

Vliv koncentrace polyvinylalkoholu na velikost oligoesterových polymerních nanočástic připravených metodou odpařování a rozdělování rozpouštědla

EVA VALENTOVÁ, EVA ŠNEJDROVÁ, MILAN DITTRICH

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické technologie

Došlo 6. května 2011 / Přijato 6. června 2011

SOUHRN

Vliv koncentrace polyvinylalkoholu na velikost oligoesterových polymerních nanočástic připravených metodou odpařování a rozdělování rozpouštědla

Nanočástice z PDLLA poly-DL kyseliny mléčné byly připraveny emulzní metodou rozdělování a odpařování rozpouštědla. Externí vodná fáze byla složena z 1,5% a 3% roztoku tří nízkomolekulárních polyvinylalkoholů. Tyto polyvinylalkoholy se lišily molekulovou hmotností a stupněm zmydelnění. Vnitřní fáze byla tvořena 1% roztokem poly-DL mléčné kyseliny rozpuštěné v dichlormethanu, chloroformu nebo směsí dichlormethanu a chloroformu v poměru 1 : 1. Viskozita a povrchové napětí obou fází nebyly významně ovlivněny zvoleným rozpouštědlem ani koncentrací tenzidu. Oproti tomu velikost částic měřená metodou rozptylu světla a zeta potenciál jednotlivých vzorků měřený laserovým Dopplerovým velocimetrem ovlivněny byly. Statistické testování metodou ANOVA prokázalo, že druh rozpouštědla a molekulová hmotnost polyvinylalkoholu jsou statisticky významné faktory ovlivňující velikost vznikajících nanočástic. Koncentrace polyvinylalkoholu a jeho molekulová hmotnost statisticky významně ovlivňuje zeta potenciál částic. Tvorba nanočástic nebyla způsobena čistě emulgačním mechanismem. Proces tvorby částic byl významně zasažen turbulentním mísením obou fází a tuhnutím vnitřní fáze po přerozdělení organické fáze. Měnící se obsah polyvinylalkoholu v nanočásticích svědčil pro malý vliv koalescence na tvorbu nanočástic.

Klíčová slova: PDLLA nanočástice – emulzní metoda odpařování a rozdělování rozpouštědla – velikost a zeta potenciál nanočástic

Čes. slov. Farm., 2011; 60, 193–199

SUMMARY

The influence of PVA on the size of oligoester nanoparticles prepared by the emulsion solvent distribution method

Nanoparticles of poly(DL-lactic acid) (PDLLA) were prepared by the emulsion solvent distribution method. The external aqueous phase was composed of 1.5 and 3.0% solutions of three kinds of low molecular weight polyvinylalcohol (PVA) varying in molecular weight and saponification degree. The internal oil phase was made from a 1% solution of PDLLA dissolved in dichloromethane, chloroform and a mixture of these two solvents. Viscosity and surface tension of these phases were not significantly influenced by the selected solvent or solute quality. Contrary to these results, very different values of nanoparticle size were measured by the PCS method and the values of the zeta potential quantified by a laser Doppler velocimeter. ANOVA method revealed PDLLA solvent quality and PVA type as a significant factors for particle size, while PVA type and its concentration were factors relevant for zeta potential changes. The formation of nanoparticles was not controlled by the mechanism of the pure emulsification process characterised by the Weber number. To a great extent, this process was influenced by solidification and mutual mixing of phases. PVA content

Adresa pro korespondenci:

Mgr. Eva Valentová
M. Majerové 283, 533 53 Pardubice
e-mail: valentova.eva@seznam.cz

variables in nanoparticles were indicative of the hypothesis of a small influence of coalescence on nanoparticles formation.

Key words: PDLLA nanoparticles – emulsion method of evaporation and separation of solvent – size and potential of nanoparticles

Čes. slov. Farm., 2011; 60, 193–199

Má

Úvod

Polymerní medikované nanočástice jsou předmětem zájmu ve stadiu vývoje a výzkumu, oproti tomu je v medicínské praxi zatím pouze jediný preparát¹⁾. Nanočástice určené pro biologické použití včetně „drug delivery“ jsou definované jako částice s velikostí pod 1 μm ²⁾. Jejich materiálové vlastnosti závislé na velikosti, jsou kvalitativně nové oproti vlastnostem původních surovin³⁾.

