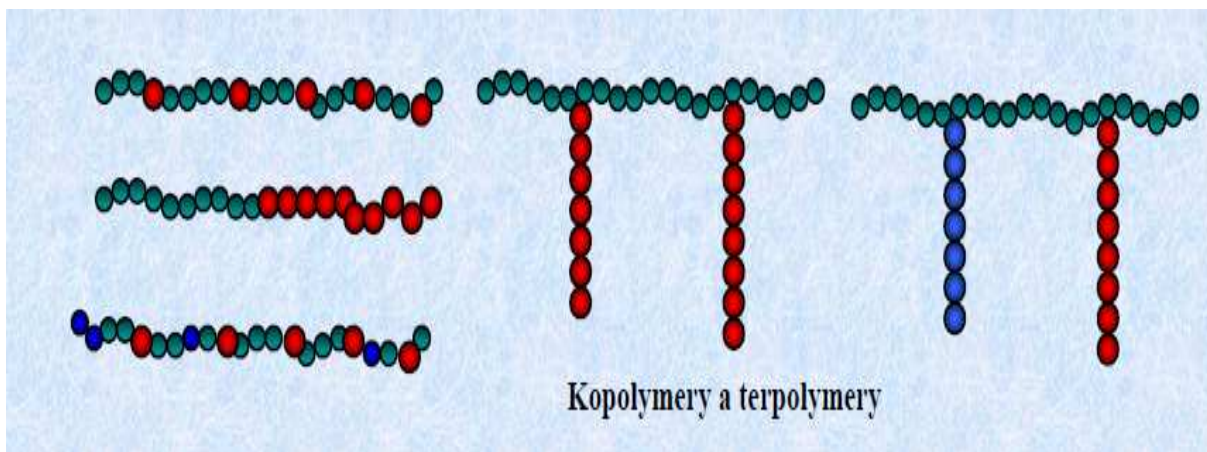
Další skupinou vývojově nejmladší, jsou polymerní terapeutika. Ta někteří autoři rozdělují podle složení na polymerní konjugáty léčiv, polymerní konjugáty proteinů, polymerní micely s kovalentně vázaným léčivem a polymerní komplexy DNA. [9]

2.1 SYNTETICKÉ POLYMERY

Fyzikální a chemická struktura syntetických polymerů



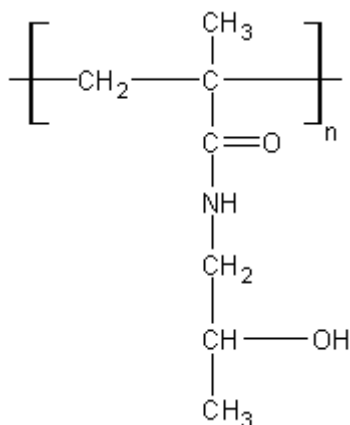
Obr. 4. Fyzikální a chemická struktura syntetických polymerů [9]



Obr. 5. Fyzikální a chemická struktura syntetických polymerů [9]

2.1.1 Kopolymery na bázi *N*-(2-hydroxypropyl) methakrylamidu

Dneska již takřka klasickým polymerním léčivem je statistický kopolymer *N*-(2-hydroxypropyl) methakrylamid (HPMA) (1) s *N*-methakrylovaným tetrapeptidem Gly-Phe-Leu-Gly (Ma-GFLG) nesoucím tetracyklinové antibiotikum doxorubicin (Dox). [4]

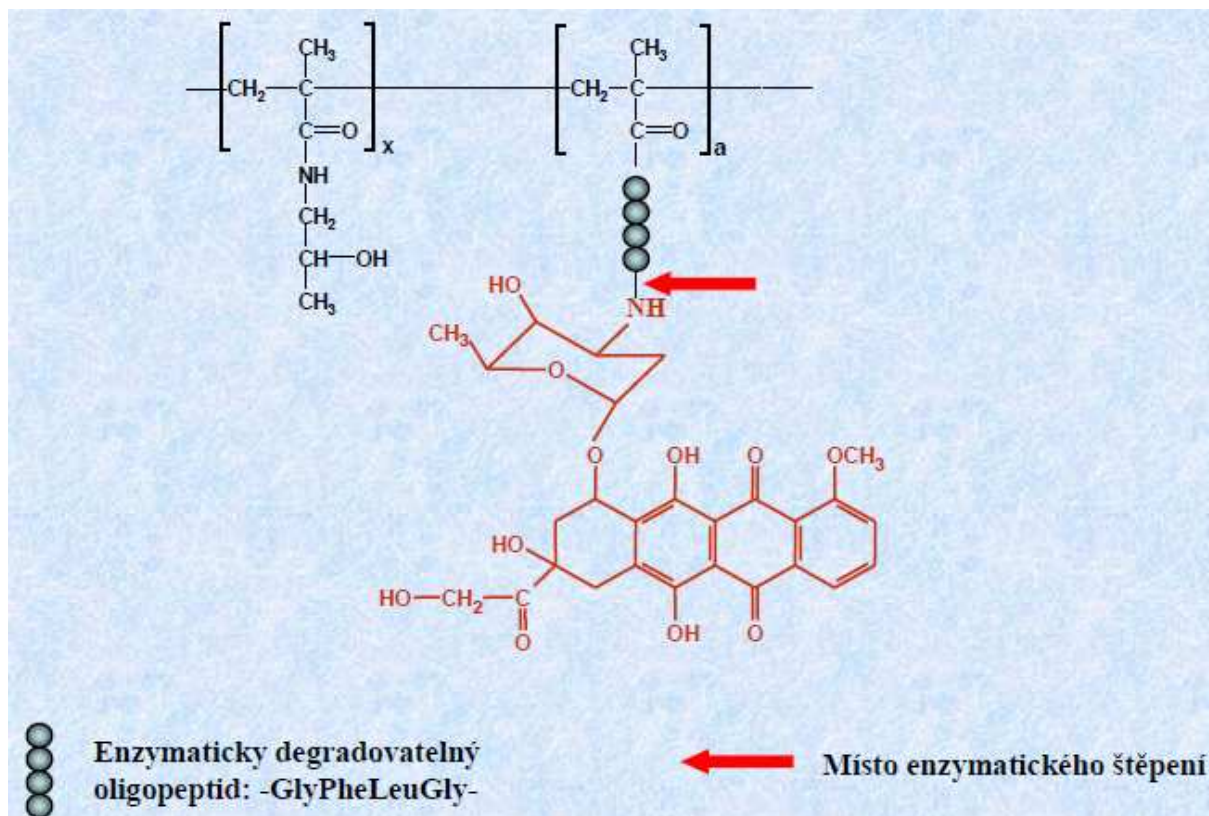


(1)

Toto polymerní protinádorové léčivo (označované jako polymerní konjugát PK 1) bylo původně připraveno radikálovou srážecí kopolymerací HPMA se 4-nitrofenylovým esterem Ma – GFLG a následnou polymeranalogickou reakcí 4-nitrofenylových skupin s primární aminoskupinou Dox. [4]

Tetrapeptidová spojka mezi Dox a polymerním nosičem je během transportu v krevním řečišti stálá, avšak v přítomnosti intracelulárních enzymů, lysosomálních proteas, může v buňce dojít k odštěpení volného Dox. Detailní mechanismus účinku a intracelulární osud PK 1 je stále předmětem zkoumání.

Vylepšenou verzí tohoto polymerního konjugátu Dox je směrované polymerní léčivo PK 2 (2), obsahující navíc jako cílicí jednotku 2-aminogalaktosu, která je zodpovědná za akumulaci polymerního konjugátu v játrech díky interakci cukerné jednotky s asialoglykoproteinovými receptory hepatocytů. Oba popsané polymerní konjugáty byly prvními polymerními kancerostatiky na světě, které prošly první (PK 2) a druhou (PK 1) fází klinických zkoušek ve Velké Británii. [4,10]

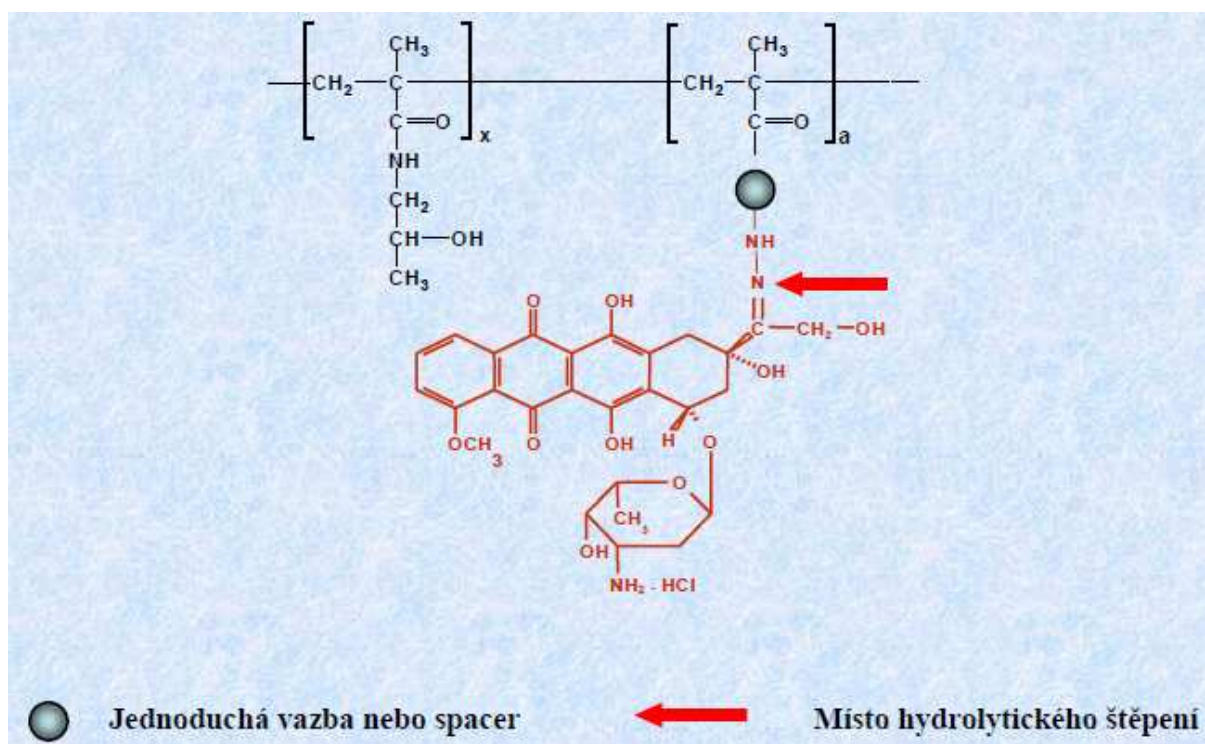


Obr. 6. Schéma klasického konjugátu poly(HPMA) s kancerostatikem doxorubicin (enzymatická aktivace léčiva) [9]

