

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické technologie

**VLIV INKORPORACE LÉČIV NA TEPLITU
SKELNÉHO PŘECHODU VĚTVENÝCH
POLYESTERŮ**

RIGORÓZNÍ PRÁCE

Hradec Králové 2014

Mgr. Veronika Bucharová

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové dne:

Podpis:

Děkuji konzultantce PharmDr. Evě Šnejdrové, Ph.D. za hodnotné rady a všestrannou pomoc.

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické technologie

Jméno a příjmení: **Mgr. Veronika Bucharová**

Název rigorózní práce: **Vliv inkorporace léčiv na teplotu skelného přechodu větvených polyesterů**

Konzultantka: **PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.**

Rigorózní práce se zabývá studiem vlivu inkorporace léčiv na teplotu skelného přechodu větvených polyesterů. Použity byly hvězdicovité kopolymery kyseliny D,L-mléčné a kyseliny glykolové větvené 1 %, 3 % nebo 5 % tripentaerythritolu v reakční směsi. Metodou rozpouštění polyesterů ve vhodném rozpouštědle byly inkorporovány léčivé látky (aciklovir, flukonazol, mikonazol, terbinafin base a terbinafin hydrochlorid). K rozpouštění byl použit methylester kyseliny mravenčí. Teoretická část práce je věnována lineárním a větveným polyesterům, inkorporaci léčiva do polymeru a jejich vzájemným interakcím a vlastnostem a využití v práci použitých léčivých látek. V experimentální části byla metodou DSC měřena teplota skelného přechodu polyesterů obsahujících 50 % inkorporovaného léčiva. Po inkorporaci acikloviru, flukonazolu a mikonazolu bylo pozorováno snížení teploty skelného přechodu matric. V případě matrice obsahující 50 % mikonazolu bylo dosaženo viditelných změn struktury. Matrice jsou pružnější, při pokojové teplotě se vyskytují ve stavu kaučukovitém. Hodnoty T_g se pohybují kolem 10 °C. Mikonazol v polyesterových nosičích funguje jako plastifikátor a v 50% koncentraci ho pravděpodobně lze úspěšně inkorporovat do všech tří testovaných polyesterů. Naopak inkorporací 50 % base terbinafinu a terbinafinu hydrochloridu do polyesterových matric dochází ke zvýšení T_g až o 10 °C. To by mohlo svědčit o možné krystalizaci léčiva z matrice. Inkorporace takového množství terbinafinu base a terbinafinu hydrochloridu do matric tvořených 1T, 3T nebo 5T tedy není vhodná.

Abstract

Charles University in Prague
Faculty of Pharmacy in Hradec Králové
Department of Pharmaceutical Technology

Name of student: **Mgr. Veronika Bucharová**

Title of rigorous thesis: **The effect of the incorporation of drugs on the glass transition temperature of branched polyesters**

Consultant: **PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.**

This rigorous thesis is focused on a study of the effect of the incorporation of drugs on the glass transition temperature of branched polyesters. For this experiment were used star-shaped copolymers of D,L-lactic and glycolic acid branched with 1 %, 3 % and 5 % tripentaerythritol in the reaction mixture. The way used for the incorporation of the drugs (aciclovir, fluconazole, miconazole, terbinafine basis and terbinafine hydrochloride) was based on dissolving the polyester in a suitable solvent. Methyl formate was used for dissolution. The theoretical part is devoted to linear and branched polyesters, incorporation of the drug into the polymer and the interactions between polyester and drug. Properties and application of the drugs used in the experiment were also mentioned. In the experimental part the glass transition temperature of polyesters containing 50 % of incorporated drug was measured by DSC. The decrease of the glass transition temperature of matrices was proved by incorporation of 50 % aciclovir, fluconazole and miconazole. In the case of matrix containing 50 % miconazole the structure underwent noticeable changes. The matrices are more flexible and their form at room temperature is rubbery. T_g values are around 10 °C. Miconazole in the polyester carriers is on the position of a plasticizer and its 50% concentration can be probably successfully incorporated into all three tested polyesters. On the contrary the incorporation of 50 % terbinafine basis and terbinafine hydrochloride into polyester matrices increases T_g up to 10 °C. This fact could indicate possible crystallization of the drug from the matrix. So it's not really adequate to incorporate this volume of terbinafine basis and terbinafine hydrochloride into matrices consisted of 1T, 3T and 5T.

Obsah

Abstrakt.....	4
Abstract.....	5
Obsah.....	6
1 Zadání práce.....	7
2 Úvod.....	8
3 Seznam použitých zkratk a symbolů.....	9
4 Teoretická část.....	10
4.1 Polymerní nosiče léčiv – PLGA a větvené PLGA.....	10
4.2 Skelný přechod a plastifikace.....	12
4.3 Inkorporace léčiva do polymeru.....	12
4.4 Interakce polymeru s inkorporovaným léčivem.....	13
4.5 Inkorporovaná léčiva.....	15
4.5.1 Aciklovir.....	15
4.5.2 Flukonazol.....	16
4.5.3 Mikonazol.....	18
4.5.4 Terbinafin.....	19
5 Experimentální část.....	21
5.1 Seznam použitých surovin.....	21
5.2 Seznam použitých přístrojů.....	21
5.3 Příprava baze terbinafinu.....	21
5.4 Inkorporace léčiva do polyesterových nosičů.....	22
5.5 Příprava vzorků pro měření na DSC.....	23
5.6 Termická analýza.....	23
5.7 Vyhodnocení měření.....	24
6 Výsledky.....	25
6.1 Termické charakteristiky polyesterů a léčivých látek.....	25
6.2 Teploty skelného přechodu polyesteru 1T bez léčiva a s léčivem.....	27
6.3 Teploty skelného přechodu polyesteru 3T bez léčiva a s léčivem.....	30
6.4 Teploty skelného přechodu polyesteru 5T bez léčiva a s léčivem.....	34
7 Diskuze.....	38
8 Závěr.....	42
9 Seznam použité literatury.....	43

1 Zadání práce

Zadáním rigorózní práce bylo studium vlivu inkorporace léčiv do matric tvořených větvenými polyestery na teplotu skelného přechodu. Zadání je formulováno v následujících bodech:

1. Připravit matrice metodou rozpouštění polyesterů ve vhodném rozpouštědle.
2. Použít polyestery kyseliny mléčné a glykolové větvené tripentaerythritolem.
3. K rozpouštění polyesterů použít methylester kyseliny mravenčí a odstranit ho sušením matric ve vakuové sušárně po dobu 9 – 12 dnů.
4. Inkorporovat léčiva v koncentraci 50 % (aciklovir, flukonazol, mikonazol, terbinafin bazi a terbinafin hydrochlorid).
5. Provést termickou analýzu s cílem určit teplotu tání léčivých látek, teplotu skelného přechodu větvených polyesterů před rozpouštěním v rozpouštědle a po rozpouštění následovaném sušením a teplotu skelného přechodu polyesterových matric s obsahem 50 % jednotlivých léčivých látek.

2 Úvod

Tato práce navazuje na diplomové a rigorózní práce zabývající se termickými vlastnostmi polyesterů použitých ve funkci nosičů léčiv.^[1,2] Polyestery jsou v současnosti široce využívané látky. Ve farmaceutickém průmyslu se uplatňují například při výrobě obalů, potahování tablet či jako nosiče léčiv u léků s řízeným uvolňováním léčivých látek. V naposledy zmiňované funkci jsou využívány rovněž lineární kopolymery kyseliny D,L-mléčné a kyseliny glykolové (PLGA) a jejich větvené formy, které mají jako nosiče léčiv výhodnější vlastnosti. V této práci byly použity polyestery větvené tripentaerythritolem v koncentraci 1 %, 3 % a 5 % v reakční směsi. Vyšší koncentrace již není vhodná z důvodu tvorby molekul s krátkými, nebo nestabilními řetězci. Při inkorporaci léčiv do polyesterů dochází v závislosti na koncentraci léčiva ke změně fyzikálně-chemických vlastností, které mohou ovlivňovat rychlost uvolňování léčivých látek z matrice.

Cílem práce je zjistit změnu termických vlastností polyesterových matric, které obsahují 50 % léčiva ve směsi. Pro experiment bylo vybráno 5 léčivých látek – aciklovir, flukonazol, mikonazol, terbinafin baze a terbinafin hydrochlorid. 50% koncentrace léčivé látky v polyesterové matrici byla zvolena na základě výsledků předcházejících prací^[1,2] s cílem nalézt nejvyšší koncentraci léčivé látky, kterou by bylo možné do polyesterů inkorporovat.

3 Seznam použitých zkratek a symbolů

1T – polyester kyseliny mléčné a glykolové větvený 1 % tripentaerythritolu v reakční směsi

3T – polyester kyseliny mléčné a glykolové větvený 3 % tripentaerythritolu v reakční směsi

5T – polyester kyseliny mléčné a glykolové větvený 5 % tripentaerythritolu v reakční směsi

ACV – aciklovir

DSC – diferenciální skenovací kalorimetrie

FLU – flukonazol

MIC – mikonazol

PGA – poly(glykolová kyselina)

PLA – poly(D,L-mléčná kyselina)

PLGA – kopolymer kyseliny D,L-mléčné a kyseliny glykolové

T_g – teplota skelného přechodu

T_{max} – teplota tání

TRB B – terbinafin baze

TRB HCl – terbinafin hydrochlorid

4 Teoretická část

4.1 Polymerní nosiče léčiv – PLGA a větvené PLGA

Poly(laktidy-co-glykolidy) (PLGA) jsou široce využívané polyestery. Uplatnění nacházejí nejen jako vstřebatelný šicí materiál, ale také ve farmaceutickém průmyslu jako nosiče léčiv. Po aplikaci do organismu vyvolávají jen minimální zánětlivou odpověď a hydrolyzou esterových vazeb degradují za tvorby biokompatibilní kyseliny mléčné a kyseliny glykolové.^[3] Jedná se tedy o bezpečné pomocné látky vhodné pro tvorbu biodegradabilních implantátů a dalších lékových forem s řízeným uvolňováním léčiv.