Emulzní metoda rozdělování a odpařování rozpouštědla je metoda umožňující využití i v průmyslu. Její velkou výhodou je vysoká kapacita pojmout dovnitř polymerních nanočástic účinnou látku⁴⁾. Během emulgačního procesu je roztok obsahující rozpouštědlo s polymerem a účinnou látkou dispergován do vodné fáze obsahující tenzid⁵⁾. Účinnost dispergace je ovlivněna mechanickým mísením, vyjádřeným Weberovým číslem⁶⁾. Weberovo číslo (We) je poměr mezi Laplaceovým tlakem a stříhovým gradientem na mezifázi dvou vzájemně nemísitelných kapalin.

$$\text{We} = \eta D r / \gamma, \quad [1]$$

kde η je viskozita vnější fáze, D rychlostní gradient, r poloměr kapek, γ mezifázové napětí.

Laplaceův tlak Δp se liší podle zakřivení povrchu. Pro kouli je:

$$\Delta p = 2\gamma/r. \quad [2]$$

Tato rovnice vyjadřuje reciproční vztah mezi tlakem a velikostí částic dispergované kapalně fáze. Weberovo číslo je možné přepsat jako:

$$\text{We} = 2 \eta D / \Delta p. \quad [3]$$

Newtonova rovnice pro viskozitu je:

$$\eta D = \tau, \quad [4]$$

kde τ je stříhové napětí, tj. síla na jednotku povrchu.

Z toho plyne, že Weberovo číslo je bezrozměrná veličina vyjádřená jako jednoduchý vztah mezi tlakem a stříhovým napětím:

$$\text{We} = 2 \tau / \Delta p. \quad [5]$$

Pro rozbití kapek vnitřní fáze je potřeba přesáhnout Weberovo číslo 1.

Je účinnější použít krátké, ale intenzivní turbulentní proudění⁷⁾.

Dalším projevem mechaniky kapalin při emulgaci je ztráta kinetické energie vyjádřená koeficientem restituce (obnovení) COR. COR je definovaný jako poměr mezi rychlostí po a před kolizí s povrchem⁸⁾:

$$\text{COR} = V_r / V_i. \quad [6]$$

Mezi We a COR není jednoduchý vzájemný vztah⁹⁾.

Koalescence jako jev vedoucí ke zvětšování kapek v emulzi se vyskytuje při vyšší energii adheze kolidujících částic, než je energie uvolněná při turbulentním proudění¹⁰⁾. Extrémně nízké mezipovrchové napětí překvapivě vede k nestabilitě systému¹¹⁾.

Role tenzidu v mechanismu tvorby emulze je podstatná. Ovlivňuje jak Weberovo číslo, tak stabilizuje emulzi proti koalescenci. Polyvinylalkohol je velmi často používaným tenzidem pro přípravu polymerních nanočástic a mikročástic. Polyvinylalkohol je připravován částečnou hydrolyzou polyvinylacetátu, obvykle je stupeň zmýdelnění SD od 88 % do 97 %. Takové kopolymery s různou molekulovou hmotností jsou hydrofilní a povrchově aktivní. PVA je biokompatibilní a velmi stabilní.

Polyvinylalkohol byl použit nejen jako tenzid, ale zároveň i jako nosič pro nanočástice obsahující peptidové účinné látky. Při takovém složení již nebylo zapotřebí další povrchově aktivní látky¹²⁾. Také bylo prokázáno, že čím vyšší je koncentrace PVA ve vnější vodné fázi (v rozmezí od 1 % do 5 %), tím menší částice vznikají, z 280 nm se velikost snížila na 200 nm¹³⁾. Murakami dokázal, že povrchová aktivita-emulgační schopnost je založena více na stupni hydrolyzy PVA než na molekulové hmotnosti¹⁴⁾.

Polyvinylalkohol tvoří na povrchu částic vzájemně propojenou síť s polymerem. To má značný vliv na zeta potenciál částic¹⁵⁾.

POKUSNÁ ČÁST

Materiál

Poly-DL kyselina mléčná (PDLLA) byla syntetizována na pracovišti autora polykondenzační reakcí bez katalyzátorů. Molekulová hmotnost byla M_w 4100 g/mol (M_w hmotnostní), M_w/M_n 2.30 (poměr mezi hmotnostně a číselně zjištěnou molekulovou hmotností) a byla stanovena pomocí SEC-MALLS (Size Exclusion Chromatography – Multi-Angle Laser Light Scattering), teplota skelného přechodu byla stanovena pomocí DSC (dife-

renciální skenovací kalorimetrii) Tg 17,0 °C. Pro analýzu dodaných vzorků byla použita sestava kapalinového chromatografu sestávající se z čerpadla a autosampleru Alliance 2695 Separations Module (Waters), rozptylového fotometru miniDAWN (Wyatt Technology Corporation), viskozimetru ViscoStar (Wyatt Technology Corporation) a diferenciálního refraktometru 2414 (Waters).