Další výrazného vylepšení protinádorové aktivity kopolymerů na bázi HPMA a Dox vázaného přes GFLG sekvenci bylo dosaženo kovalentním navázáním směřujících protilátek, (obr.6). Bylo totiž zjištěno, že po modifikaci polymerem sice ztrácí protilátka část své vazebné aktivity na antigen, ale zároveň jsou chráněny polymerem vůči proteolytické degradaci, mají sníženou imunogenicitu a svou vysokou molekulovou hmotností (cca 150 000) přispívají k EPR efektu a tím ke zvýšené akumulaci polymerního terapeutika v nádoru. Velký potenciál polymerních konjugátů Dox s protilátkami (Intraglobin, Endobulin) byl ověřen i klinicky u menší skupiny pacientek s generalizovaným nádorem prsu.

Kromě Dox byla u nás i v zahraničí použita pro navázání na kopolymery HPMA i další léčiva, z nichž mnohá postoupila až do různých fází klinických zkoušek. Jsou to např.: melphalan, cyklosporin, paclitaxel, komplexy platiny nebo methotrexat. [4]

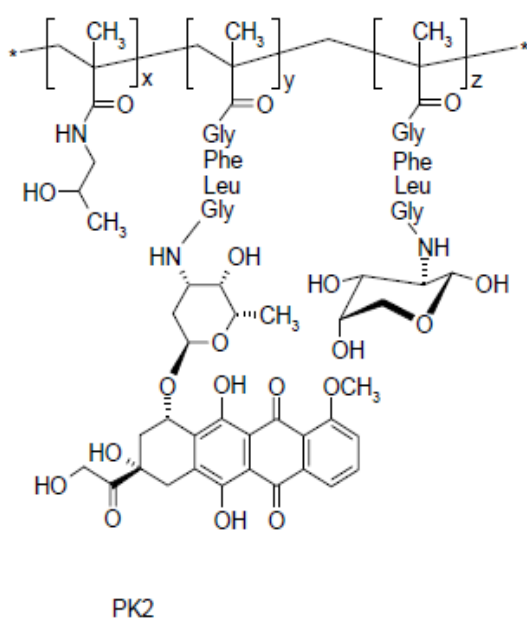
Navázání léčiva na polymerní nosič přes enzymově štěpitelnou spojku, jako je tomu např.: u polymerního konjugátu PK1 není pochopitelně jediný způsob, jak zajistit odštěpení účinné látky z polymeru v nádorových buňkách, případně v jejich bezprostřední blízkosti uvnitř nádorové tkáně. V posledních letech je intenzivně studován kopolymer HPMA s hydrazidem *N*-methakryloyl-6-aminohexanové kyseliny, na který je hydrazonovou vazbou navázán Dox (3). Hydrazonová vazba mezi léčivem a polymerním nosičem je hydrolyticky poměrně stálá při pH 7,4 (odpovídajícím pH v krevním řečišti), ale v mírně kyselém prostředí endosomů uvnitř buněk (cca pH 5), dochází k rychlé hydrolyze hydrazonové vazby a uvolnění Dox, (obr.7).



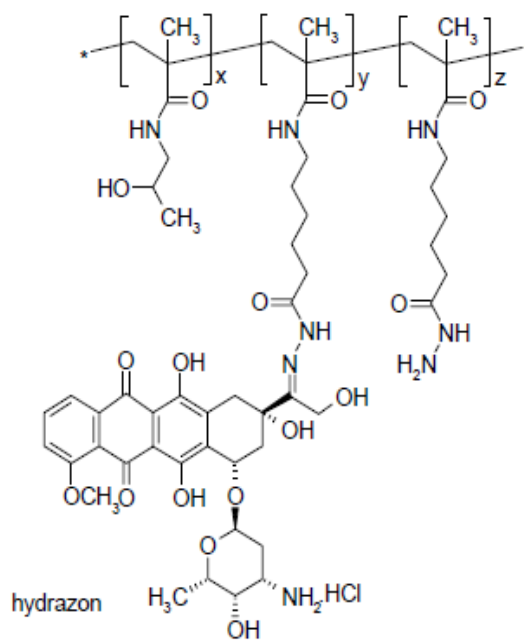
Obr. 7. Schéma hydrazonového konjugátu poly(HPMA) s kancerostatikem doxorubicin (pH závislá hydrolytická aktivace léčiva) [9]

Výsledky biologického testování kopolymerů s Dox v Mikrobiologickém ústavu AV ČR ukazují, že způsob připojení kancerostatika k polymernímu nosiči má zásadní význam pro cytostatickou aktivitu konjugátu *in vitro* i jejich protinádorovou účinnost na myších nádorových modelech *in vivo*. Polymerní hydrazon má o několik řádů vyšší cytotoxicitu *in vitro*

než PK1, je však méně toxický v *in vivo* podmínkách a může být tedy podáván při léčbě nádorů u myši ve vyšších dávkách. Z hlediska možného budoucího klinického použití těchto polymerních léčiv je důležité, že kromě účinku cytotoxického vykazovala i výrazné efekty imunostimulační. Kromě polymerních konjugátů s Dox lze HPMA kopolymery využít (podobně jako PEG) i pro modifikaci terapeuticky důležitých proteinů. Příkladem může být např. polymerní konjugát hovězí semenné RNasy s kopolymery na bázi HPMA, nesoucími reaktivní skupiny na polymerním řetězci. Zatímco nemodifikovaná RNasa vykazovala protinádorovou aktivitu pouze po intratumorální injekci a byla zcela neúčinná po intravenózní aplikaci (i.v.), polymerní konjugát byl účinný i při systémovém podání i.v. Lze se domnívat, že příčinou účinnosti polymerního proteinového konjugátu i při i.v. aplikaci je zřejmě stabilizace enzymu polymerem vůči proteolýze, prodloužená doba cirkulace v krevním řečišti a snížená imunogenicita. [4,10]



(2)



(3)

2.1.2 Vlastnosti chemoterapeutik využívajících vodorozpustný polymerní nosič HPMA

Makromolekulární chemoterapeutika, v nichž jsou léčiva vázána kovalentní vazbou na vodorozpustný polymerní nosič HPMA, jsou chráněna česko-anglickým patentem. Jejich dalšímu výzkumu se věnují laboratoře v řadě zemí včetně spojených států a Velké Británie, intenzivní výzkum probíhá i v České republice. [3]

Biologická snášenlivost

Syntetický nosič se v pacientově organismu nehromadí, protože je snadno vylučován močí. Experimentální studie na zvířecích modelech prokázaly, že ani dlouhodobé denní podávání vysokých dávek neblokuje fagocytózu, buněčnou nebo protilátkovou imunitní odpověď, neovlivňuje krevní obraz, nepoškozuje orgány, jako jsou játra, slezina, ledviny a plíce. [3]

Biologická aktivita

Léčiva využívající nosič HPMA jsou účinná jak *in vitro*, tak *in vivo*. V experimentu dokáže konjugát směřovaný monoklonálními protilátkami nejen zpomalit růst nádoru, ale dokonce zlikviduje agresivně rostoucí nádor tak důkladně, že se onemocnění nevrátí ani po řadě měsíců. Vyšší aktivitu než klasická cytostatika mají i nesměrované polymerní konjugáty. Je to způsobeno tím, že se jako makromolekuly mohou v nádorech pasivně akumulovat. Mimořádně důležité je i zjištění, že tento typ nových chemoterapeutik může částečně překonat i obávanou mnohočetnou lékovou rezistenci. [3]

Pozitivní vliv na imunitu

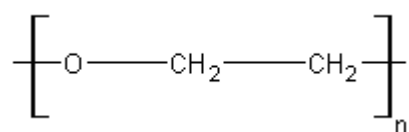
Od každé další generace protinádorových léčiv se očekává zlepšená schopnost zabránit nádorovému růstu. Tomuto požadavku konjugáty HPMA nepochybně vyhovují. Příjemným překvapením však je, že navíc pozitivně ovlivňují imunitu. Působení těchto cytostatik na imunitu se intenzivně zkoumá. Na pozitivním výsledku se podílí několik mechanismů. [3]

Možnost vyvolat odolnost vůči původnímu nádoru

Na třech různých experimentálních nádorových modelech bylo již prokázáno, že myši vyléčené z experimentálního nádoru cytostatikem doxorubicinem navázaným na nosič HPMa a směrovaným monoklonální protilátkou získávají vůči nádoru odolnost. Jsou-li totiž vyléčené myši po mnoha měsících znovu vystaveny dávce nádorových buněk, která všechny kontroly zabije, významné procento vůbec neonemocní. Vysvětlit to lze pouze tím, že léčba zároveň navodila protinádorovou odolnost. [3]

2.1.3 Deriváty poly(ethylenglykolu)

Pravděpodobně nejrozšířenějším syntetickým polymerem používaným pro přípravu polymerních terapeutik je poly(ethylenglykol) (PEG) (4) a jeho deriváty. Specifické biologické vlastnosti PEG jsou hlavním důvodem pro jeho využití v medicíně. [4]