Na schopnost formulace PLGA jako nosičů léčiv mají vliv fyzikální vlastnosti jako je molekulová hmotnost a stupeň polydisperzity. Spolu s vlastnostmi inkorporovaných léčivých látek ovlivňují rychlost degradace a uvolňování léčiv. Mechanická pevnost, hydrolyza a následně rychlost biodegradace jsou přímo ovlivněny stupněm krystalinity PLGA. Krystalinita je závislá na typu a molárním poměru jednotlivých monomerních složek v řetězci kopolymeru. Kyselina mléčná je chirální látka a vyskytuje se tedy ve dvou formách. Polymer tvořený L-formou (PLLA) může mít vysoce krystalickou strukturu, zatímco polymer tvořený D-formou (PDLA) je v důsledku neuspořádaných polymerních řetězců zcela amorfní. V praxi se využívá jejich racemická směs – polymer kyseliny D,L-mléčné (PLA). Polymer kyseliny glykolové (PGA) vykazuje velmi krystalickou strukturu. Při kopolymeraci s kyselinou mléčnou snižuje stupeň krystalinity PLGA, a to vede ke zvýšení rychlosti hydratace a hydrolyzy. Vyšší obsah PGA vede k urychlení degradace s výjimkou poměru 50:50 PLA/PGA, který vykazuje nejrychlejší degradaci.^[4-8]

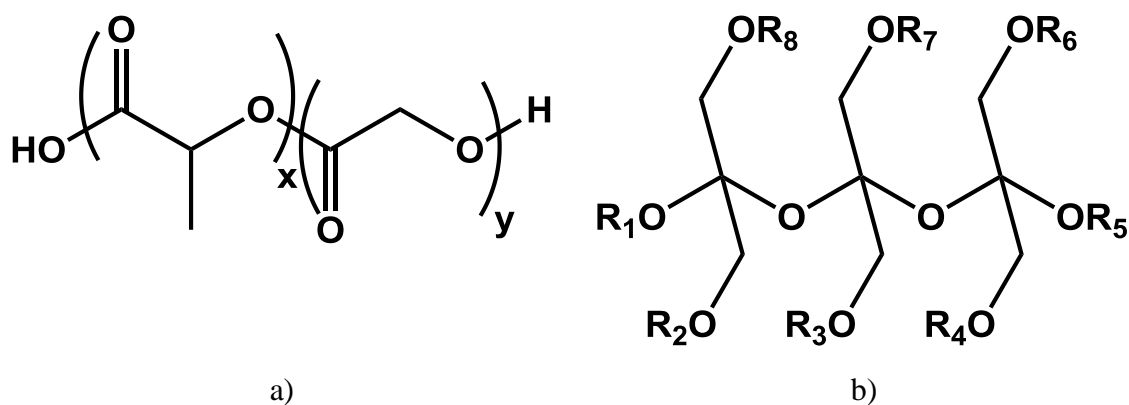
Kromě nižší krystalinity lze rychlost degradace PLGA a následné uvolňování léku urychlit vyšší hydrofilitou. PLA je díky přítomnosti methylových skupin v postranním řetězci více hydrofobní než PGA. Proto jsou PLGA s vysokým podílem PLA méně hydrofilní, absorbují méně vody a jsou degradovány v menší míře.^[6,8]

PLGA je prezentován jako nejčastěji používaný polymer využívaný jako nosič pro řízené uvolňování léčiv. Může být použit při přípravě různých lékových forem s řízeným uvolňováním léčiv, např. mikročástic, matric, volných membrán nebo implantátů *in situ*.^[9]

Polykondenzační reakcí α -hydroxykyselin s vícetytnými alkoholy nebo cukry, např. mannitol, glukosa, polyvinylalkohol nebo pentaerythritol, vznikají polyestery s větvenými molekulami. Ty mají jako nosiče léčiv ještě výhodnější vlastnosti než lineární polyestery. Větvené PLGA obsahují více terminálních hydroxylových skupin, které mohou vázat větší množství léčivých látek, takže se zvyšuje kapacita polymeru pro inkorporaci léčiva a účinnost inkorporace. Větvené kopolymery PLGA s nižším podílem kyseliny mléčné a s nižší molární hmotností také méně bobtnají, což vede k výhodnější kinetice uvolňování inkorporovaných léčivých látek.^[10,11]

Vlastnosti větvených polyesterů se liší použitou větvicí složkou i její koncentrací. V této práci byl ve funkci nosiče léčiv použit polyester PLGA s tripentaerythritolem jako větvicí složkou. Zvýšením koncentrace tripentaerythritolu z 1 % na 3 % roste molární hmotnost polyesteru i stupeň větvení. Při použití 5% koncentrace tripentaerythritolu se molární hmotnost i stupeň větvení naopak snižují. Tato změna je pravděpodobně způsobena vlivem přebytku hydroxylových skupin. Tripentaerythritol je polyol, který má osm reaktivních míst a tvoří větvené polyestery s hvězdicovitou strukturou.^[12] Na Obr. 1 je uveden vzorec lineárního PLGA a schéma hvězdicovité struktury PLGA větveného na centrální molekule tripentaerythritolu.

Obr. 1: **a)** Vzorec lineárního poly(laktid-co-glykolidu) (PLGA) a **b)** hvězdicovitě větvená struktura terpolymeru kyseliny mléčné, kyseliny glykolové a tripentaerythritolu. $R_1 - R_8$ představují větve PLGA.^[13]



4.2 Skelný přechod a plastifikace

Jednou z důležitých vlastností, kterou lze u polymerů hodnotit, je teplota skelného přechodu (T_g). Polymery mají při teplotě pod T_g vysoce viskózní, tvrdou a křehkou strukturu. Tomuto stavu se říká skelný stav. Jako skelný přechod se označuje přechod mezi sklovitým stavem a kaučukovitým stavem, kdy je polymer méně viskózní a více mobilní. Struktura polymeru v kaučukovitém stavu je podobná kapalině a vyznačuje se vysokou molekulární mobilitou a větší náchylností k fyzikálním a chemickým změnám.^[14] Ke skelnému přechodu dochází, pokud je v systému dostatek tepelné energie, který umožní rozkmitat celou sekvenci 6-10 uhlíků hlavního řetězce.^[15]

Smísení polymeru s jinou látkou může zapříčinit změny v hodnotách T_g . Dochází-li po přidání látky ke snížení hodnoty T_g a zvýšení pružnosti a mobility polymeru, hovoříme o plastifikaci.^[14] Vodíkové vazby vytvářející se mezi polymerem a plastifikátorem oslabují intermolekulární vazby polymerních řetězců a zvyšují mobilitu řetězce. Plastifikátory takto snižují křehkost, zvyšují pevnost a dodávají pružnost polymeru.

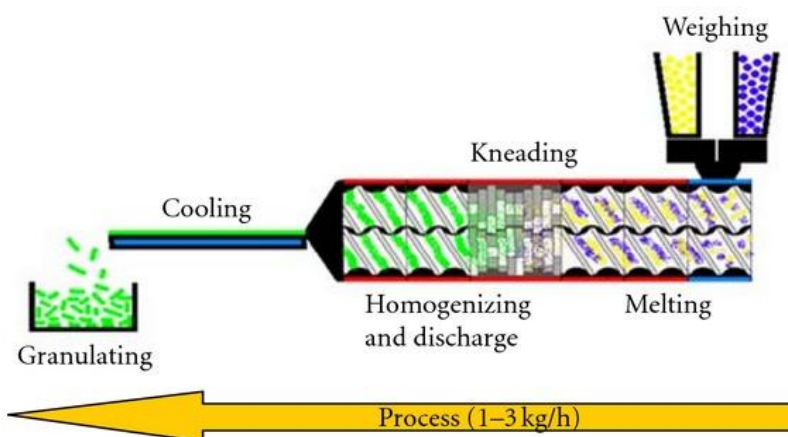
Existuje velké množství látek, které lze použít k plastifikaci v chemickém průmyslu. Pro farmaceutické účely lze však využít pouze schválené, zdravotně nezávadné plastifikátory. Jako plastifikátory fungují také léčivé látky, které se při tvorbě polymerní matrice zabudují do polymerní sítě.^[16] Vhodným výběrem plastifikátoru a polymerního nosiče lze ovlivnit farmakokinetické vlastnosti léku a stabilitu léku během uchovávání. Rozpustnost léčivé látky v polymeru a jejich vzájemné interakce jsou tedy důležité parametry pro formulaci léku.^[15] Jelikož se vzájemné interakce projeví změnou T_g , lze je hodnotit pomocí diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC).

4.3 Inkorporace léčiva do polymeru

Léčivo lze do polymerní matrice inkorporovat dvěma odlišnými způsoby – metodou rozpouštění ve vhodném rozpouštědle, nebo extruzí tavením.

Extruze tavením je metoda spočívající ve vytlačování směsi surovin do produktu jednotného tvaru při kontrolované teplotě a tlaku. Směs pomocných a léčivých látek se prostřednictvím násypky dopraví do extrudéru, kde dochází k tavení a důkladné homogenizaci. Výsledná hmota je protlačována otvorem z extrudéru a po ochlazení se dále zpracovává.^[17] Schematické znázornění procesu je uvedeno na Obr. 2.