Polyvinylalkohol (PVA10), Mw 9000–10 000, z 80 % hydrolyzovaný, byl dodán firmou Aldrich Chemical Company, Inc.

Polyvinylalkohol (PVA15), Mw 15 000, z 86–89 % hydrolyzovaný, byl dodán firmou Fluka.

Polyvinylalkohol (PVA20), Mw 15 000–23 000, z 87–89 % hydrolyzovaný, byl dodán firmou Aldrich Chemical Company, Inc.

Ostatní rozpouštědla byla v analytické čistotě.

Určení molekulové hmotnosti polyvinylalkoholu pomocí viskozimetrie

Kinematická viskozita vodného roztoku polyvinylalkoholu o koncentraci od 0,10 do 2,00 % byla měřena Ubbelohdeho kapilárním viskozimetrem při 25 °C. Vnitřní viskozita η pro roztok polymeru v rozpouštědle byla vztažena k M_v podle rovnice Kuhn-Mark-Houwink-Sakurada:

$$\eta = K (M_v)^a.$$

Mark-Houwinkova konstanta ($K = 2,0 \cdot 10^{-4}$; $a = 0,76$) pro PVA byla čerpána z práce Tao¹⁶⁾.

Viskozita jednotlivých fází emulze

Dynamická viskozita 1,5% a 3,0% roztoku polyvinylalkoholu PVA 10, PVA 15, a PVA 20 ve vodné fázi a roztok PDLLA v chloroformu, dichlormethanu a směsi 50 : 50 obou chlorovaných uhlovodíků byla měřena viskozimetrem (Brookfield DV-E, Německo) při 25 °C, vřetenem č. 1, 100 ot./min.

Charakterizace mezipovrchového napětí

Obě fáze organická i vodná byly ponechány 24 hodin při 25 °C k ustálení rovnováhy. Mezipovrchové napětí bylo měřeno Wilhelmovou destičkovou metodou pomocí tenziometru Kruss 100 (Kruss, Německo) při 25 °C.

Formulace nanočástic

Pro přípravu nanočástic byla použita emulzní (o/v) metoda rozdělování a odpařování rozpouštědla. Byl použit 1 g organické fáze obsahující 10 mg PDLLA rozpouštěného v chloroformu, v dichlormethanu nebo jejich směsi v poměru 1 : 1. Organická fáze byla dispergována ve 49 g vodné fáze obsahující 1,5 % nebo 3,0 % PVA. Emulze byla míchána homogenizátorem s rotorem a statorem (Diax 900, Heidolph, Německo) při 26 000 ot./min, po dobu 60 s, při 25 °C. Vzniklá emulze byla smíšena se 100 g destilované vody a po dobu 4 hod. byla udržována v pohybu na magnetické míchačce, dokud

organické rozpouštědlo nepřešlo do vnější fáze a z větší části se neodpařilo.

Charakterizace nanočástic

Distribuce velikosti částic byla hodnocena metodou rozptylu světla (ZetaSizerem ZS, Malvern Instruments, UK). Každá nanosuspenze byla připravena ve třech vzorcích a byla měřena 3×.

Zeta potenciál byl měřen laserovým Dopplerovým velocimetrem jako elektroforetická mobilita suspenze za použití ZetaSizeru ZS (Malvern Instruments, UK). Měření byla prováděna při teplotě 25 °C.

Obsah PVA v nanočásticích byl analyzován Zwickovou metodou¹⁷⁾ podle Leehe et al.¹⁸⁾. Nanosuspenze byla třikrát vymyta a centrifugována s 0,005% vodným roztokem dodecyl sulfátu sodného. Následně byly nanočástice hydrolyzovány při 60 °C v 0,5 mol . l⁻¹ roztoku NaOH. Barevný komplex vznikl po reakci mezi dvěma hydroxylovými skupinami PVA a molekulou jódu z KI₃. Barevný komplex jsme měřili spektrofotometricky při vlnové délce 685 nm (spektrofotometr Hélios Y, Thermo Scientific, USA).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Při tvorbě nanočástic byla použita nízkomolekulární poly-DL kyselina mléčná. Výhody tohoto oligomerního biodegradabilního modelového nosiče jsou nízká viskozita vnitřní fáze při tvorbě nanoemulze a nízký stupeň bobtnání nanočástic v prvních dnech ve vodné suspenzi.

Polyvinylalkoholy použité v této práci byly vybrány z nízkomolekulárních sloučenin s nízkým stupněm zmydelnění. Newtonské viskozitní chování všech roztoků polyvinylalkoholů bylo ve shodě se závěry Modaresse et al.¹⁹⁾.