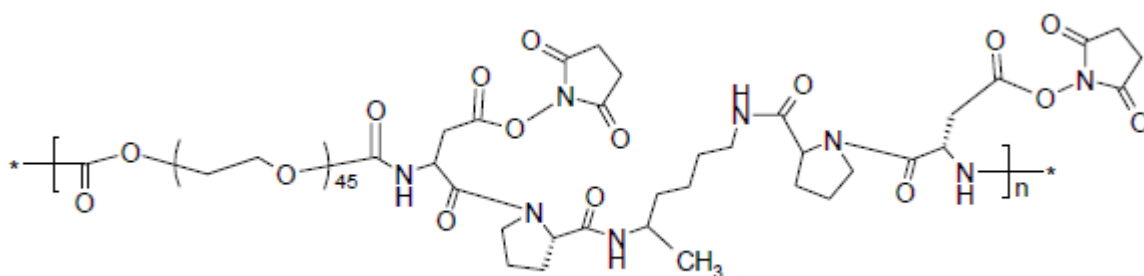


(4)

Mezi tyto vlastnosti patří biokompatibilita, nízká imunogenicitá a, není-li molekulová váha polymeru nad prahem renální filtrace, i snadné vylučování z organismu. Nejčastěji je PEG využíván pro modifikace různých terapeuticky významných proteinů. Výhodami této modifikace, tzv. PEGylace proteinů (např. enzymů, hormonů, cytokinů), jsou zvýšená odolnost jejich produktů vůči proteolýze, snížení imunogenicity (neboli imunitní reakce organismu), prodloužení doby cirkulace a tím snížení četnosti dávek oproti nemodifikované bílkovině. Například konjugáty PEG s adenosindeaminasou, asparaginasou či s interferonem alfa se staly již prvními klinicky schválenými a komerčně dostupnými polymerními terapeutiky. [4]

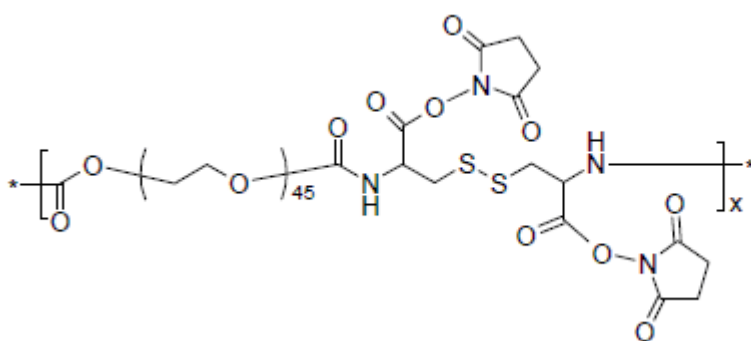
Další „PEGylované“ proteiny jsou v různých stádiích klinických zkoušek a na trh bylo uvedeno i kancerostatikum na bázi PEGylovaného liposomu (DOXIL). Skutečnost, že molekula PEG obsahuje maximálně dvě koncové OH skupiny vhodné pro další deprivatizaci, je sice výhodou při modifikaci proteinů, ale při přípravě polymerních konjugátů např. nízkomolekulárního kancerostatika je vhodnější navázat na polymerní nosič více molekul lé-

čiva. Rovněž je výhodné, když je molekulová hmotnost nosiče dostatečně vysoká, takže se může uplatnit EPR efekt a zvýšená akumulace léčiva v pevných nádorech. Proto byly navrženy a připraveny různé multiblokové polymery skládající se z bloků PEG vzájemně propojených enzymově či hydrolyticky štěpitelnými bifunkčními spojkami, nesoucími alespoň jednu volnou funkční skupinu, umožňující kovalentní navázání biologicky aktivních molekul do postranního řetězce. Při konstrukci biodegradovatelné spojky (štěpitelné *in vivo*) umožňující propojení jednotlivých bloků PEG byly použity např. deriváty kyseliny glutamové, asparagové nebo cysteinu. [4]



(5)

Mechanismus jejich degradace byl v prvním případě enzymová hydrolýza (5), ve druhém případě redukce disulfidových vazeb mezi cysteinovými zbytky kombinovaná s chemickou hydrolýzou (6). [4]



(6)

Zavedení štěpitelné spojky do struktury vysokomolekulárního multiblokového nosiče umožní pasivní směřování do pevných nádorů a zároveň zajistí hladké odstranění nížemolekulárních degradačních produktů močí. Připojení Dox jako účinné látky k těmto multiblokovým PEG polymerům bylo provedeno podobně jako u HPMA konjugátů, buď ami-

dickou vazbou prostřednictvím enzymově odbouratelné peptidové GFLG sekvence nebo acidolabilní hydrazonovou vazbou. Oba zmíněné typy polymerních konjugátů vykazovaly při testování *in vivo* na myších srovnatelnou nebo vyšší protinádorovou aktivitu než analogické konjugáty na bázi HPMA. [4]

2.1.4 Polymery pro genovou terapii

Velmi významnou skupinou polymerních terapeutik, též studovanou v ÚMCH jsou polymerní vektory pro genovou terapii. Vektorem pro genovou terapii se zde rozumí jakýkoliv transportní systém pro dopravu genetické informace (DNA, RNA) do cílové buňky. Vektory se podle svého původu rozdělují na syntetické a virové. Obě skupiny pak lze dělit do mnoha dalších podskupin. Při přípravě jak syntetických, tak virových vektorů pro *in vivo* aplikace nalézají syntetické hydrofilní polymery např. deriváty HPMA či PEG nezastupitelné uplatnění. Syntetické vektory mohou být přímo založeny na polymerech schopných vhodné interakce s nukleovou kyselinou. Typickým příkladem jsou polyelektrolytové komplexy (PEK) DNA a polykationtu. Ačkoliv jsou syntetické vektory v některých ohledech výhodnější než vektory virové (přijatelnější pro klinické schválení, méně imunogenní), vykazují doposud výrazně nižší účinnost přenosu genů než virové nosiče. [4]

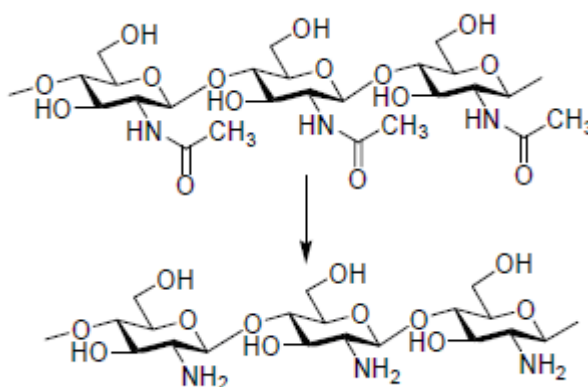
Hlavní výhodou genové terapie ve srovnání např. s chemoterapií je skutečnost, že ke zničení nádorové buňky stačí pouze jediná kopie vhodně zvoleného genu vneseného do genomu cílové buňky. Výzkum genové terapie (nejen pro onkologická onemocnění) představuje směr, kterým se ubírá stále více badatelů z oborů na pomezí medicíny, biologie a chemie. Na základě dosud dosažených výsledků se zdá, že úspěšné zvládnutí genové terapie je reálné a navzdory některým počátečním neúspěchům virových vektorů v klinických zkouškách se tato metoda stane v dohledné době běžnou součástí lékařské praxe. [4,9]

2.2 PŘÍRODNÍ POLYMERY

Přírodní polymery typu polysacharidů

2.2.1 Chitosan

Mezi přírodní polymery typu polysacharidů patří chitosan (poly-D-glukosamin), odvozený od přírodního chitinu, druhého nejrozšířenějšího polysacharidu po celulóse. Získává se alkalickou deacetylací chitinu, několikahodinovým varem s 50% hydroxidem sodným nebo enzymaticky působením N-deacetylasy, (obr.8). [11]

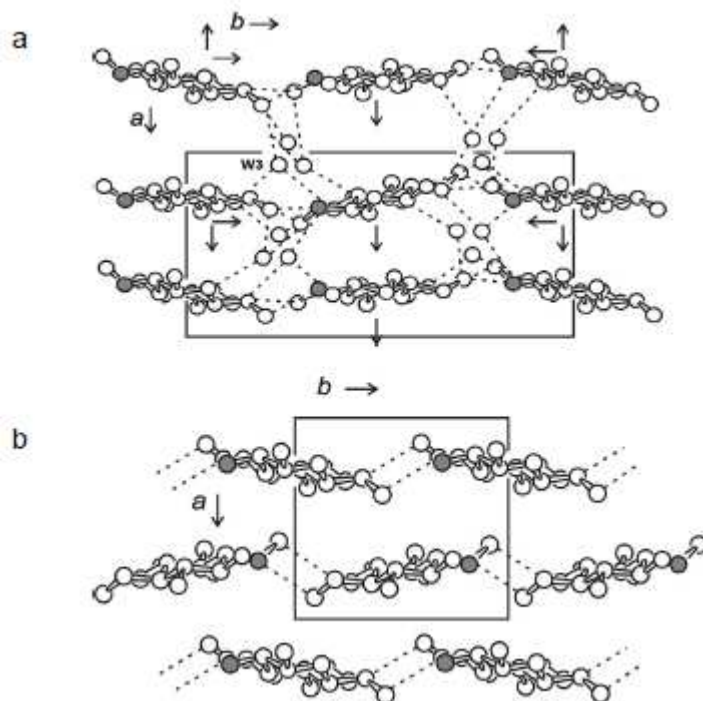


Obr. 8. Deacetylace chitinu

Stupeň deacetylace chitinu se udává v procentech, obvykle v rozmezí 60-100%. Chitosan se v přírodě vyskytuje pouze v malém množství u několika typů hub rodu *Aspergillus* a *Mucor*. Chitosan má vynikající biologické vlastnosti, je netoxický, biokompatibilní a biodegradabilní. Pro své výjimečné vlastnosti se používá v různých oborech zahrnujících především biomedicínu, kosmetiku, agrochemii, fyzikální chemii, konzervaci potravin, čištění vody a impregnaci textilií. Používá se také jako potravní doplněk pro snížení hladiny cholesterolu a redukci hmotnosti. Váže na sebe tuky a cholesterol a odvádí je ze zažívacího traktu dříve, než jsou zpracovány. Jako vláknina zlepšuje činnost tlustého střeva a snižuje pocit hladu, proto se používá k hubnutí. Někdy se mu přičítá přílišný redukční účinek, který však nebyl vědecky prokázán. [12]