Obr. 2: Schematické znázornění extruze tavením^[18]



Zpracování touto metodou umožňuje zvýšit rozpustnost a biologickou dostupnost ve vodě nerozpustných léčivých látek bez použití rozpouštědel. Nejedná se však o postup vhodný pro všechna léčiva. Mezi zásadní nevýhody metody patří možnost degradace léčiva při zvýšené teplotě potřebné k roztavení polymeru, nebo vykristalizování léčivé látky po ochlazení směsi.^[19-21]

Pro použití metody rozpouštění k inkorporaci léčiv do polymeru je třeba najít vhodné rozpouštědlo, ve kterém bude dobře rozpustný polymer i léčivá látka. Léčivo se přidává k předem rozpuštěnému polymeru a po důkladné homogenizaci se rozpouštědlo nechá odpařit.^[22] Při použití této metody odpadá teplotní zatížení inkorporovaného léčiva. Postup lze tedy využít i u termolabilních látek. Určitý problém však mohou představovat zbytky použitých rozpouštědel v matrici. Limitní množství pro zbytková rozpouštědla jsou uvedena v Pokynu pro zbytková rozpouštědla jako nečistoty, který přijala Mezinárodní konference o harmonizaci požadavků pro registraci léčivých přípravků pro humánní použití (ICH).^[23]

4.4 Interakce polymeru s inkorporovaným léčivem

Vzájemné interakce polymerního nosiče a léčiva ovlivňují fyzikálně-chemické vlastnosti výsledného produktu a mohou způsobit změnu v průběhu uvolňování léčivé látky z matrice. Jejich pochopení a výzkum je tedy při formulaci léčiv s řízeným uvolňováním velmi důležitý. V literatuře jsou tyto interakce dobře popsány např. u nesteroidních antiflogistiketoprofenů^[22] a ibuprofenu nebo konzervační látky

methylparabenu.^[16] U zkoumaných směsí byla pomocí DSC hodnocena změna teploty skelného přechodu v závislosti na koncentraci inkorporované látky. V případě ketoprofenu byl jako polymerní nosič použit PLGA, u ibuprofenu a methylparabenu byly hodnoceny interakce s Eudragitem[®] RS 30 D, což je poly(ethylakrylát methylnmethakrylát trimethylammonioethyl methakrylát chlorid).^[16,22]

Matrice tvořené Eudragitem[®] RS 30 D a methylparabenem či ibuprofenem v koncentracích 5, 10, 15, 20 a 25 % byly měřeny pomocí DSC při následujícím teplotním režimu: ohřev od -20 °C do 80 °C rychlostí 10 °C/min. Interakce mezi Eudragitem[®] RS 30 D a inkorporovanou látkou se projeví změnou hodnoty T_g . Dochází k tvorbě vodíkových vazeb mezi látkou a polymerem, oslabení původních vazeb mezi polymerními řetězci, a polymerní matrice se stává měkčí a pružnější. Hodnota T_g se snižuje se stoupající koncentrací ibuprofenu či methylparabenu v matrici. Zároveň dochází ke snižování rychlosti uvolňování inkorporované látky z matrice. Popsané změny jsou patrné pouze do určité koncentrace inkorporované látky v polymeru.^[16] Po překročení této koncentrace dochází k nasycení, další molekuly se již nemohou k polymeru vázat a může docházet k rekrystalizaci látky z matrice.^[15]

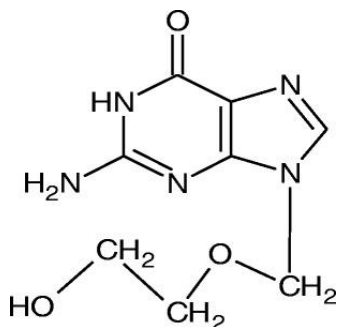
Změny v hodnotách T_g jsou patrné i v případě směsi PLGA a různých koncentrací ketoprofenu (5, 10, 20, 35 a 50 % ketoprofenu v matrici). Polyesterová matrice byla zhotovena metodou rozpouštění polymeru a léčiva ve vhodném rozpouštědle – zde byl použit dichlormethan. Takto připravené vzorky byly nejprve v prvním cyklu měření na DSC ohřívány z 0 °C na 80 °C rychlostí 5 °C/min a poté v druhém cyklu stejnou rychlostí z 0 °C na 140 °C. Účelem prvního cyklu je vymazání termo-mechanické historie polymeru, proto byla hodnota T_g určována z druhého cyklu ohřevu. Obdobně jako v předchozím případě se i ketoprofen váže k PLGA pomocí vodíkových vazeb. Vodík z karboxylové skupiny ketoprofenu se váže na karbonylový kyslík PLGA. Tyto interakce jsou zodpovědné za plastifikační efekt ketoprofenu. Ketoprofen interakcí s PLGA naruší interakce mezi polymerními řetězci, zvýší se mobilita řetězců a dojde ke snížení T_g . Snižování T_g ovšem probíhá opět pouze do určité koncentrace ketoprofenu v polymeru. Při vysokém obsahu ketoprofenu v matrici dochází ke sdružování molekul léčiva do dimerů a tvoří se krystaly. Ketoprofen již dále neinteraguje s polymerní matrix a T_g se zvyšuje.^[22,24]

Odlišný příklad ukazuje směs Eudragitu[®] RS 30 D s theofylinem. Theofylin je s Eudragitem[®] RS 30 D nemísitelný, neinteraguje s ním, a ke změnám T_g tudíž nedochází.^[16]

4.5 Inkorporovaná léčiva

4.5.1 Aciklovir

Obr. 3: Chemická struktura acikloviru^[25]



Aciklovir je guanin-nukleosidové antivirotikum používané v terapii infekcí způsobených herpetickými viry. Ve virem infikovaných buňkách se nejprve pomocí virové thymidinkinázy přeměňuje na aciklovir monofosfát a poté kinázami hostitelské buňky na aktivní metabolit aciklovir trifosfát. Ten pak inhibuje replikaci virové DNA.

Uplatnění aciklovir nachází především v léčbě infekcí způsobených virem herpes simplex 1 (např. herpes labialis) a herpes simplex 2 (např. genitální herpes). Citlivý na jeho působení je také virus Epstein-Barrův, cytomegalovirus a varicella-zoster virus.

Biologická dostupnost acikloviru po perorálním podání je variabilní a nízká (asi 15 – 20 %). Plazmatický poločas je asi 3 – 4 hodiny, což vyžaduje časté dávkování léčiva.^[26,27]

Aciklovir je bílý nebo téměř bílý krystalický prášek s teplotou tání 256,5 – 257,0 °C. Je rozpustný ve zředěných roztocích minerálních kyselin a alkalických hydroxidů a snadno rozpustný v dimethylsulfoxidu. Ve vodě je rozpustný pouze těžce a velmi těžce v ethanolu.^[28,29]

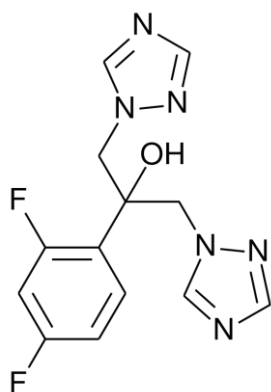
K profylaxi i léčbě herpetických infekcí lze aciklovir podávat perorálně, topicky nebo v intravenózních injekcích. Perorální tablety dostupné na českém trhu obsahují

200 mg, 400 mg, nebo 800 mg účinné látky. K intravenóznímu podání slouží prášek pro přípravu infuzního roztoku. Obsahuje 250 mg acikloviru v jedné injekční lahvičce. Obsah lahvičky se před použitím rekonstruuje 10 ml vody na injekci nebo fyziologického roztoku chloridu sodného a dále se pak ředí minimálně 50 ml fyziologického roztoku chloridu sodného nebo Hartmannova roztoku. V lokální léčbě je k dispozici volně prodejný 5% krém s aciklovirem nebo kombinovaný přípravek s přidavkem hydrokortizonu v koncentraci 10 mg/g krému. Pro léčbu keratitidy způsobené infekcí virem herpes simplex je určena 3% oční mast.^[30]

Velkou nevýhodou acikloviru je již dříve zmiňovaná špatná biologická dostupnost po perorálním podání. Tento problém je možné vyřešit zpracováním léčiva do lipofilních vezikulárních struktur – liposomů a niosomů. Niosomy jsou váčky obsahující neiontové povrchově aktivní látky. Při zpracování acikloviru do niosomů bylo dosaženo více než dvojnásobného zvýšení biologické dostupnosti po perorálním podání léčiva. Na tomto zvýšení se podílí lipofilní charakter niosomální formulace, přímý účinek neiontové povrchově aktivní látky na propustnost membrány gastrointestinálního traktu a dlouhodobá lokalizace léčiva v místě absorpce v důsledku zapouzdření léčiva do hlubších vrstev sliznice.^[31]

4.5.2 Flukonazol

Obr. 4: Chemická struktura flukonazolu^[32]



Flukonazol je bis-triazolový derivát propanolu patřící do skupiny azolových antimykotik. Jako u ostatních antimykotik z této skupiny spočívá jeho mechanismus účinku v inhibici syntézy ergosterolu prostřednictvím blokady cytochromu P450, který

je potřebný k přeměně lanosterolu na ergosterol. Tím je znemožněna syntéza buněčné stěny mikromycetů.

Spektrum účinku flukonazolu zahrnuje kandidy, kryptokoky, dermatofyty, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* a další. Neúčinkuje na aspergily a zygomycety.

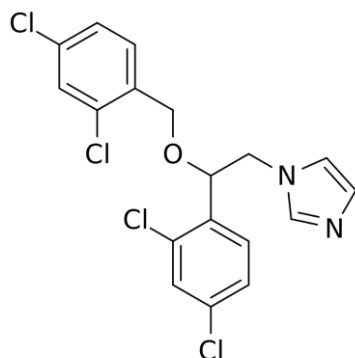
Po perorálním podání se flukonazol dobře vstřebává a plazmatické hladiny jsou podobné jako při intravenózní aplikaci. Má nízkou vazbu na bílkoviny plazmy (asi 11 – 12 %) a dobře proniká do tělesných tekutin a tkání. Koncentrace ve slinách a sputu jsou podobné jako v plazmě a v likvoru dosahují 80 % plazmatické hladiny. Vyšší koncentrace než v plazmě je v kůži a nehtech, kde se flukonazol dlouhodobě ukládá. Biologický poločas je 20 – 30 hodin a exkretován je převážně ledvinami.^[26]

Flukonazol je bílý nebo téměř bílý hygroskopický krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, rozpustný v organických rozpouštědlech jako je chloroform nebo propylenglykol. Snadno rozpustný je v methanolu, dobře rozpustný v acetonu. Teplota tání flukonazolu se pohybuje mezi 138 – 140 °C.^[33,34]

K léčbě i profylaxi mykotických infekcí je v České republice k dispozici ve formě tvrdých tobolek s obsahem 50 mg, 100 mg, nebo 150 mg flukonazolu v jedné tobolce a ve formě infuzního roztoku o koncentraci 2 mg/ml.^[30] Vzhledem k možným nežádoucím účinkům (gastrointestinální obtíže, bolesti hlavy, kožní exantém) a četným interakcím je snaha zvolit vhodnou lékovou formu pro lokální podání. Možnou alternativou pro léčbu mykotických onemocnění kůže se jeví hypromelosový gel s 1% obsahem flukonazolu. V práci egyptských vědců vykazoval vhodnou roztíratelnost a viskozitu, dobré uvolňování léčiva i antifungální efekt.^[35] Jinou studovanou možností je mikroemulze o složení: CRH 40 (ethoxylovaný hydrogenovaný ricinový olej) 15,0 g, ricinový olej 5,0 g, propylenglykol/Transcutol P[®] 10,0 g, karmelosa sodná sůl 3,0 g a čišťená voda ad 100,0 g. Přičemž mikroemulze, kde jako rozpouštědlo pro flukonazol a zároveň urychlovač transdermální penetrace byl použit Transcutol P[®] (diethylenglykolmonoethylether, 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol) zajišťovala vyšší antifungální aktivitu než mikroemulze s propylenglykolem.^[36]

4.5.3 Mikonazol

Obr. 5: Chemická struktura mikonazolu^[37]



Mikonazol je dalším léčivem ze skupiny azolových antimykotik. Jeho chemická struktura je na rozdíl od triazolového derivátu flukonazolu odvozena od imidazolu. Antimykotický účinek je rovněž způsoben inhibicí biosyntézy ergosterolu a následným zabráněním syntézy buněčné stěny.