Mark-Houwinkova konstanta je v malém rozmezí ovlivňována molekulovou hmotností PVA^{20, 21)}. Průměrná molekulová hmotnost deklarovaná výrobcem M_w a viskozitně určená molekulová hmotnost M_v jsou uvedené v tabulce 1. Tabulka odhaluje malé rozdíly ve viskozitně určené molekulové hmotnosti.

Tab. 1. Molekulová hmotnost polyvinylalkoholů: M_w deklarovaná dodavatelem, M_v změřená viskozimetricky

| Polymer | M_w | M_v změřená |
|---------|-------------|---------------|
| PVA10 | 9000–10 000 | 8900 |
| PVA15 | 15 000 | 10 700 |
| PVA20 | 15–23 000 | 13 300 |

V tabulce 2 jsou dva základní parametry (viskozita a povrchové napětí) vnější vodné fáze. Viskozity PVA 10 a PVA 15 si byly vzájemně velmi podobné v obou kon-

Tab. 2. Dynamická viskozita a povrchové napětí roztoku polyvinylalkoholu

| Polymer | Koncentrace (%) | Viskozita (mPa . s) (\pm SD) | Povrchové napětí (mN . m ⁻¹) (\pm SD) |
|---------|-----------------|---------------------------------|--|
| PVA 10 | 1,5 | 12,8 \pm 0,2 | 42,2 \pm 0,2 |
| | 3,0 | 15,4 \pm 0,1 | 42,3 \pm 0,0 |
| PVA 15 | 1,5 | 12,4 \pm 0,2 | 41,7 \pm 0,4 |
| | 3,0 | 15,0 \pm 0,1 | 41,7 \pm 0,2 |
| PVA 20 | 1,5 | 12,9 \pm 0,2 | 42,3 \pm 0,2 |
| | 3,0 | 16,5 \pm 0,1 | 42,2 \pm 0,1 |

Tab. 3. Dynamická viskozita a povrchové napětí 1,0% organického roztoku PDLLA

| Solvent | Viskozita (mPa . s) (\pm SD) | Mezipovrchové napětí (mN . m ⁻¹) (\pm SD) |
|------------------------------------|---------------------------------|--|
| chloroform | 9,9 \pm 0,2 | 17,0 \pm 0,4 |
| dichlormethan | 8,0 \pm 0,1 | 14,9 \pm 2,9 |
| chloroform/ dichlormethan 1 : 1 | 8,9 \pm 0,2 | 15,3 \pm 2,2 |

centracích 1,5 % a 3,0 %. PVA 10 se od ostatních vzorků liší nižším stupněm zmýdelnění SD 80 %, pravděpodobně je to způsobeno svinutým uspořádáním konformace a hustoty polymerní struktury.

Byly změřeny prakticky stejné hodnoty pro povrchovou aktivitu vnější fáze pro všechny tři polyvinylalkoholy. Z toho vyplývá, že molekulová hmotnost a koncentrace acetylovaných skupin neovlivňují agregaci molekul.

Dynamická viskozita 1 % roztoku PDLLA ve třech testovaných chlorovaných uhlovodících se lišila pouze v malém rozmezí (tab. 3). Mezipovrchové napětí bylo měřitelné s dobrou reprodukovatelností pouze u roztoku chloroformu. Nízkomolekulární frakce oligomerů migrovala na rozhraní mezi vodnou a organickou fází. Sytil se vodný roztok což ovlivňovalo reprodukovatelnost měření mezipovrchového napětí. Podmínky na mezifázi mezi organickým roztokem PDLLA a vodným roztokem polyvinylalkoholů nedovolovaly měření viskozity pomocí destičky. Pohyb destičky během měření způsoboval emulgační proces na mezifázi.

Podle Antonovova pravidla vychází mezipovrchové napětí mezi fázemi jako rozdíl povrchových napětí jednotlivých fází.

Při aplikaci tohoto empirického pravidla je možno předpokládat, že budou velmi malé rozdíly v rovnovážných hodnotách mezipovrchového napětí mezi olejovou vnitřní fází obsahující PDLLA a vodnou fází

s rozpuštěným polyvinylalkoholem.