Charakteristika chitosanu

Chitosan neboli (1 → 4)-2-amino-2-deoxy-β-D-glukan patří mezi méně časté kationtové polymery. V porovnání s chitinem má větší chemickou a biochemickou reaktivitu. Rentgenostrukturní analýzou byly objeveny 4 krystalické polymorfy chitosanu, tři hydratované, které snadno vytvářejí ve vodě rozpustné soli s organickými a minerálními kyselinami a jedna nehydratovaná forma, která vzniká zahříváním hydratovaného chitosanu na teplotu 200°C. Dehydratací se zkracují vzdálenosti vrcholů struktury „cik-cak“ a oddálení jednotlivých řetězců, (obr.9). Tato změna je ireversibilní. Krystaly bezvodé formy ztrácí funkci biomateriálů a mohou být použity jako inertní pryskyřice. [11]

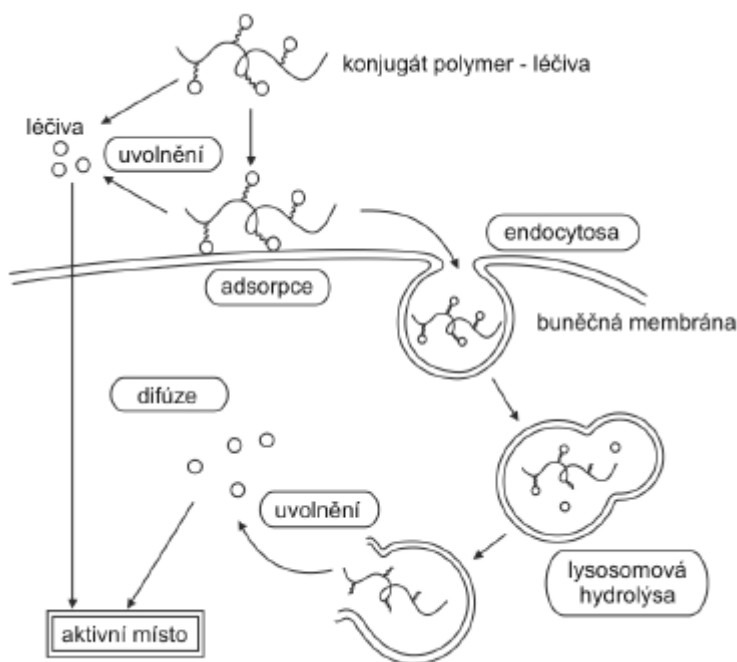


Obr. 9. a) Hydratovaný chitosan, b) nehydratovaný chitosan [11]

Molekula chitosanu má tři reaktivní centra: primární aminoskupinu, primární a sekundární hydroxyskupinu. Aminoskupina snadno podléhá kvartenizaci, čímž lze zvýšit rozpustnost chitosanu ve vodě a tvoří komplexy s ionty kovů. Primární hydroxyskupina bývá nejčastěji substituována spojovacími články „spacery“, na které se váže aktivní složka – léčivo nebo skupina, která je zodpovědná za cílení léčiva nebo zvýšení rozpustnosti ve vodě. Sekundární hydroxyskupina je modifikována především za účelem zvýšení rozpustnosti ve vodě. [13]

Farmaceutické aplikace chitosanu

Pro své výjimečné vlastnosti je chitosan velmi zajímavý materiál a bioaktivní činitel ve farmaceutických a biomedicínkách odvětvích. Lze jej použít jako systém pro transport léčiv, jehož hlavním znakem je řízené uvolňování a cílení léčiva. Vyžaduje se též optimální odpověď receptoru, minimální vedlejší účinky a prodloužený efekt léčiva. Polymer může být léčivem, pokud sám vykazuje farmakologickou aktivitu, i když jeho monomerní jednotky jsou neaktivní. Polymerní proléčivo je makromolekulární látka, která slouží nejčastěji jako nosič léčiva, sama může mít i nemusí biologickou aktivitu. Je obvykle složeno z polymerního nosiče, biodegradabilní vazby mezi nosičem a léčivem a mívá skupinu, která způsobuje cílení, např. specifický peptid pro cílovou buňku. Použití makromolekulárních proléčivých konjugátů s nízkou molekulovou hmotností je jednou z metod transportu léčiv, který je zaměřen na zlepšení pohybu látky změnou rozpustnosti a molekulární velikosti, udržení vhodných koncentrací léčiv pomalu se uvolňujících z nosičů, cílený transport léčiv do cílových buněk, podporu inkorporace léčiv do buněk endocytózou a hybridizaci dvou druhů léčiv nebo léčiva s bioaktivním polymerním nosičem. Polymerní nosiče (jejich velikost, elektrický náboj, hydrofilnost nebo lipofilnost a specifická transmembránová transportní schopnost) mohou změnit farmakologické a imunologické aktivity látek, které roznášejí. Průnik makromolekulárního proléčiva do buňky může probíhat difúzí uvolněného léčiva do buňky nebo endocytózou konjugátu polymer-léčivo (obr.10). [11]



Obr. 10. Cesty léčivé látky k aktivnímu místu [11]

Ideální cestou pro polymery je endocytóza, kdy je celý konjugát vpraven do buňky a v lysosomech se z něho léčivo postupně uvolňuje působením lysosomových enzymů. [11,13]

Antibakteriální aktivita

Samotný chitosan vykazuje antibakteriální účinnost vůči mnoha gram pozitivním i gram negativním bakteriím a houbám při pH 6. Přesný mechanismus antimikrobiální účinnosti sice není znám, ale předpokládá se že, kladně nabitě aminoskupiny glukosaminových jednotek interagují s negativně nabitými komponentami mikrobiálních buněčných membrán., tím mění propustnost a způsobují únik intracelulárního obsahu, což vede k rozpadu buněk. Chitosan rovněž chelatuje s kovy potřebnými pro růst mikroorganismů. Biologická aktivita chitosanu závisí na mnoha faktorech (molekulové hmotnosti, stupni deacetylace chitinu, derivatizaci, typu substituce, velikosti a poloze substituentů na chitosanovém skeletu, rozpustnosti, pH roztoku), které vedou k rozsáhlému studiu jeho modifikací ve snaze o přípravu vhodné aplikační formy, zlepšení účinku a cíleného působení. [11]

Důležitým faktorem je velikost molekuly chitosanu a jeho koncentrace. Tokura a spol. objevili, že chitosan s vyšší molekulovou hmotností (9300) téměř úplně inhibuje aktivitu *E. coli*, zatímco chitosan s nízkou molekulovou hmotností (2200) je inaktivní. K objasnění tohoto pozoruhodného faktu bylo použito chitosanu značeného pomocí fluorescein isothio- kyanátu (FITC). Další důležitou podmínkou je pH. Antimikrobiální účinnost chitosanu vzrůstá s klesajícím pH. Je-li pH 6,5, dochází k ionizaci za vzniku pozitivně nabitě části. Nemodifikovaný chitosan je při pH 7 nerozpustný a antibakteriálně neúčinný, proto je velká pozornost směřována na přípravu jeho rozpustných solí. Rozpustnost se zvyšuje jak kvartenizací, tak hydrofilní substitucí. Kvartenizací dusíku aminoskupiny patří k nejčastějším modifikacím. Volná aminoskupina byla kondenzována s benzaldehydem (A) a salicylaldehydem (B) za vzniku Schiffových bazí, které byly dále redukovány tetrahydridboritanem sodným a v posledním stupni kvartenizovány methyljodidem (Schéma 1). [11]

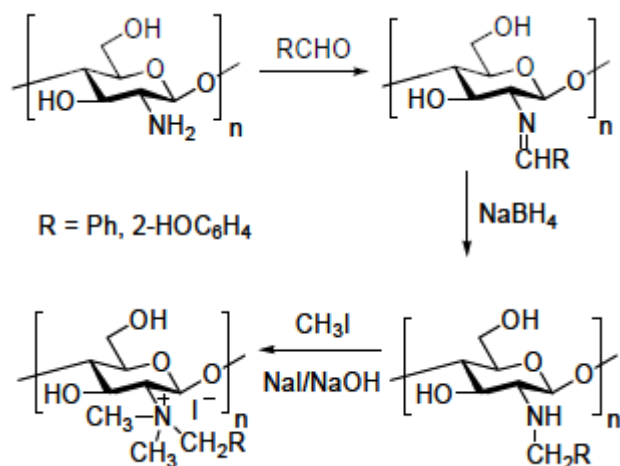
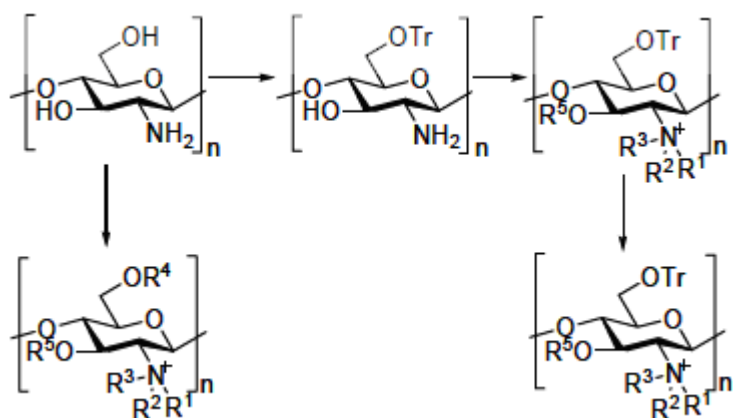


Schéma 1. Příprava Schiffových a kvarterních bází

Methylace chitosanu vedla k syntéze *N,N,N*-trimethylchitosanu (Schéma 2). Postupně byly methylovány vedle aminoskupin také hydroxyskupiny chitosanu a jeho oligomerů a sledována jejich antibakteriální účinnost vůči *Staphylococcus aureus* při pH 5,5 a 7,2. [11]

Schéma 2. *N*-methylace oligochitosanu a chitosanu

Oligomery chitosanu se ukázaly jako neaktivní, zatímco methylované deriváty chitosanu vykazaly jistou účinnost. Kvarternizace je potřebná pro účinnost při pH 7,2. Vedle *N*-methylovaných kvarterních amoniových solí byl připraven i analogický *N*-ethylderivát, který se používá jako perorální nosič. [11]