Mikonazol působí na široké spektrum patogenních hub (účinkuje na dermatofyty, kandidy, kryptokoky, některé aspergily, dimorfní houby, různé plísně a aktinomycety) a prokázaný efekt má i proti některým grampozitivním bakteriím (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*).

Vazba na bílkoviny krevní plazmy je vysoká (více než 90 %), biologický poločas je v literatuře uváděn 23 hodin. Metabolismus tohoto antimykotika probíhá v játrech a vylučován je z větší části (více než 80 – 85 %) do střeva, zbylé metabolity jsou pak vylučovány ledvinami do moči.^[26,38]

Jedná se o bílý nebo téměř bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě. Snadno rozpustný je např. v ethanolu 96 %, isopropylalkoholu nebo propylenglykolu. Rozpustnost ve vodě se zvyšuje v kyselém pH, stabilitu si zachovává v rozmezí pH 3 – 10 a teplota tání mikonazolu se pohybuje mezi 83 °C až 87 °C.^[23,39]

Vzhledem k jeho nežádoucím účinkům (gastrointestinální obtíže, alergické reakce až anafylaktický šok) se ustoupilo od jeho systémového podávání. Ve formě kožních roztoků, orálního gelu, bukáních tablet, krémů a past lze mikonazol v HVLV přípravcích nalézt pouze v zahraničí. V České republice je obsažen jen ve vaginálních tabletách určených k lokální léčbě urogenitální trichomoniázy a/nebo kandidózy. V tomto přípravku je ve formě mikonazol nitrátu (100 mg v 1 tabletě) v kombinaci se stejným

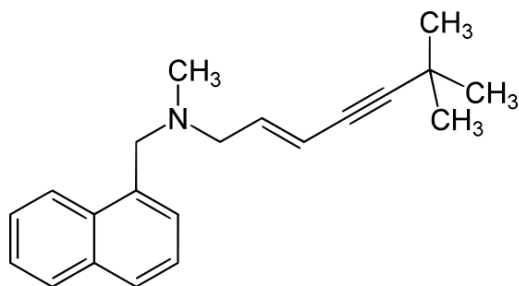
obsahem metronidazolu.^[30,39] V současnosti je mikonazol na trhu k dispozici jako surovina pro individuální přípravu léčiv. Lze ho tedy i v České republice využít k léčbě mykotických a smíšených bakteriálních infekcí kůže a sliznic. Jako příklad lze uvést recepturu převzatou z belgického Therapeutisch Magistraal Formularium na 2% orální gel s mikonazolem.

Rp.	Miconazoli	2,0
	Hypromellosi 4000	3,0
	Glyceroli 85 %	17,0
	Menthae piperitae etherol.	gtt II (duas)
	Aq. cons.	ad 100,0

Gel je možné využít již od 4 měsíců věku k léčbě a profylaxi kandidóz orofaryngeální dutiny a gastrointestinálního traktu.^[40]

4.5.4 Terbinafin

Obr. 6: Chemická struktura terbinafinu^[41]



Terbinafin je antimykotikum ze skupiny allylaminů. Ve fugální buňce blokuje enzym skvalenepoxidázu, čímž dochází k inhibici přeměny skvalenu na lanosterol a kumulaci toxického skvalenu uvnitř buňky.

Účinný je na dermatofyty, kvasinky, dimorfní houby, *Dematiaceae* spp. a některé parazity (např. *Trypanosoma Cruzii*). Přičemž vykazuje vyšší efekt při léčbě infekcí způsobených vláknitými formami hub, než při léčbě kvasinkových infekcí.

Po perorálním podání se dobře vstřebává a váže se na plazmatické bílkoviny (až 99 %). Je vysoce lipofilní a ireverzibilně se váže na keratin. Vytváří tak depo v kůži a jejích adnexech, čehož se využívá při terapii. Biologický poločas je 16 hodin, ale v tkáních

zachovává fungicidní koncentrace ještě 3 týdny po léčbě. Exkretován je z větší části ledvinami a asi 20 % se vylučuje biliární cestou.^[25]

Terbinafin hydrochlorid je jemný bílý nebo téměř bílý krystalický prášek s teplotou tání 204 °C – 208 °C. Snadno se rozpouští v methanolu a dichlormethanu, dobře v ethanolu. Ve vodě je slabě rozpustný a těžce rozpustný v acetonu.^[41,42]

V léčivech dostupných na českém trhu je terbinafin obsažen ve formě hydrochloridu. 1 mg terbinafinu je přibližně roven 1,1 mg terbinafinu hydrochloridu. K dispozici jsou perorální neobalené tablety s obsahem 250 mg terbinafinu a dále 1% lokální lékové formy – krémy, roztok a sprej. Topické podání se využívá v léčbě kožních infekcí způsobených dermatofyty. Perorální tablety se používají při závažnějších a rozsáhlejších infekcích a v léčbě onychomykózy. Z nežádoucích účinků se mohou objevit gastrointestinální potíže, kožní exantém, ztráta chuti (nejdříve na slané, později na sladké podněty) a zvýšené hodnoty jaterních testů.^[25,29] Vzhledem k nežádoucím účinkům systémově podávaného terbinafinu je snaha vyvinout účinnou lokální lékovou formu i k léčbě onychomykózy. Vhodná léková forma musí být schopná překonat bariéru, kterou nehet tvoří. Jako slibná forma se jeví gely, které obsahují terbinafin hydrochlorid zabudovaný v liposomech.^[43]

5 Experimentální část

5.1 Seznam použitých surovin

1T polyester PLGA větvený 1 % tripentaerythritolu v reakční směsi (FaF HK)

3T polyester PLGA větvený 3 % tripentaerythritolu v reakční směsi (FaF HK)

5T polyester PLGA větvený 5 % tripentaerythritolu v reakční směsi (FaF HK)

Aciklovir (Pliva Lachema)

Flukonazol (Pliva Lachema)

Methylester kyseliny mravenčí (ALDRICH)

Mikonazol (Fagron)

Terbinafin hydrochlorid (Zentiva)

5.2 Seznam použitých přístrojů

DSC 200 F3 Maia[®] – diferenciální skenovací kalorimetr

- Výrobce: NETZSCH Gerätebau GmbH Selb, Německo
- Teplotní rozsah: -170 °C – +600 °C
- Rychlost ohřevu: 0,001 K/min – 100 K/min
- Chlazení: Intracooler 70 (kompresorové chlazení), NETZSCH, Německo
- Zahřívání: cirkulační topné těleso kolem senzoru
- Průtokový plyn: N₂

Kelímky: hliníkové kelímky o objemu 25 µl

Analytické digitální váhy KERN ABS, max. 220 g, d = 0,1 mg

Biological termostat Bt 120

Digitální analytické váhy CAHN 26, Cahn instruments, USA

Vakuová sušárna, BINDER

5.3 Příprava baze terbinafinu

12 g terbinafinu hydrochloridu se za stálého míchání rozpustilo v 3000 ml čištěné vody zahřáté na teplotu asi 80°C. Tekutina se následně zfiltrovala a za pomoci amoniaku se upravilo pH na hodnotu 7,0. Po dalším míchání se z roztoku vysrážela baze TRB, která se po dekantaci tekutiny vysušila ve vakuové sušárně.

5.4 Inkorporace léčiva do polyesterových nosičů

Matrice byly připraveny metodou rozpouštění polymerního nosiče ve vhodném rozpouštědle a následným přidáním léčivé látky. Na základě výsledků předcházející práce byl k rozpouštění zvolen methylester kyseliny mravenčí.^[1] Nejprve byly rozpuštěny a sušeny ve vakuové sušárně samostatné polymery (1T, 3T a 5T) o hmotnosti 1,000 g. Dále se připravovaly matrice o celkové hmotnosti 2,000 g s obsahem 50 % léčivé látky, v případě acikloviru byly kvůli jeho špatné rozpustnosti připraveny ještě matrice obsahující 30 % ACV.

1,000 g polyesteru 1T, 3T nebo 5T byl rozpuštěn přibližně ve 2,0 ml methylesteru kyseliny mravenčí, vzniklé roztoky byly vylity na antiadhezivní podložku a 12 dní sušeny ve vakuové sušárně. Matrice s obsahem léčivé látky byly připraveny za použití většího množství rozpouštědla (přibližně 5,0 ml). K 1,000 g polyesteru se po rozpuštění v methylesteru kyseliny mravenčí přidal 1,000 g léčivé látky. Takto připravené roztoky byly opět vylity na antiadhezivní podložku a sušeny ve vakuové sušárně. Doba sušení byla 11 dní u TRB B, 10 dní v případě FLU a u ostatních matric 9 dní.