Molekuly polyvinylalkoholu nenavázané na částice byly z vnější fáze odstraněny opakovaným vymýváním a centrifugací. V tabulce 4 jsou koncentrace polyvinylalkoholu zabudovaného do nanočástic. Zřetelně nejvyšší koncentrace emulgátoru byla naměřena uvnitř nanočástic připravených z dichlormethanové organické fáze. To je v souladu s prací Raye²²⁾, který zjistil, že 51,7 % PVA zůstává uvnitř a na povrchu PLGA nanočástic připravených vysokotlakou homogenizací. Jako organická fáze byla použita relativně hydrofilní směs

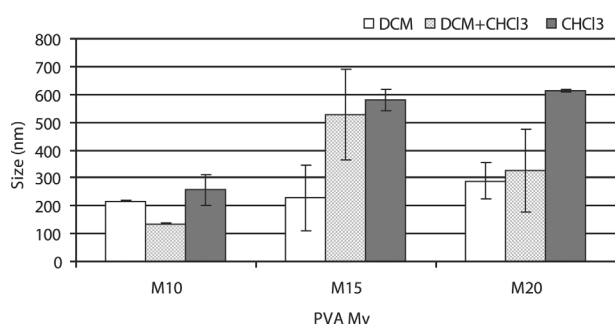
acetonu a dichlormethanu. Signifikantně vyšší koncentraci PVA uvnitř nanočástic z PLGA obsahovaly částice připravené z dichlormethanové organické fáze. Z méně polární chloroformové organické fáze vznikaly částice s nižším obsahem PVA¹⁵⁾. Autoři tento výsledek vysvětlují vhodnějšími podmínkami pro začlenění ve vodě rozpustného PVA do organické fáze, která je polárnější. Lépe se mísí s vodnou fází během dispergačního procesu a v částicích se tak objeví větší množství tenzidu.

Dvojnásobný nárůst koncentrace emulgátoru ve vodné fázi, měl za následek mírné zvýšení obsahu vázané frakce PVA (nepotvrdilo se u částic vzniklých ze vzorku s dichlormethanem). Stejný trend byl pozorován v práci Zambaux et al. Koncentrace polyvinylalkoholu vázaného v částicích mírně rostla se zvyšující se molekulovou hmotností použitého PVA. Polymer s vyšší molekulovou hmotností pravděpodobně tvoří na mezifázi silnější vrstvu, která je během emulgace začleněna do nanočástic. Koncentrace vázaného PVA je dále ovlivněna procesem vlastní emulgace. Důležitými faktory jsou rychlost mísení obou fází, viskozita vnitřní fáze, flexibilita polymerních řetězců a distribuce hydrofobních acetylových skupin v polymerní struktuře²³⁾.

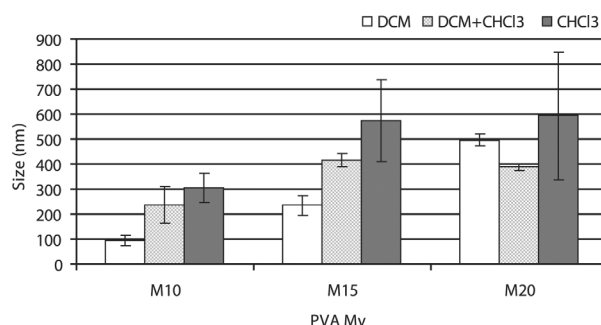
Zřetelně nejmenší částice byly připraveny z PDLLA rozpuštěném v dichlormethanu (obr. 1). Což je v souladu se závěry Malleta a Craiga²⁴⁾, kteří stanovili, že lep-

Tab. 4. Koncentrace polyvinylalkoholu inkorporovaného uvnitř nanočástic připravených z různých rozpouštědel PDLLA a z různých koncentrací a typů polyvinylalkoholu

| | M10 | | M15 | | M20 | |
|------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 1,5 % | 3,0 % | 1,5 % | 3,0 % | 1,5 % | 3,0 % |
| dichlormethan | 5,8 \pm 0,6 | 6,8 \pm 0,7 | 6,8 \pm 0,8 | 7,0 \pm 0,8 | 6,3 \pm 0,7 | 6,7 \pm 0,6 |
| chloroform | 3,0 \pm 0,4 | 4,1 \pm 0,4 | 4,3 \pm 0,5 | 4,9 \pm 0,4 | 4,8 \pm 0,6 | 5,8 \pm 0,4 |
| dichlormethan + chloroform (1 : 1) | 3,2 \pm 0,4 | 4,0 \pm 0,3 | 4,6 \pm 0,4 | 5,9 \pm 0,6 | 5,5 \pm 0,6 | 6,3 \pm 0,5 |



Obr. 1. Intenzitní distribuce velikosti nanočástic, 1,5% koncentrace polyvinylalkoholu: vliv typu PVA a typu organického rozpouštědla PDLA



Obr. 2. Intenzitní distribuce velikosti nanočástic, 3% koncentrace polyvinylalkoholu: vliv typu PVA a typu organického rozpouštědla PDLA