Antibakteriální vlastnosti chitosanu mohou významně zvýšit stříbrné ionty, až o 98%. samotné stříbro a jeho ionty jsou známy svou antibakteriální účinností. Proto byly připraveny komplexy thiomocovinového chitosanu připraveného reakcí chitosanu s thiokyanátem

amonným v ethanolu (Schéma 3). Minimální inhibiční koncentrace byly 20krát nižší než u samotného chitosanu, komplex měl vyšší antibakteriální než antifungální účinnost. [11]

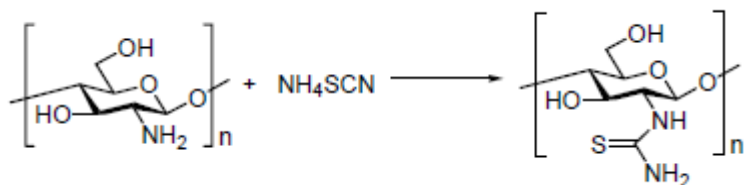
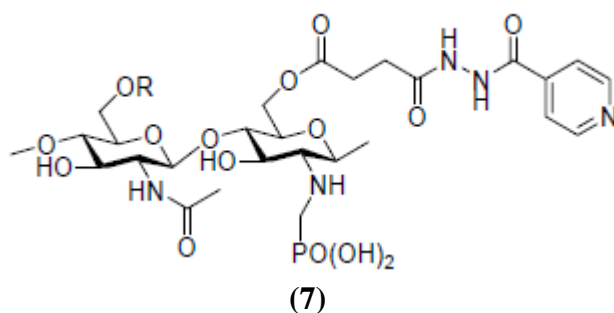


Schéma 3. Thiomočovinyový derivát chitosanu

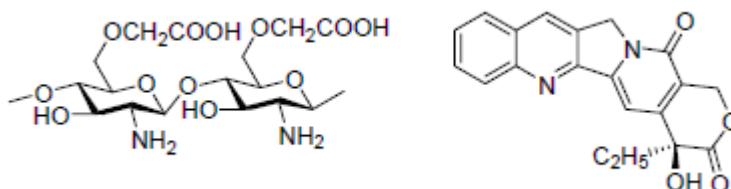
Mnoho výzkumů se zabývá kombinací chitosanu a jiného antibakteriálního činidla. Např. konjugáty s tetracyklinem a karminomycinem si plně zachovaly antibakteriální účinnost. Tablety nebo tobolky metronidazolu se používají k léčbě *Helicobacter pylori*. Pro lepší uvolňování z žaludku byl zabudován do chitosanových tobolek. Chitosan byl použit k navázání polymerního léčiva isoniazidu (INH), důležitého antituberkulotika, pro prodloužení doby působení. Díky své rozpustnosti ve vodě se může podávat intravenózně. Kondenzace s INH vyžadovala dvoustupňovou syntézu. Nejprve byla provedena funkcionizace chitosanu kyselinou fosforitu a částečná formulace volných aminoskupin. Isoniazid byl substituován sukcinanhydridem na sukcinyl isoniazid, který pak reakcí s chitosanem poskytl chitosan-isoniazid-hemisukcinát (7). [11]



Monomerní alginát sodný byl pospojován chloridem vápenatým a poté pokryt chitosanem. Tento materiál se používá k léčbě ran i popálenin. Použití chitosanu při léčbě ran podporuje růst fibroblastů, což urychluje léčebný proces. Z dalších léčiv, která byla navázána na tento komplex, lze jmenovat ciprofloxacin, norfloxacin a gatifloxacin. [11]

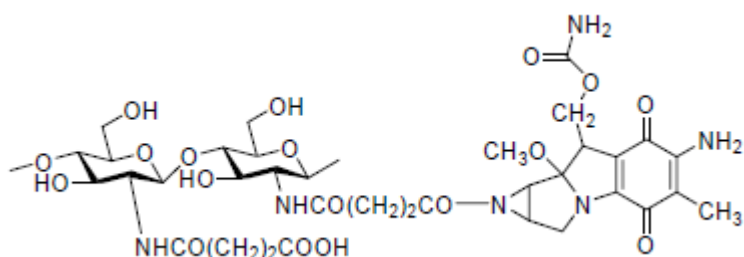
Protinádorová aktivita

Protinádorová účinnost chitosanu závisí na jeho molekulární hmotnosti, rozpustnosti a obsahu acetylových skupin. Vysokomolekulární chitosan je neúčinný, proto je potřeba připravit chitosan o nižší molekulové hmotnosti. Ke štěpení polymerů chitosanu jsou nejčastěji používány přirozené enzymy chitosanasy a chitinasy. Pro hydrolyzu lze využít i několika dalších levnějších hydrolytických enzymů, např. lysozymu, pektinasy a papainu. Chitosan se používá především jako nosič protinádorové látky na místo účinku. Kamptotecin je alkaloid a protirakovinné léčivo. Je velmi účinný při léčbě nádoru žaludku, tlustého střeva a močového měchýře, jeho nevýhodou je špatná rozpustnost a toxicita. Kamptotecinové alkaloidy blokuji topoisomerasu I, enzym důležitý pro replikaci DNA. Agregací s O-(karboxymethyl)chitosanem (OCMCS) byl připraven biokompatibilní a amfifilní systém pro řízené uvolňování látky v cílové tkáni, chitosan-kamptotecin (8). [11,13]



(8)

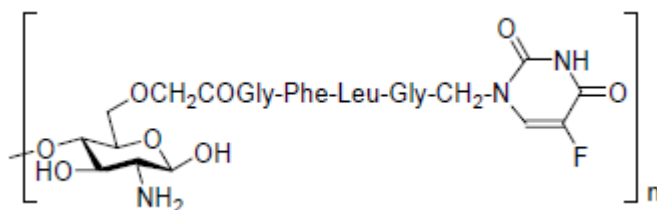
Dalším známým léčivem proti leukemii P388 a melanomu B 16 je mitomycin C. Jako nosič byl použit *N*-sukcinylochitosan, který je netoxický při koncentraci 2 g / kg i.p. a protinádorově neaktivní. Reakcí *N*-sukcinylochitosanu a mitomycinu C za použití karbodiimidu byl připraven konjugát, který není nutné podávat i.p., konjugát *N*-sukcinylochitosanu a mitomycinu C (9).



(9)

5-Fluoruracil (5FU) patří do skupiny antimetabolitů, který je používán už řadu let. Má však nepříjemné vedlejší účinky. Pro jejich snížení za zachování protinádorové aktivity byl navázán na chitosan přes hexamethylenový můstek a močoviny zbytek. Ve vodě rozpustné makromolekuly se do buňky dostávají endocytózou a fagocytózou. Nádorové buňky přijí-

mají více těchto makromolekul. Bylo zjištěno, že tetrapeptidový spojovací článek Gly-Phe-Leu-Gly umožňuje specifické uvolňování léčiva v lysosomech tímto enzymem, a proto byl 5FU konjugován s částečně acetylovaným O-(methoxykarbonyl) chitosanem (10).



(10)

Doxorubicin je antracyklinové protinádorové antibiotikum s širokým spektrem protinádorové aktivity. Působí blokádu enzymu topoisomerasy II, který se podílí na změnách v prostorovém uspořádání DNA při její replikaci před dělením buňky. Pro velmi silné vedlejší účinky (kardiotoxocita), nízkou stabilitu a špatnou rozpustnost ve vodě byl jako několikavrstvé mikrotobolky obsahující chitosan a alginát vázané na (karboxymethyl)celulose dotované koloidními částicemi uhličitanu vápenatého. [11]

3 PŘÍRODNÍ POLYMERY PRO FORMULACI HYDROFILNÍCH MATRICOVÝCH TABLET

Tablety (tabulettae) jsou tuhé, pevné, tvarově určité výlisky z práškovitých nebo granulovaných léčiv a pomocných látek (tabletoviny), disperzní systém plynné fáze (vzduchu) ve fázi tuhé, v kterém obsah vzduchu (pórovitost) může být velmi malý. Tablety mohou mít různý tvar nejčastěji jsou ploché nebo čokovité. Podle místa uvolnění léčiva v GIT se rozlišují tablety s liberací v dutině ústní, v žaludku a tenkém střevě. Tablety s modifikovaným uvolňováním léčiva obsahují pomocné látky a vyrábějí se takovým postupem, že pomocné látky i postup samostatně nebo společně mění rychlost nebo místo uvolňování léčiva. Tato definice se v naší systematice jednoznačně řadí mezi retardety. Matricový typ retardety nemá membránu, léčivo je dispergováno v určitém objemu polymeru. [14]

Hydrofilní matricové tablety představují nejužívanější formu perorálních lékových forem s prodlouženým uvolňováním léčiva – retardér. Při jejich výrobě se uplatňují nejčastěji polymery polosyntetického nebo syntetického původu. V současné době stoupá zájem o polymery přírodního původu, které se preferují pro svou bezpečnost, snadnou dostupnost a relativně nízkou cenu. Přírodní polymery je možné získat například izolací z mořských řas (kyselina alginová, karageny). Může se rovněž jednat o rostlinné exudáty (arabská guma), o rostlinné extrakty (pektiny) nebo o obsahové složky semen (galaktomanan guar) či o semení (ispaghula). Využívaným produktem mikrobiální fermentace při výrobě matric je xantanová guma. [15]

Dispergováním ve vodě tvoří tyto polymery hydrogely, které mají široké uplatnění v různých lékových formách. Nevýhodou přírodních makromolekulárních látek je jejich kolísavé chemické složení podle místa a způsobu získávání, což se odráží i ve variabilitě jejich výsledných fyzikálně-chemických vlastností. Důsledkem pak může být například nestejněměrná rychlost hydratace polymeru či nepravidelná hydratace polymeru. Cíleným zásahem do přírodních makromolekul zejména ovlivněním jejich stupně polymerizace nebo stupně substituce, s cílem překonat uvedené nedostatky, se vyrábějí polymery polosyntetické. Mezi nejdůležitější zástupce skupiny polosyntetických polymerů patří ethery celulosy, chitosan a alginany. [15]