Tab. 1: Přesné navážky větvených polyesterů a léčivých látek m [g]

	Polyester	Léčivá látka		Polyester	Léčivá látka
1T 30% ACV	1,3989	0,5991	1T 50% MIC	1,0003	0,9964
3T 30% ACV	1,4011	0,6008	3T 50% MIC	1,0010	0,9957
5T 30% ACV	1,3996	0,5996	5T 50% MIC	0,9999	0,9955
1T 50% ACV	1,0000	0,9981	1T 50% TRB B	1,0007	0,9978
3T 50% ACV	0,9837	0,9869	3T 50% TRB B	1,0001	1,0007
5T 50% ACV	0,9938	0,9989	5T 50% TRB B	0,7505	0,7485
1T 50% FLU	0,9995	0,9932	1T 50% TRB HCl	1,0006	0,9961
3T 50% FLU	0,9999	0,9960	3T 50% TRB HCl	0,9994	0,9948
5T 50% FLU	0,9988	0,9977	5T 50% TRB HCl	1,0000	0,9939

5.5 Příprava vzorků pro měření na DSC

Vzorky byly naváženy do hliníkových kelímků o objemu 25 μ l. Po pečlivé kalibraci vah byl nejprve zvážen prázdný kelímek s víčkem. Následně do něj byl navážen vzorek tak, aby celková hmotnost nepřesáhla 50 mg. Kelímek byl uzavřen a zvážen. Z rozdílu hmotností se vypočítala navážka vzorku. Bylo naváženo 12 vzorků obsahujících samostatné větvené polymery, 15 vzorků obsahujících léčivé látky a 18 vzorků polyesterových matric s léčivem.

5.6 Termická analýza

Zjišťování termických vlastností vzorků probíhalo na diferenciálním skenovacím kalorimetru DSC 200 F3 Maia [®]. Kelímky se vzorky byly pomocí pinzety vkládány do přístroje a měřeny vždy oproti stejnému referenčnímu kelímku. Pro měření teplot skelného přechodu byl zvolen režim, kdy se vzorky nejprve ochladily na teplotu -20 $^{\circ}$ C, z té se zahřály na teplotu 90 $^{\circ}$ C, po 2 minutách se zchladily na -50 $^{\circ}$ C a následně se po 5 minutové izotermě opět zahřály na teplotu 90 $^{\circ}$ C. Ohřevy i chlazení probíhaly rychlostí 10 $^{\circ}$ C/min. Ke stanovení teploty tání léčivých látek byly nejprve vyhledány v literatuře běžně uváděné hodnoty T_{\max} a teplotní režim byl pak upraven tak, aby se zahřívalo na teplotu o 30 $^{\circ}$ C vyšší, než byly očekávané teploty tání.

Obr. 7: Teplotní režim pro měření T_g

The screenshot shows the 'Measurement Definition' window with a table of 13 steps and several control panels.

Nr	Type	°C	K/min	Time	pts/min	pts/K	STC	Co
1	Yellow circle	25.0					<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
2	Green arrow	25.0		0:05:00	50.00		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
3	Blue arrow	-20.0	5.000	0:09:00	300.00	60.00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
4	Green arrow	-20.0		0:05:00	50.00		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5	Red arrow	90.0	10.000	0:11:00	300.00	30.00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
6	Green arrow	90.0		0:02:00	150.00		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
7	Blue arrow	-50.0	10.000	0:14:00	300.00	30.00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
8	Green arrow	-50.0		0:05:00	50.00		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
9	Red arrow	90.0	20.000	0:07:00	600.00	30.00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
10	Blue arrow	25.0	10.000	0:06:30	600.00	60.00	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
11	Red circle	100.0					<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12	Blue circle	25.0	20.000	0:00:00			<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
13	Green circle	25.0		0:20:00			<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Step Conditions: STC, Cooling

Category: Start temperature: 25.0 °C

Step Category: Initial Standby, Initial (selected), Dynamic, Isothermal, Final, Final Standby

Buttons: Add, Update Current Step, Insert Dynamic Step, Insert Isothermal Step, Delete Current Step

Points: Segment: 0, Total: 19350

Total Time: 01:24

Legend: inputs not complete, inputs OK, inputs must be verified, page cannot be accessed, inputs must be confirmed

Navigation: <- Backward, Help, OK, Measure, Cancel, Forward ->

5.7 Vyhodnocení měření

K hodnocení termických charakteristik byl použit počítačový program Netzsch Proteus[®] Software, Version 5.2.0. Teploty skelného přechodu i teploty tání se odečítaly z druhého ohřevu vzorku. Pouze u ACV byl z důvodu časové náročnosti proveden jen jeden ohřev a teplota tání byla tedy vyhodnocena z něj. Zjišťování T_g probíhalo pomocí funkce „Glass transition“. Právý a levý limit byl určen tak, aby křivka před a za skelným přechodem měla lineární průběh. T_{max} byla hodnocena funkcí „Peak“.

6 Výsledky

6.1 Termické charakteristiky polyesterů a léčivých látek

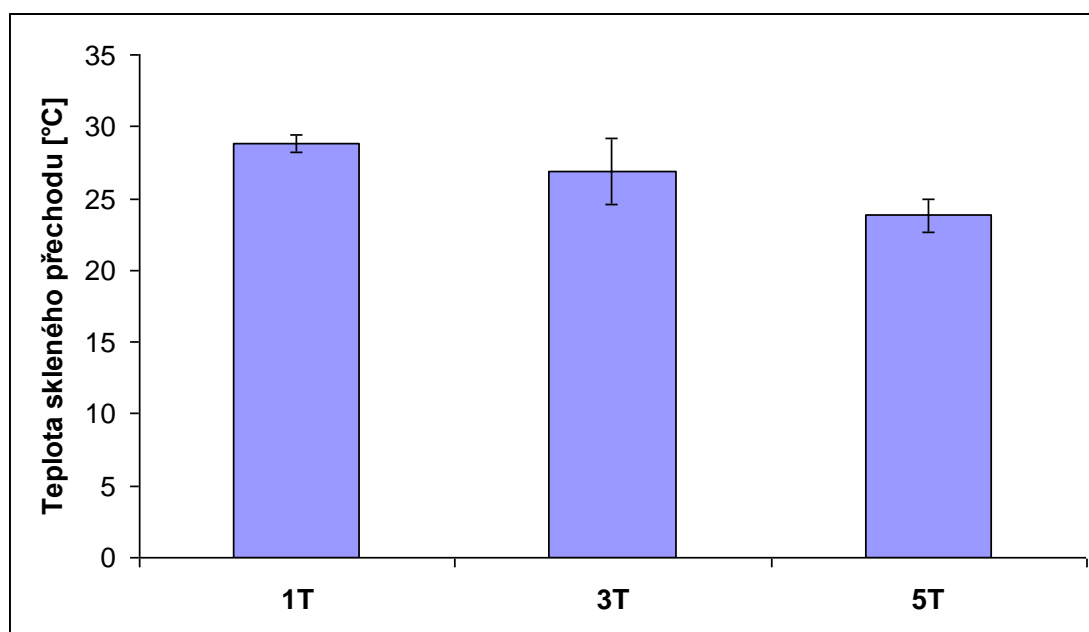
Tab. 2: Teploty tání léčivých látek T_{\max} [°C]

	Aciklovir	Flukonazol	Mikonazol	Terbinafin baze	Terbinafin hydrochlorid
Vzorek č. 1	257,6	142,3	87,0	45,8	214,0
Vzorek č. 2	257,7	134,2	87,4	45,4	214,2
Vzorek č. 3	257,7	139,1	87,7	44,3	214,2
Průměr	257,7	138,5	87,4	45,2	214,1
SD	0,0	3,3	0,3	0,6	0,1
Hodnoty uváděné v literatuře	256,5-257,0 [28]	138,0-140,0 [33]	83,0-87,0 [23]	-	204,0-208,0 [42]

Tab. 3: Teploty skelného přechodu polyesterů větvených tripentaerythritolem T_g [°C]

	1T	3T	5T
Vzorek 1	28,2	29,8	25,3
Vzorek 2	28,7	24,2	22,7
Vzorek 3	29,6	26,7	23,5
Průměr	28,8	26,9	23,8
SD	0,6	2,3	1,1

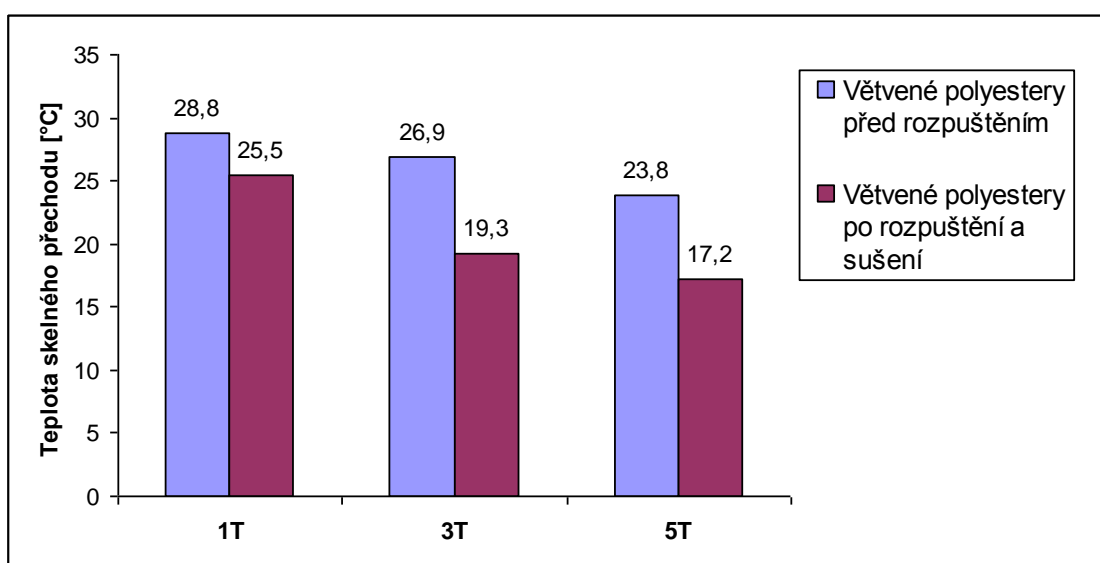
Obr. 8: Porovnání teplot skelného přechodu polyesterů větvených tripentaerythritolem



Tab. 4: Teploty skelného přechodu větvených polyesterů a větvených polyesterů po rozpuštění a sušení T_g [°C]