Tab. 5. Intenzitní distribuce velikosti nanočástic – výsledky analýzy rozptylu (ANOVA) pro 3² × 2 faktorový pokus

| | Stupeň volnosti | Střední kvadratická hodnota | F | p-stupeň | F _{krit} | Závěr (1 %) |
|-----------------------|-----------------|-----------------------------|-------|----------|-------------------|-------------|
| Rozpouštědlo (S) | 2 | 237400,8 | 24,14 | 2.24E-07 | 3,26 | S |
| PVA typ (T) | 2 | 323552,4 | 32,9 | 7.48E-09 | 3,26 | S |
| PVA koncentrace % (C) | 1 | 4304,4 | 0,44 | 0.512 | 3,26 | NS |
| S x T | 4 | 40431,2 | 4,11 | 0.008 | 2,63 | S |
| S x C | 2 | 664,2 | 0,07 | 0.935 | 3,26 | NS |
| T x C | 2 | 16589,3 | 1,69 | 0.199 | 3,26 | NS |
| S x T x C | 4 | 22812,3 | 2,32 | 0.076 | 2,32 | NS |
| V rámci skupin | 36 | 9834,6 | | | | |
| Celkově | 53 | 33353,5 | | | | |

NS – statisticky nevýznamný výsledek, S – statisticky významný výsledek

Tab. 6. Zeta potenciál nanočástic připravených z různých rozpouštědel PDLA a z různých typů polyvinylalkoholu

| | M10 | | M15 | | M20 | |
|------------------------------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | 1,5 % | 3,0 % | 1,5 % | 3,0 % | 1,5 % | 3,0 % |
| dichlormethan | -12,9 ± 0,1 | -7,9 ± 0,2 | -6,3 ± 0,2 | -3,3 ± 0,3 | -7,4 ± 0,2 | -3,3 ± 0,3 |
| chloroform | -13,6 ± 0,5 | -7,8 ± 0,1 | -6,4 ± 0,1 | -3,1 ± 0,1 | -7,6 ± 0,3 | -5,6 ± 0,4 |
| dichlormethan + chloroform (1 : 1) | -13,2 ± 0,2 | -9,1 ± 0,1 | -6,9 ± 0,3 | -2,6 ± 0,1 | -8,4 ± 0,4 | -3,6 ± 0,1 |

Tab. 7. Zeta potenciál nanočástic – výsledky analýzy rozptylu (ANOVA) pro 3² × 2 faktorový pokus

| | Stupeň volnosti | Střední kvadratická hodnota | F | p-stupeň | F _{krit} | Závěr (1 %) |
|-----------------------|-----------------|-----------------------------|--------|----------|-------------------|-------------|
| Rozpouštědlo (S) | 2 | 1,4 | 2,32 | 0,113 | 3,26 | NS |
| PVA typ (T) | 2 | 194,6 | 324,53 | 0 | 3,26 | S |
| PVA koncentrace % (C) | 1 | 262,2 | 437,1 | 0 | 3,26 | S |
| S x T | 4 | 0,2 | 0,41 | 0,801 | 2,63 | NS |
| S x C | 2 | 0,1 | 0,22 | 0,803 | 3,26 | NS |
| T x C | 2 | 4,8 | 8,00 | 0,001 | 3,26 | S |
| S x T x C | 4 | 0,5 | 0,77 | 0,555 | 0,77 | NS |
| V rámci skupin | 36 | 0,6 | | | | |
| Celkově | 53 | 13,0 | | | | |

NS – statisticky nevýznamný výsledek, S – statisticky významný výsledek

ší stabilizace pigmentových částic je pomocí nízkomolekulárního polyakrylátu sodného, oproti výše molekulárnímu polymeru rozpuštěném v méně polárním rozpouštědle.

Příčina vysoké variability distribuce velikosti částic připravených za pomoci směsi organických rozpouštědel dichlormethanu s chloroformem, je v nekontinuálním procesu distribuce rozpouštědla na mezifázi.

Účinnost 3 % PVA byla vyšší než účinnost systému s 1,5 % koncentrací polymerního tenzidu (obr. 2). Významný byl nárůst velikosti částic z 300 nm na 500 nm při dvojnásobném zvýšení koncentrace PVA 20. S rostoucí molekulovou hmotností PVA roste variabilita výsledků velikosti částic. Zároveň rostla velikost při použití chloroformu jako organického rozpouštědla. Proces solidifikace částic byl zpomalen silnější vrstvou na mezifázi a pomalejší distribucí rozpouštědla. Vznikaly tak částice s vyšší polydisperzitou.