Při výrobě matricových tablet se polymery využívají buď samostatně, nebo v kombinacích. Kombinace jsou vhodné například pro překonání nevýhodných vlastností konkrétního použitého polymeru nebo pro dosažení požadovaného uvolňování ze systému. Před použitím polymeru se bere na zřetel jeho původ, chemické složení, fyzikálně chemické vlastnosti, biodegradovatelnost a chemická stabilita, jeho mechanické vlastnosti. Výběr vhodného polymeru dále do značné míry závisí na požadované rychlosti a čase uvolňování léčiva, fyzikálně-chemických vlastnostech léčiva a místě aplikace. Při formulaci perorálních přípravků s cílenou distribucí do specifických částí gastrointestinálního traktu (site-specific drug delivery) se např. využívá schopnosti různých polymerů tvořit gely in situ. Polymery, které nacházejí narůstající uplatnění v oblasti řízení uvolňování biologicky aktivních substancí, se někdy označují termínem biopolymery. Původně však tento termín zahrnoval spíše vysokomolekulární látky vyskytující se přirozeně v živém organismu, např. proteiny, nukleové kyseliny a polysacharidy. [15]

3.1 Hydrofilní polymery přírodního původu

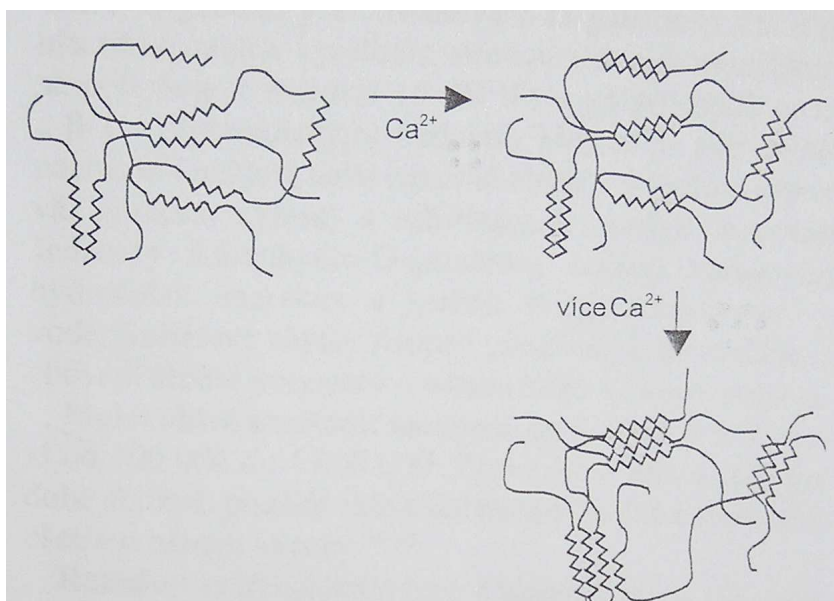
Z hydrofilních polymerů přírodního původu se pro formulaci hydrofilních matricových tablet mohou využít kyselina alginová a alginany, karageny, arabská guma, pektiny, galaktomanany, ispaghula a xantanová guma. [15]

3.1.1 Kyselina alginová, alginany

Izolaci kyseliny alginové, přírodního polymeru obsaženého v hnědých mořských řasách, provedl poprvé v roce 1881 britský chemik E.C.Stanford. Po chemické stránce se jedná o lineární polymer tvořený zbytky kyseliny D-mannuronové (M) a kyseliny L-guluronové (G). Jeden polymerní řetězec jich obsahuje obvykle 100 – 3000. Uvedené zbytky se vzájemně vážou do bloků. Rozlišují se tři typy: homopolymerní M-bloky tvořené výhradně zbytky kyseliny mannuronové (M-M-M-M...), homopolymerní G-bloky (G-G-G-G...) a heteropolymerní MG-bloky, ve kterých se monomery kyseliny mannuronové a guluronové přesně střídají (M-G-M-G...). Poměr M/G bloků, jejich rozložení a délka ovlivňují fyzikálně-chemické vlastnosti kyseliny alginové. Komerčně se kyselina alginová získává izolací z hnědých řas, ve kterých má funkci stavební složky buněčných stěn. Při extrakci řas zředěnými alkalickými roztoky za vyšší teploty dochází k rozpuštění přítomné kyseliny algi-

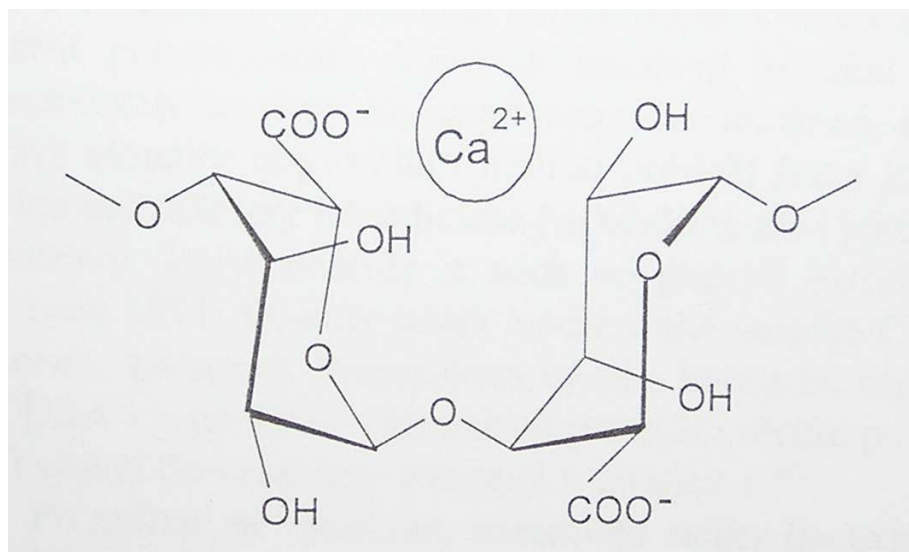
nové. Volná kyselina alginová se získává vytěsněním minerálními kyselinami, nejčastěji kyselinou chlorovodíkovou. Složení polymerních řetězců kyselina alginové se liší v závislosti na vegetačních podmínkách zpracovávaných řas, době jejich sklizně, ale zejména podle druhu řasy použité k izolaci. Ze získané kyseliny se mohou tvořit soli. [16]

S jednomocnými ionty kovů tvoří kyselina alginová ve vodě rozpustné soli, s dvojmocnými a vícemocnými kationy pak soli ve vodě tvořící gely nebo sraženiny. Odlišné kationty však vykazují ke kyselině alginové různou afinitu. Je možné nalézt vztah mezi afinitou a mechanickou pevností vznikajících gelů. Nicméně v důsledku buněčné toxicity mnohých kationtů, se prakticky pro výrobu gelů využívají pouze následující tři: Sr^{2+} , Ba^{2+} , Ca^{2+} . K tvorbě gelů dochází, jestliže dvojmocné kationy (nejčastěji Ca^{2+}) zapadají mezi řetězce kyseliny alginové v oblastech G-bloků a v těchto úsecích je provázkou. Tím se vytvoří trojrozměrná síť (obr. 11). [15]



Obr. 11. Tvorba alginanových gelů [15]

Při nadbytku vápenatých iontů se prováže více řetězců kyseliny alginové navzájem (opět prostřednictvím G-bloků) vzniká mezi nimi množství volných prostor a důsledkem je vysoká pórovitost těchto gelů (obr. 12). [15]



Obr. 12. Provázání G-bloků kyseliny alginové Ca^{2+} ionty [15]

Kyselina alginová a alginany nacházejí široké uplatnění ve farmaceutickém, kosmetickém i potravinářském průmyslu. Protože se však získávají z přírodních zdrojů, mohou obsahovat různé nečistoty-těžké kovy, proteiny či endotoxiny. Před farmaceutickým využitím, zejména pro parenterální a podkožní aplikaci, se musí tyto nečistoty efektivně odstranit. Vysoce čištěné alginany se pak mohou bez obav používat například pro výrobu implantátů. Nejpoužívanější alginan sodný je sodnou solí kyseliny alginové. Považuje se za netoxický a biokompatibilní. Alginan sodný se využívá jako pojivo, rozvolňovadlo, nosný polymer při výrobě hydrofilních matric. Uplatňuje se jako stabilizátor při výrobě suspenzí, emulzí a krémů. Slouží jako stěnotvorný polymer při výrobě mikrotobolek. [15,16]

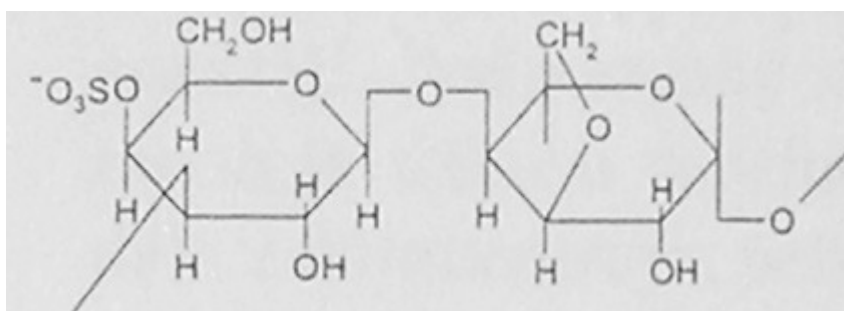
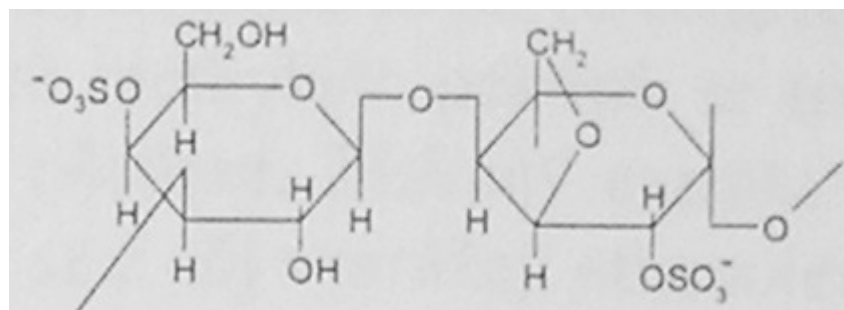
3.1.2 Karageny