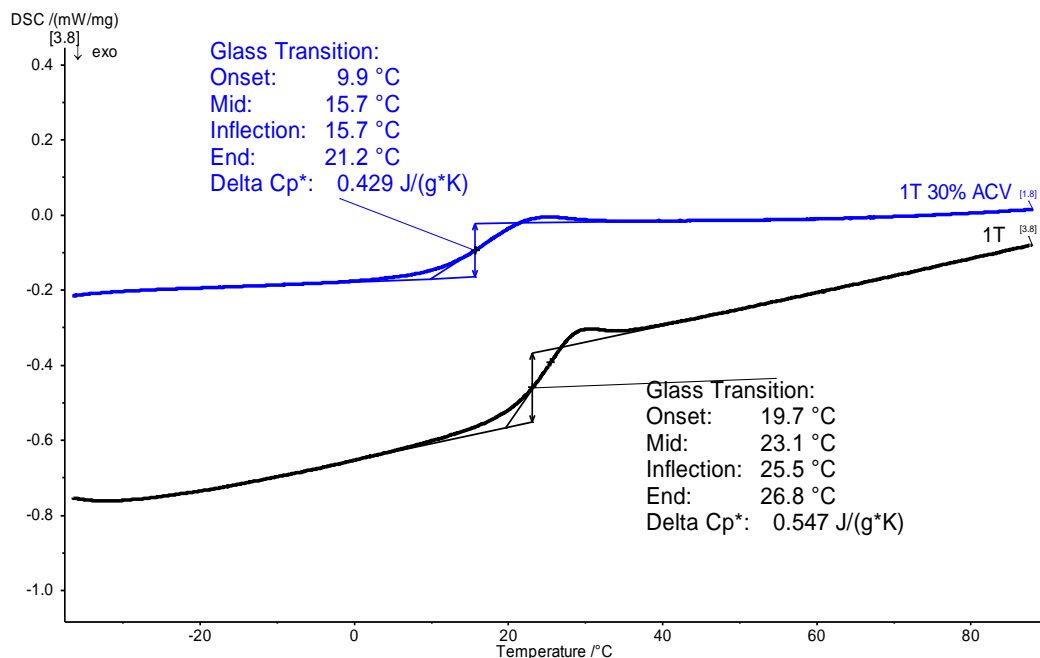
	T_g	T_g po rozpuštění a sušení
1T	28,8	25,5
3T	26,9	19,3
5T	23,8	17,2

Obr. 9: Porovnání teplot skelného přechodu větvených polyesterů a větvených polyesterů po rozpuštění a sušení

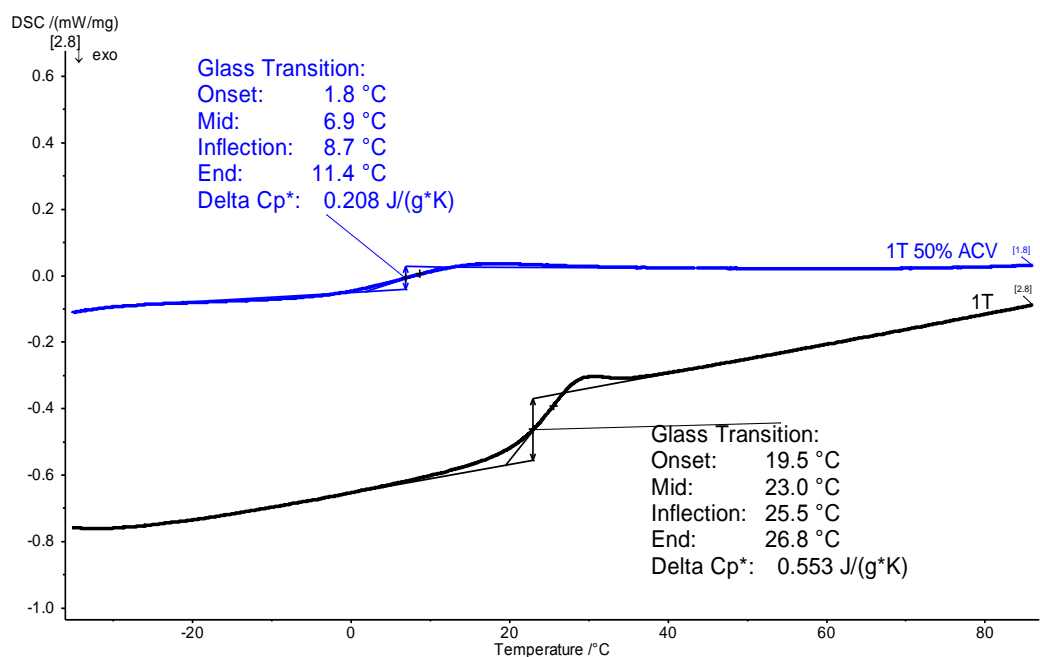


6.2 Teploty skelného přechodu polyesteru 1T¹ bez léčiva a s léčivem

Obr. 10: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 1T a matrice s 30 % acikloviru

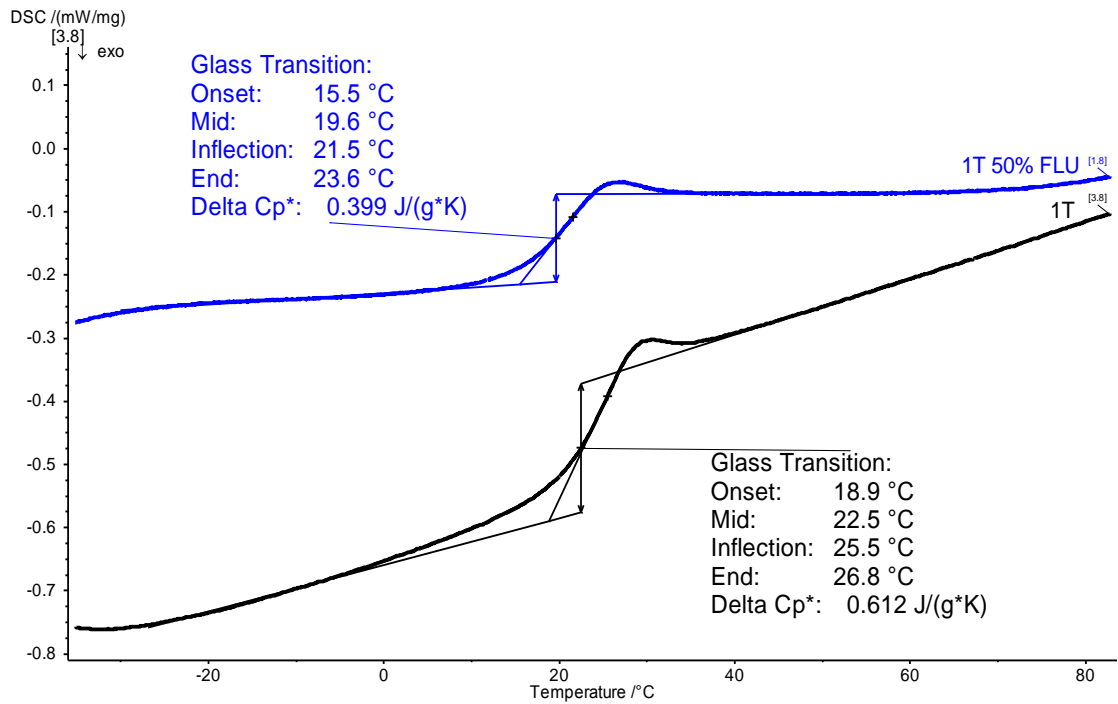


Obr. 11: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 1T a matrice s 50 % acikloviru

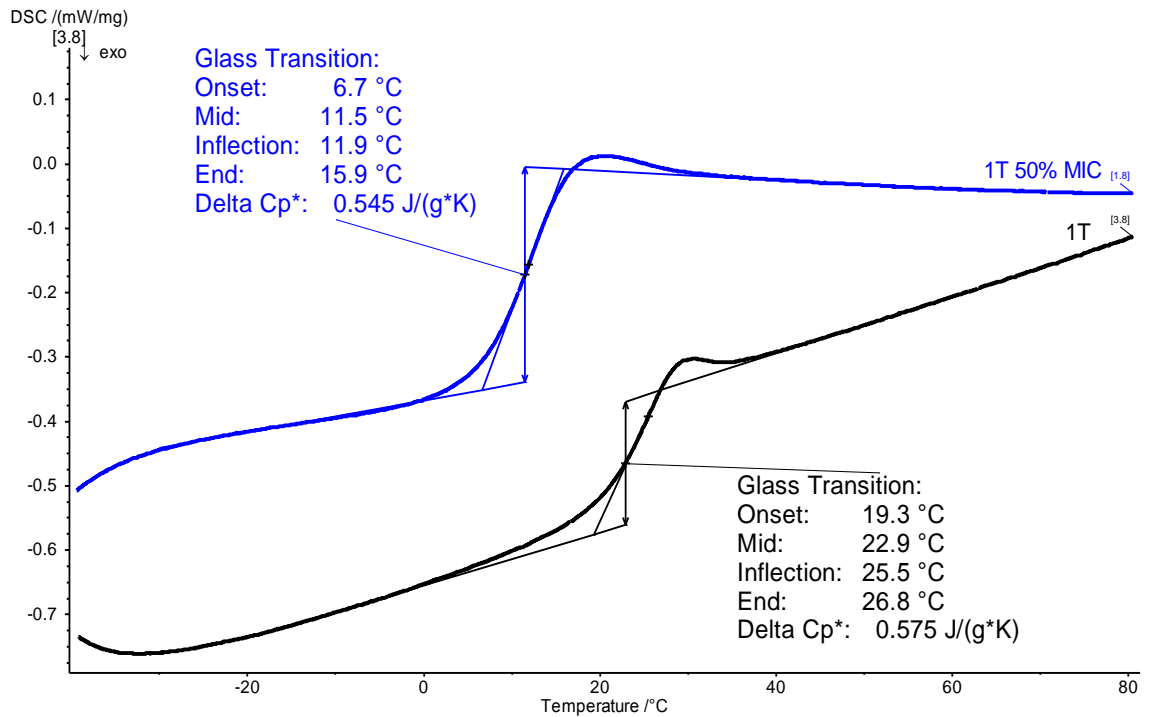


¹ Polyester 1T rozpuštěný v methylesteru kyseliny mravenčí a následně sušený ve vakuové sušárně