Výsledky analýzy rozptylu potvrdily náš předpoklad (tab. 5). Velmi významný faktor ovlivňující velikost nanočástic je typ rozpouštědla jak PVA, tak PDLA. Mezi těmito dvěma faktory byla testována interakce prvního řádu, založená hlavně na vlivu použitého rozpouštědla pro systém s různým emulgátorem. Statisticky nevýznamným faktorem se ukázala být koncentrace tenzidu. Byl to překvapivý výsledek, protože viskozita a povrchové napětí se dle PVA koncentrace významně lišily.

Negativní náboj nanočástic (tab. 6) byl způsoben karboxylovými skupinami PDLA. Adsorpce výše molekulárního polyvinylalkoholu na povrch částic snižovala elektrokinetické vlastnosti částic mechanismem sférického stínění. Nanočástice připravené za použití 1,5 % PVA 10 vykazovaly maximální náboj. Stejný PVA 10 jen ve dvojnásobné koncentraci významně snížil zeta potenciál. PVA 15 a PVA 20 se chovaly kvalitativně stejně. Zeta potenciál nanočástic byl velmi silně ovlivněn změnami koncentrace polymeru. Pravděpodobně je to způsobeno hustotou adsorpční vrstvy na mezifázi. Změny v organickém rozpouštědle neovlivnily elektrokinetické parametry nanočástic.

Konečné výsledky analýzy rozptylu v plném třífaktorovém schématu jsou uvedeny v tabulce 7. Druh organického rozpouštědla PDLA logicky neovlivnil hodnoty zeta potencionálu. Zatímco oba faktory – druh a koncentrace PVA významně ovlivňují zeta potenciál.

ZÁVĚR

Byl dokázán významný rozdíl v parametrech distribuce velikosti částic připravených metodou rozdělávání a odpařování rozpouštědla v závislosti na složení vnější a vnitřní fáze.

Weberovo číslo založené na vztahu mezi stříhovým napětím a silou na mezifázi nepostačuje jako obecná charakteristika disperzního procesu dvou omezeně mísitelných kapalin. Dispergování a solidifikace částic probíhají současně.

LITERATURA

- Fahlman, B. D.:** Materials Chemistry. New York: Springer-Verlag 2007; 1, 282–283.
- Kreuter, J.:** Nanoparticles as drug delivery system. In: Nalwa HS, editor. Encyclopedia of nanoscience and nanotechnology. New York: American Scientific Publishers 2004; 7, 161–180.
- Salata, O. V.:** Applications of nanoparticles in biology and medicine. Journal of Nanobiotechnology 2004; 2, 1–6.
- Breunig, M., Bauer, S., Goepferich, A.:** Polymers and nanoparticles: Intelligent tools for intracellular targeting? European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2008; 68, 112–128.
- Allémann, E., Gurny, R., Doelker, E.:** Drug-loaded nanoparticles – preparation methods and drug targeting issues. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 1993; 39, 173–191.
- Gopal, E. S. R.:** Principles of emulsion formation. In: Sherman P, editor. Emulsion Science. New York: Academic Press 1968; 1–75.
- Walstra, P.:** Formation of emulsions. In: Becher P, editor. Encyclopedia of emulsion technology. Basic theory. New York: Marcel Dekker 1983; 1, 57–127.
- Gordon, C., Smith, K.:** Impact of Weber number on the behavior of an impinging water droplet; 2006. Available: <http://www.math.arizona.edu/~ksmith/LAB2006.pdf> via the INTERNET. Accessed 2010 Jun 10.
- Richard, D., Quere, D.:** Bouncing water droplets. Europhysical Letters 2000; 50, 769–755.
- Shinnar, R.:** On the behaviour of liquid dispersions in mixing vessels. Journal of Fluid Mechanics 1961; 10, 259–275.
- Madani, K., Friberg, S. E.:** Van der Waals interactions in three-phase emulsions. Progress in Colloid Polymer Science 1978; 65, 164–171.
- Li, J. K., Wang, N. M., Wu, X. S.:** Poly(vinylalcohol) nanoparticles prepared by freezing-thawing process for protein/peptide drug delivery. Journal of Controlled Release 1998; 56, 117–126.
- Feczko, T., Tóth, J., Gyenis, J.:** Comparison of the preparation of PLGA-BSA nano- and microparticles by PVA, poloxamer and PVP. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2007; 319, 188–195.
- Murakami, H., Kawashima, Y., Niwa, T., Hino, T., Takeuchi, H., Kobayashi, M.:** Influence of the degree of hydrolyzation and polymerization of poly(vinylalcohol) on the preparation and properties of poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticle. International Journal of Pharmaceutics 1997; 149, 43–49.
- Sahoo, S. K., Panyam, J., Prabha, S., Labhasetwar, V.:** Residual polyvinyl alcohol associated with poly(D,L-lactide-co-glycolide) nanoparticles affects their physical properties and cellular uptake. Journal of Controlled Release 2002; 82, 105–114.
- Tao, J.:** Effects of molecular weight and solution concentration on electrospinning of PVA [dissertation]. Worcester (United Kingdom): Worcester Polytechnic Institute 2003; 96 p. ed-0613103-130015.
- Zwick, M. M.:** The blue complexes of iodine with poly(vinylalcohol) and amylose. Journal of Polymer Science 1966; 4, 1642–1644.
- Lee, S. Ch., Oh, J. T., Jang, M., Chung, S. I.:** Quantitative analysis of polyvinyl alcohol on the surface of poly(lactide-co-glycolide) microparticles prepared by solvent evaporation method: effect of particle size and