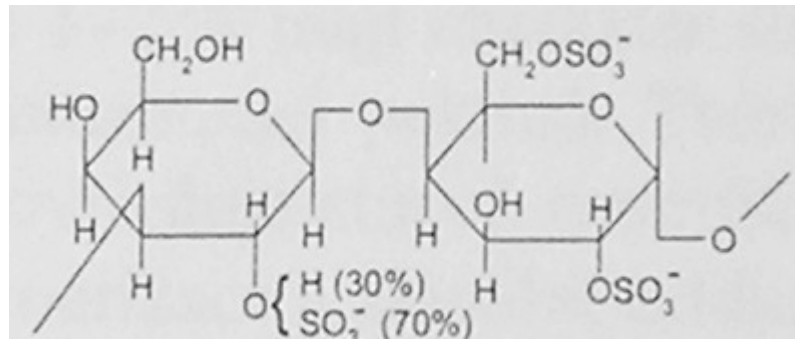
Karageny jsou přírodní sulfonované vysokomolekulární polysacharidy, které se získávají extrakcí stélek mořských řas třídy *Rhodophyceae*. Průmyslová výroba karagenů započala v USA v roce 1937. Pro dnešní produkci těchto polymerů slouží červené řasy uvedené v tabulce 1. Po sklizni se vysušené, rozemleté stélky řas extrahují slabě alkalickými roztoky. Řasy se odfiltrují a karageny se ze získaných extraktů vysrážejí alkoholem. [15]

Tab 1. Řasy používané pro izolaci karagenů

Rod	Výskyt
Gigartina	Argentina, Chile, Maroko, Francie
Chondrus	Francie, sever Atlantského oceánu
Iridaea	Chile
Eucheuma	Filipíny, Indonésie

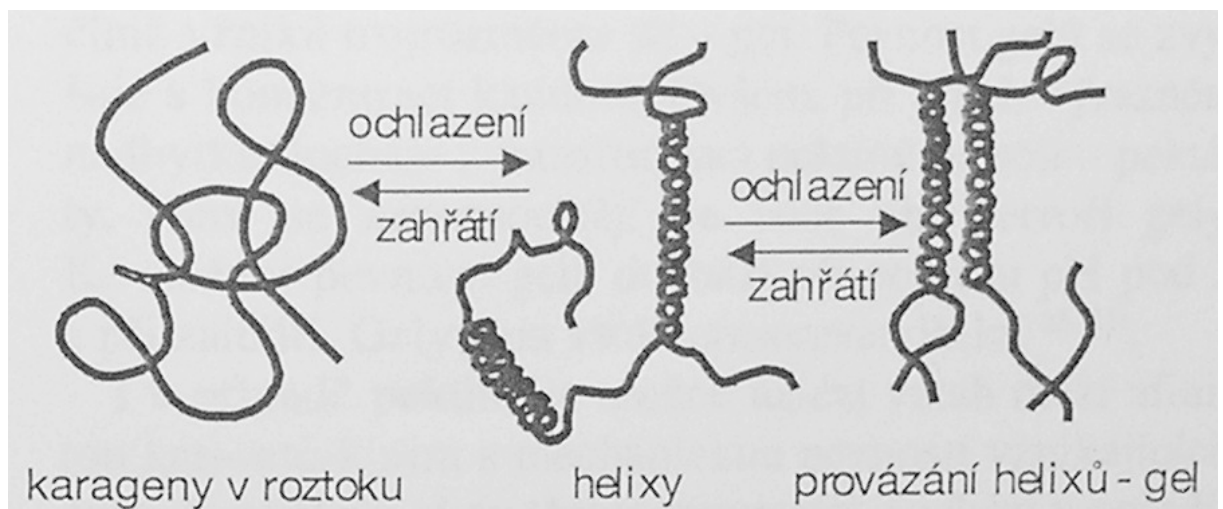
Lineární polymerní řetězce karagenů se skládají z jednotek D-galaktosy a 3,6-anhydro-D-galaktosy částečně esterifikovaných kyselinou sírovou a propojených α -1,3 a β -1,4 glykosidickými vazbami. Jednotky 3,6-anhydro-D-galaktosy udělují karagenům hydrofobní charakter a snižují jejich rozpustnost ve vodě. Sulfátové zbytky naopak přispívají k hydrofilnímu chování těchto polymerů a rozpustnost ve vodě zvyšují. Molekulová hmotnost karagenů se pohybuje v rozmezí od 100 000 do 1 000 000. Závisí na druhu a stáří řas, době sklizně a použité extrakční metodě. Rozlišují se tři základní typy karagenů: κ , ι , λ (Schéma 4-6).

Schéma 4. κ - karagenSchéma 5. ι - karagen

Schéma 6. λ - karatem

Karageny κ , λ -si jsou strukturně velmi podobné. ι -karagen se odlišuje pouze esterifikací kyselinou sírovou na uhlíku v poloze 2. Oba polymery při styku s vodou bobtnají a vytvářejí gely. λ -karagen oproti nim vykazuje daleko vyšší stupeň esterifikace a neobsahuje ve své makromolekule 3,6-anhydro-D-galaktosu. Taková chemická struktura přispívá ke zvýšení rozpustnosti ve vodě a k omezení tvorby gelu. V přítomnosti příslušných druhů kationtů jsou schopné karageny κ a ι vytvářet gely. Tyto gely se pak prostřednictvím interakcí s kationty vzájemně provazují, čímž vzniká pevná trojrozměrná struktura – gel, (obr.13).

[15]



Obr. 13. Tvorba karagenových gelů [15]

Karageny κ a ι se používají rovněž jako pomocné látky pro stabilizaci emulzí a suspenzí. Samostatně nebo v kombinaci s jinými polymery jsou vhodné pro výrobu tablet s řízeným uvolňováním léčiva. [16]

3.1.3 Arabská guma

Arabská guma (klovatina) je sušený exudát, který samovolně vytéká nebo se získává nařezáváním kůry dřevin *Acacia senegal* (*Fabaceae*). Největším producentem je Súdán (80% světové produkce) a další západoafrické země. U pěstovaných stromů se během období sucha záměrně nařezává kůra a po 3-8 týdnů se ručně sbírá produkovaný exudát. Po chemické stránce je arabská guma tvořená kyselinou arabinovou - polysacharidem složeným z D-galaktosy (32-50%), L-arabiny (17-34%), L-ramnosy (11-16%) a kyseliny D-glukuronové (13-19%). Molekulová hmotnost tohoto polymeru se pohybuje v rozmezí 260 000-1160 000. Arabská guma je dobře rozpustná ve vodě. Roztoky jsou slabě kyselé. Používá se jako stabilizátor emulzí a suspenzí pro perorální i topické upotřebení. Slouží jako pojivo při výrobě tablet a pastilek a jako nosný polymer v tabletách s řízeným uvolňováním léčiva. [16]

3.1.4 Pektiny

Pektiny jsou aniontové polysacharidy, které se nacházejí společně s celulosou v buněčných stěnách rostlin, u kterých ovlivňují jejich mechanické vlastnosti: celulósa pevnost, pektiny flexibilitu. Základní stavební složkou pektinů je kyselina α -D-galakturonová, která je vázána (1 \rightarrow 4) glykosidickými vazbami do lineárních řetězců. Vyskytují se zde rovněž postranní řetězce, které mohou obsahovat 1-20 zbytků. Jsou tvořené L-arabínou, D-xylozou, L-fukosou a dalšími cukry. Molekulová hmotnost pektinů se pohybuje v rozmezí od 50 000 do 150 000. Výchozími surovinami pro výrobu pektinů jsou například citrusové výlisky (zejména z oplodí citrusových plodů) a jablečné výlisky. Rostlinný materiál se nejprve podrobí kyselé hydrolyze při teplotě 70-90°C. Během ní dochází k deesterifikaci vysoce methoxylovaných a tudíž ve vodě nerozpustných pektinů obsažených ve výchozích surovinách. Tím vznikají pektiny s nižším obsahem methoxylových skupin, které se již ve vodě rozpouštějí. Získaný extrakt se dále zkoncentruje, pektiny se z něj vysrážejí ethanolom, oddělí se a vysuší. Ve farmaceutické technologii se pektiny používají jako stabilizátory emulzí a suspenzí, gely jako masťové základy. Pektiny se také uplatňují při výrobě hydrofilních matricových tablet. Uvolňování léčiv z nich však může být ovlivněno typem použitého pektinu. Reakce mezi karboxylovými skupinami aniontových polysacharidů-pektinů a aminoskupinami kationtového polysacharidu-chitosanu vede v prostředí s pH 3-6 ke vzniku nerozpustného komplexu. Z tohoto důvodu dochází v horní části zažívacího traktu ke

zpomalenému uvolňování léčiv. Kombinace pektinů a chitosanu lze proto využít v systémech určených pro cílený transport léčiv do tlustého střeva, ale i pro flotující lékové formy s uvolňováním léčiva v žaludku. [16]

3.1.5 Galaktomanan guar

Galaktomanany jsou přírodní polymerní látky obsažené v luštěninách. Galaktomanan guar se získává z endospermu rostlin *Cyamopsis tetragonolobus* (*Fabaceae*). Domovem těchto rostlin je Indie a Pákistán. Při výrobě galaktomananu se nejprve semena matečné rostliny zbavují osemení buď namáčením ve vodě, nebo opražením. Parciální hydrolyzou endospermu se získává galaktomanan. Hlavními složkami galaktomananu jsou polysacharidy složené z D-galaktosy a D-manosy. Makromolekuly obsahují hlavní lineární řetězec z β -(1 \rightarrow 4)-glykosidicky vázaných manopyranos. Molekulová hmotnost galaktomananu se pohybuje v rozmezí 220 000. Nerozpouští se v organických rozpouštědlech. Po jeho rozpuštění ve studené nebo teplé vodě vznikají viskózní koloidní roztoky. Galaktomanan je neionogenní, kompatibilní s mnoha anorganickými i organickými sloučeninami. Galaktomanan guar se používá jako stabilizátor emulzí, jako látka ovlivňující rheologické vlastnosti krémů, jako pojivo a rozvolňovadlo. Využívá se také buď samostatně, nebo v kombinaci jako nosný polymer pro výrobu hydrofilních matricových systémů. [15]