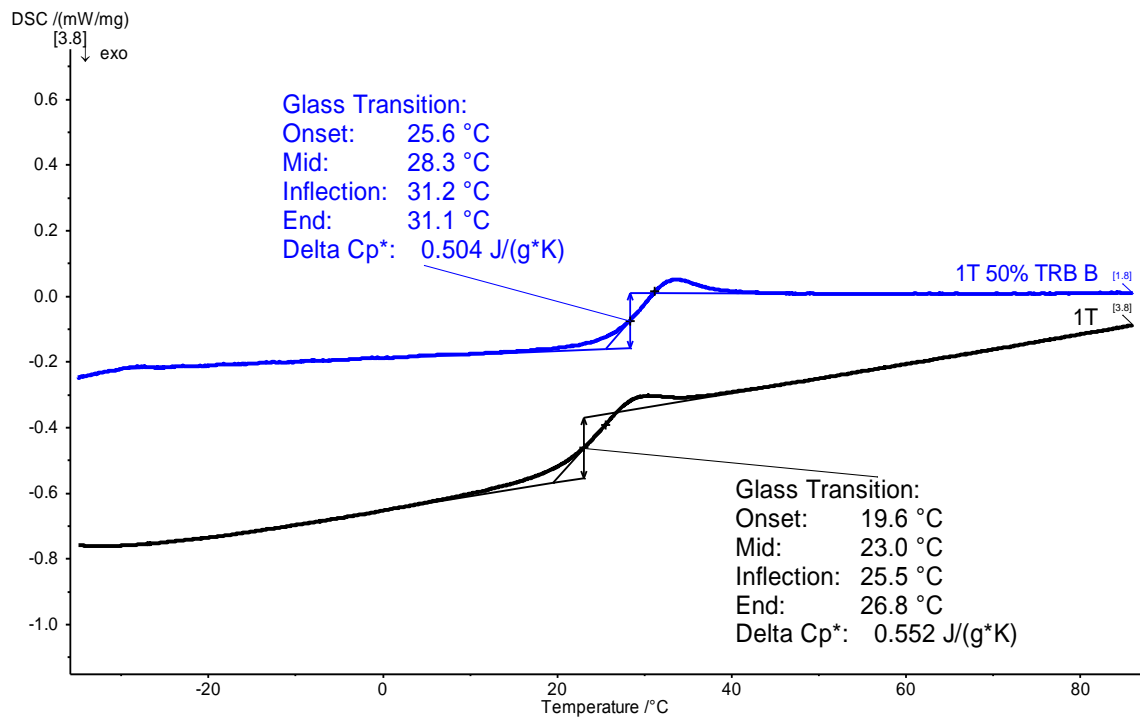
Obr. 12: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 1T a matrice s 50 % flukonazolu



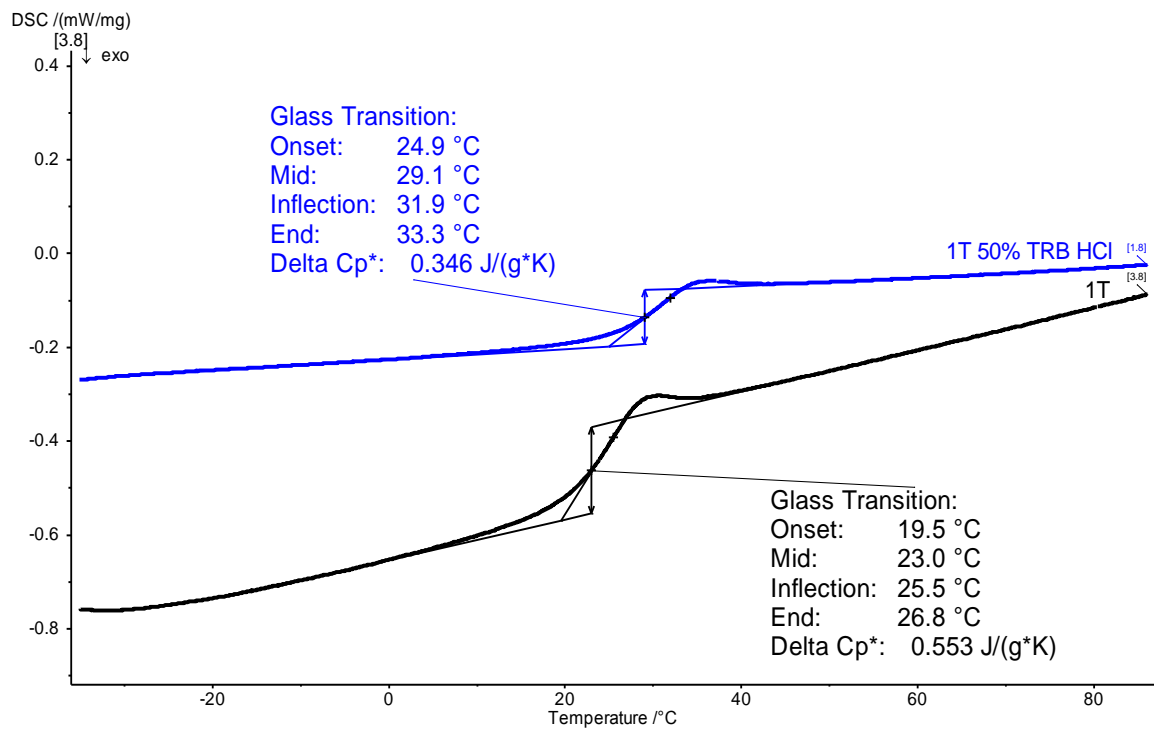
Obr. 13: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 1T a matrice s 50 % mikonazolu



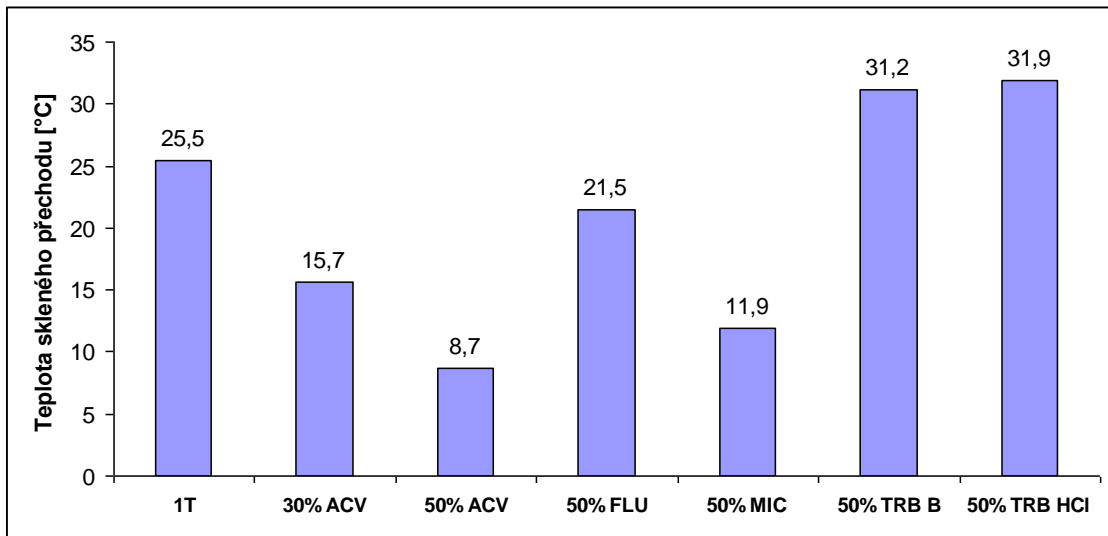
Obr. 14: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 1T a matrice s 50 % terbinafinu baze



Obr. 15: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 1T a matrice s 50 % terbinafinu hydrochloridu