- PVA concentration. *Journal of Controlled Release* 1998; 59, 123–132.
19. **Modaress, H., Nia, M. M., Mostafa, R.:** Viscosity measurements and modelling of aqueous polyvinyl alcohol mixtures. *Iranian Polymer Journal* 2005; 14, 181–184.
 20. **Misra, G. S., Mukherjee, P. K.:** The relation between the molecular weight and intrinsic viscosity of polyvinyl alcohol. *Colloid & Polymer Science* 1980; 258, 1435–1536.
 21. **Grishpun, V., Rudin, A.:** Measurement of Mark-Houwink constants by size exclusion chromatography with a low angle laser light scattering detector. *Die Makromolekulare Chemie, Rapid Communications* 1985; 6, 219–223.
 22. **Ray, A. M., Vert, M., Gautier, J. C., Benoit, J. P.:** Fate of [¹⁴C] poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles after intravenous and oral administration to mice. *International Journal of Pharmaceutics* 1994; 106, 201–211.
 23. **Zambaux, M. F., Bonneaux, F., Gref, R., Maincent, P., Dellacherie, E., Alonso, M. J., Labrude, P., Vigneron, C.:** Influence of experimental parameters on the characteristics of poly(lactic acid) nanoparticles prepared by a double emulsion method. *Journal of Controlled Release* 1998; 50, 31–40.
 24. **Mallet, A. S., Craig, R. L.:** The effect of molecular weight of sodium polyacrylate on pigment dispersion. *Tappi* 1977; 60, 101–104.

NOVÉ KNIHY

Kuželová, M., Kováčová, B., Švec, P.: **Farmakológia antiinfekčných liečiv.** Martin: Osveta 2009, 184 s. ISBN 978-80-8063-327-1.

Recenzované dielo je učebnicou pre farmaceutické fakulty v magisterskom štúdiu. Popisuje a rieši stav v jednej z najdôležitejších kapitol farmakológie, akou bezosporu antiinfekčné liečivá sú.

Jej obsah je rozdelený na dve časti.

V prvej všeobecnej autori po stručnej histórii, súčasných problémoch infektológie, patogenéze priebehu, mechanizmu účinku, popisujú zásady preventívneho a profylaktického používania liečiv včítane vakcín.

V rozsiahlej druhej, špeciálnej časti potom popisujú antivirotiká, antibakteriálne liečivá, antimykotiká a anti-protozoiká. Osobitný zreteľ sa v tejto časti kladie na princípy terapie infekčných ochorení.

V závere diela je uvedený prehľadný zoznam antimikrobiálnych liečiv, ktoré sú u nás registrované, ďalej ich zaradenie podľa ATC klasifikácie a indikačných podskupín a literatúra, z ktorej autori čerpali a i ktorú doporujú na ďalšie štúdium.

Informácie o jednotlivých liečivách začínajú ich stručnou charakteristikou, popisom ich farmakodynamických vlastností, mechanizmom pôsobenia a pokračujú popisom farmakokinetických vlastností, nežiadúcich účinkov a ich terapeutickom použití.

Z analýzy týchto informácií možno konštatovať, že sú zhrnuté komplexne.

V ostatnom čase došlo do značnej miery k získaniu kľúčových informácií o mechanizme účinku liečiv, a tým i ich možnosti interpretovaní na molekulovej úrovni. Táto skutočnosť sa v plnej miere odrazila aj v tomto diele.

Analýza obsahu, formy a interpretácie ako i výberu informácií o popisovaných liečivách ukazuje, že učebnica je napísaná logicky, prehľadne s popisom tých najdôležitejších informácií.

Ich osvojením si získa študent prehľad o súčasnom stave farmakológii antiinfekčných liečiv.

Na základe komplexného posúdenia tohto diela som presvedčený, že je obohatením študijnej literatúry nielen pre farmaceutické, ale i pre lekárske fakulty.

J. Čižmárik