3.1.6 Ispaghula

Ispaghula je sušené osemení rostlin rodu *Plantago* (*Plantaginaceae*). K jejímu získávání se nejvíce využívá druh *Plantago ovata* rostoucí v Indii. Vymláčená a roztříděná semena jitrocele se zpracovávají ve speciálních mlýnech, kde se z nich odlupuje osemení, které se dále prosévá. Po chemické stránce ji tvoří neutrální a kyselé polysacharidy obsahující zbytky kyseliny D-galakturonové, D-xylosy, L-arabiny a L-ramnosy. Ispaghula se ze zažívacího traktu nevstřebává, ani nedochází k jejímu trávení. Má však schopnost velmi silně bobtnat, asi na dvacetinásobek svého původního objemu. Při jejím kontaktu s vodou vzniká gel, jehož struktura se snadno rozrušuje mechanickým namáháním. Ispaghula modifikovaná působením teploty je však již schopná vytvářet relativně pevné gelové vrstvy. Pak se dá využít i při výrobě hydrofilních matricových tablet. [16]

3.1.7 Xantanová guma

Xantanová guma je extracelulární aniontový polysacharid, fermentační produkt gramnegativních aerobních bakterií. Z kultivačních médií se získává vysrážením isopropylalkoholem. Vysuší se a rozdrobní se. Makromolekulární řetězce xantanové gummy se skládají z asi 2000 pravidelně se opakujících se jednotek. Hlavní lineární řetězec polymeru obsahuje zbytky β -D-glukosy, které jsou propojené 1,4-glykosidickými vazbami. Xantanová guma je bílý nebo krémově zbarvený prášek. Rozpouští se ve studené i teplé vodě. Naopak je nerozpustná v mnoha organických rozpouštědlech. Již při nízké koncentraci xantanové gummy vznikají velmi viskózní roztoky. Jsou pseudoplastické mají, mají výbornou teplotní stabilitu. [16]

ZÁVĚR

Oblast výzkumu a vývoje nových polymerních terapeutik v posledních dvaceti letech roste exponenciálně, alespoň měřeno počtem prací v odborných časopisech. Schválení ke klinickému použití se dočkalo několik PEGylovaných proteinů a zatím jediný polymerní konjugát s protinádorovým léčivem, kopolymer styrenu a maleinové kyseliny nesoucí kancerostatikum neocarzinostatin (SMANCS)⁹⁰. Počet polymerních konjugátů kancerostatik, které se dostávají do různých fází klinického testování, velmi rychle roste. Od zahájení prvních klinických zkoušek polymerních kancerostatik uběhla poměrně dlouhá doba, anižby tyto zkoušky vyústily ve schválení nového léčiva. V současné době bylo zveřejněno zahájení klinického zkoušení minimálně 12 typů polymerních konjugátů kancerostatik. Tak jako vždy při zavádění zcela nových principů a postupů do praxe se i zde projevuje jistá nezkušenost jak farmaceutických firem, tak i schvalujících institucí. Testování polymerních léčiv vyžaduje nejen nové výrobní postupy a způsoby charakterizace produktů, ale i nové metody jejich hodnocení. Bohužel, v řadě případů má na dlouhou dobu klinického testování negativní vliv také politika těchto firem, které se zdráhají investovat do velmi nákladného vývoje nových léčiv s nejistým výsledkem, mají-li monopolní postavení v příslušné oblasti, např. ve výrobě určitého typu klasických protinádorových léčiv. Spolupráce několika vědních disciplín, zejména makromolekulární chemie, molekulární biologie a medicíny, vedla v poslední době k návrhu poměrně sofistikovaných struktur, jako jsou např. polymerem modifikované směrované virové vektory pro přenos genů, nebo protilátkami směrovaná polymerní léčiva. Na základě stále se zrychlujícího vývoje v této oblasti je možné předpokládat, že během několika let bude vývoj polymerních léčiv nejen předmětem základního výzkumu, ale i součástí klinického vývoje a snad i použití v klinické praxi. Je potěšitelné, že se Česká republika na tomto vývoji podílí významnou měrou. Chitosan vykazuje celou řadu biologických aktivit. Podle narůstajícího počtu publikací v posledních letech lze usuzovat, že jde o velice perspektivní polykationtový polysacharid s širokým potenciálem využití v nejrůznějších aplikacích. V oblasti farmacie je jeho budoucnost především v roli biodegradabilního nosiče léčiv různých farmakologických skupin s možností jejich modifikace pro cílovou tkáň, odstranění některých nežádoucích vlastností léčiva a zvýšení biodostupnosti léčiva.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] HRUBÝ M., KUČKA J., KOZEMPEL J., LEBEDA O. Cílené polymerní nosiče léčiv v terapii nádorových onemocnění. Chemické listy. 2006, roč. 100, s. 10-16.
- [2] ULBRICH K., ETRICH T., CHYTIL P., JELÍNKOVÁ M., ŘÍHOVÁ B. Journal of controlled release. 2003, roč. 87, s. 33.
- [3] ŘÍHOVÁ, B. Polymerní cytostatika. Vesmír. 2003, roč. 82, č. 10, s. 498.
- [4] PECHAR N., ULBRICH K. Polymerní terapeutika u nás a ve světě. Chemické listy. 2009, roč. 103, č. 1, s. 3-10.
- [5] ZÁKON Ministerstva zdravotnictví č. 378/2007 Sb. ze dne 6.12.2007 O léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech).
- [6] HAMPL F., RÁDL S., PALEČEK J. Farmakochemie, Praha: Nakladatelství VŠCHT, 2007. 448 s. ISBN 978-80-7080-639-5.
- [7] THE BRITISH MEDICAL ASSOCIATION. Léky a jejich použití, Bratislava: Gemini, spol. s r.o., 1993. 448 s. ISBN 80-7161-058-5.
- [8] HADAŠOVÁ, E. Lipozomální lékové formy. Remedia. 2006, č.16, s.433-437.
- [9] Ulbrich, K.: Možnosti použití syntetických polymerů při vývoji léčiv: od protinádorové ke genové terapii [online]. 2007. Dostupný z [www: http://www.learned.cz/files/prednasky/karel.ulbrich 1107.pdf](http://www.learned.cz/files/prednasky/karel.ulbrich 1107.pdf).
- [10] ETRICH, T. Polymerními cytostatiky proti solidním nádorům. Medical tribune. 2009, č. 6, s. A6.
- [11] VAVŘÍKOVÁ E, VINŠOVÁ J. Chitosan a jeho farmaceutické aplikace. Chemické listy. 2009, roč. 103, č. 1, s. 56-65.
- [12] LUKÁŠ J, FENCLOVÁ T, MOKRÝ J, KARBANOVÁ J. Chemie, fyzikální vlastnosti a biokompatibilita hydrogelů pro imunoprotekci savčích buněk. Chemické listy. 2004, roč. 98, s. 14-21.
- [13] NOVÁK, MIROSLAV. β -glukany, historie a současnost. Chemické listy. 2007, roč. 101, s. 872-880.

- [14] CHALABALA, MILAN et al. Technologie léků, Praha: Galén, 1997. 711 s. ISBN 80-85824-68-X..
- [15] SEDLÁKOVÁ M, RABIŠKOVÁ M, SPILKOVÁ J. Přírodní polymery pro formulaci hydrofilních matricových tablet. Česká a slovenská farmacie. 2006, roč. 55, č. 1, s. 4-11.
- [16] KUNA, MILAN. Mukoadhezivní tablety. Praktické lékárenství. 2008, roč.4, č. 5, s. 242-245.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BAL	Biologicky aktivní látka
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
Dox	Doxorubicin, kancerostatikum
EMA	European Medicines Agency
EPR	Enhanced permeability and retention, zvýšená propustnost a zadrž
FDA	Food and Drug Administration
5FU	5-Fluoruracil, kancerostatikum
GIT	Gastrointestinální trakt
HPMA	<i>N</i> -(2-hydroxypropyl) methakrylamid
INH	Isoniazid, antituberkulotikum
i.v.	Intravenózní aplikace
PEG	Poly(ethylenglykol)
RES	Retikuloendotelový systém
RNA	Ribonukleová kyselina
SÚKL	Státní ústav pro kontrolu léčiv
SVP	Správná výrobní praxe

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Koncentrace léčiv v těle [9]</i>	11
<i>Obr. 2. Koncentrace polymerní formy léčiv v těle [9]</i>	12
<i>Obr. 3. Schéma klasického polymerního léčiva [9]</i>	17
<i>Obr. 4. Fyzikální a chemická struktura syntetických polymerů [9]</i>	19
<i>Obr. 5. Fyzikální a chemická struktura syntetických polymerů [9]</i>	20
<i>Obr. 6. Schéma klasického konjugátu poly(HPMA) s kancerostatikem doxorubicin (enzymatická aktivace léčiva) [9]</i>	21
<i>Obr. 7. Schéma hydrazonového konjugátu poly(HPMA) s kancerostatikem doxorubicin (pH závislá hydrolytická aktivace léčiva) [9]</i>	22
<i>Obr. 8. Deacetylace chitinu</i>	28
<i>Obr. 9. a) Hydratovaný chitosan, b) nehydratovaný chitosan [11]</i>	29
<i>Obr. 10. Cesty léčivé látky k aktivnímu místu [11]</i>	30
<i>Obr. 11. Tvorba alginanových gelů [15]</i>	38
<i>Obr. 12. Provázání G-bloků kyseliny alginové Ca^{2+} ionty [15]</i>	39
<i>Obr. 13. Tvorba karagenových gelů [15]</i>	41

SEZNAM TABULEK

Tab 1. Řasy používané pro izolaci karagenů	40
--	----