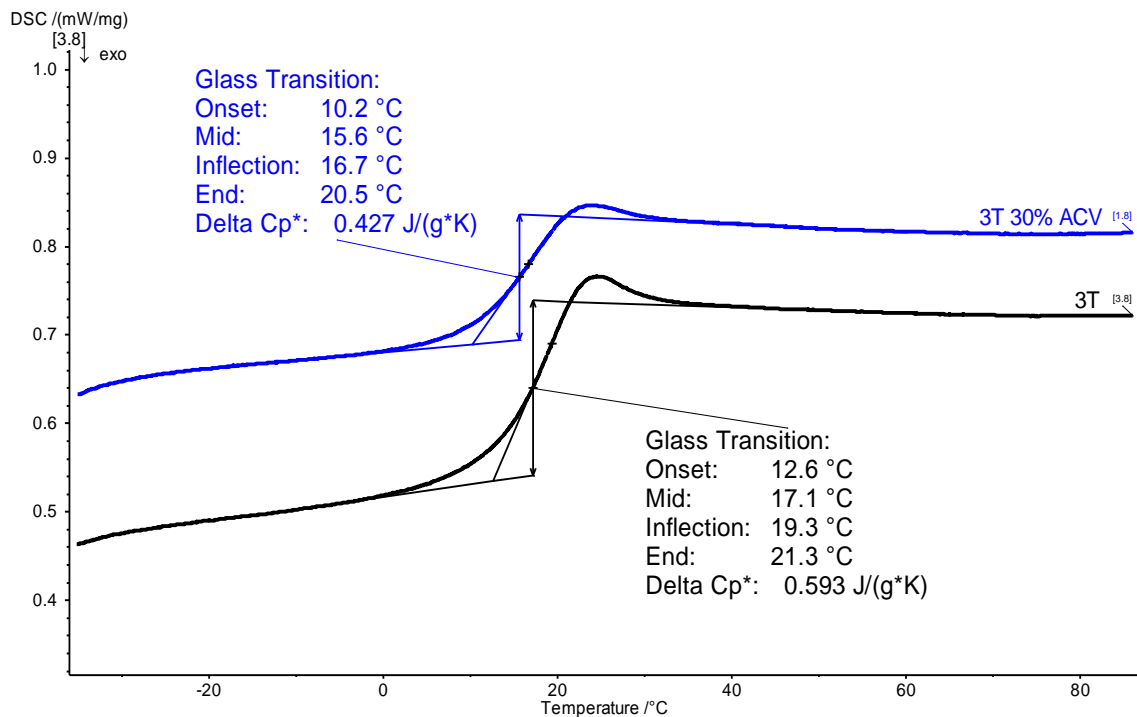


Obr. 16: Teploty skelného přechodu polyesteru 1T bez léčiva a s léčivy



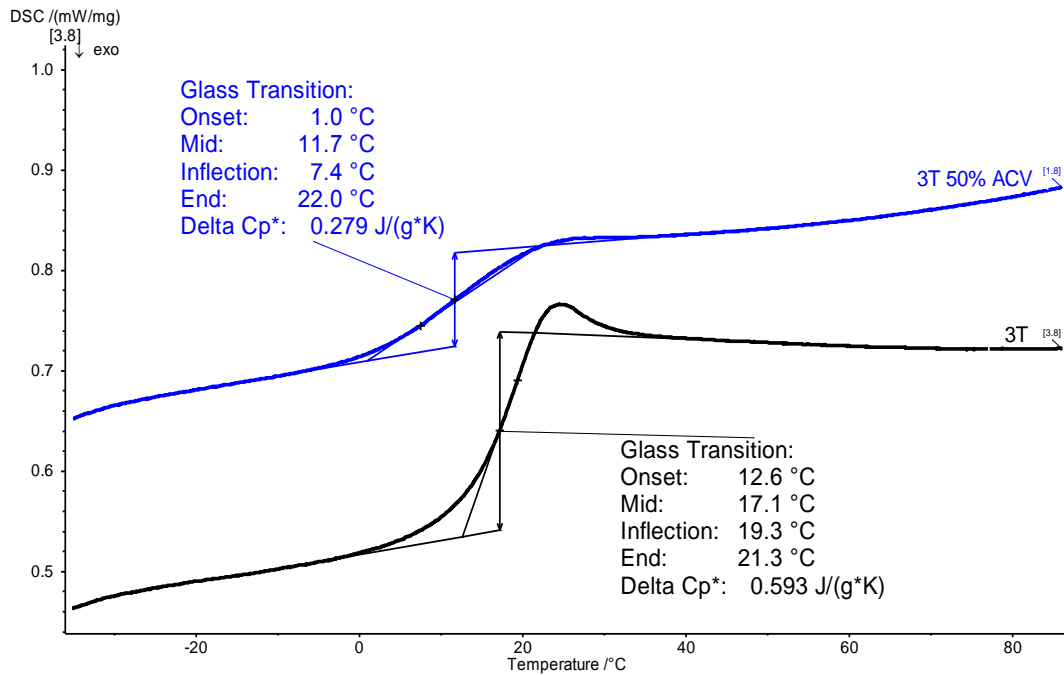
6.3 Teploty skelného přechodu polyesteru 3T² bez léčiva a s léčivy

Obr. 17: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 3T a matrice s 30 % acikloviru

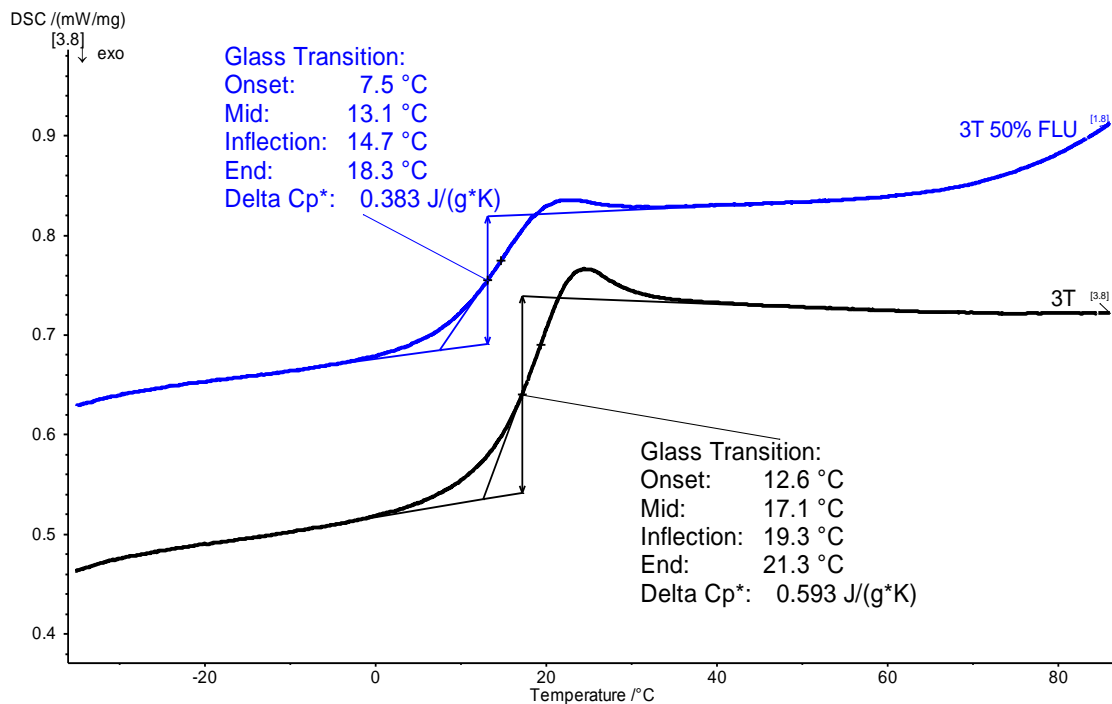


² Polyester 3T rozpuštěný v methylesteru kyseliny mravenčí a následně sušený ve vakuové sušárně

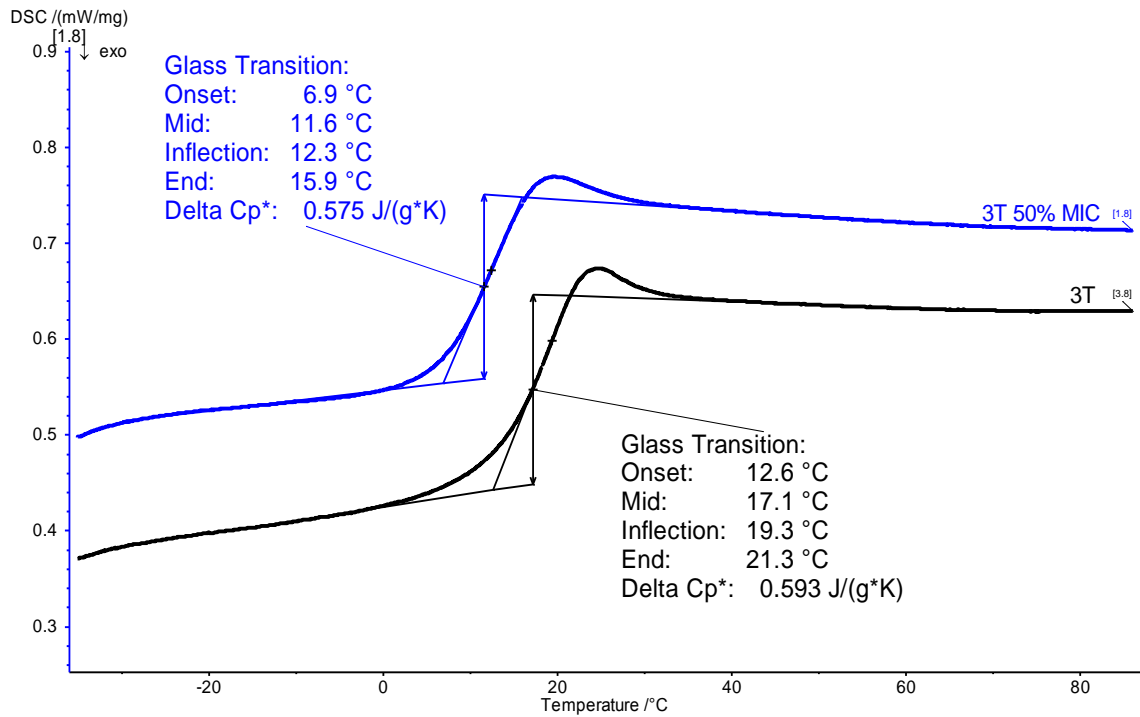
Obr. 18: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 3T a matrice s 50 % acikloviru



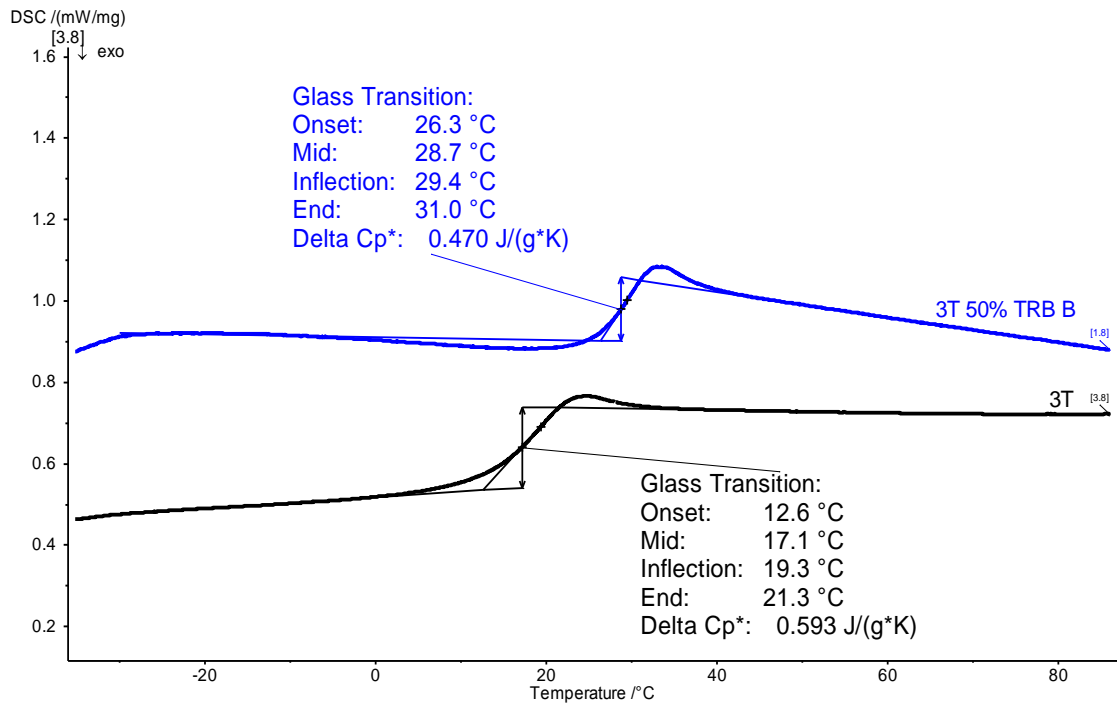
Obr. 19: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 3T a matrice s 50 % flukonazolu



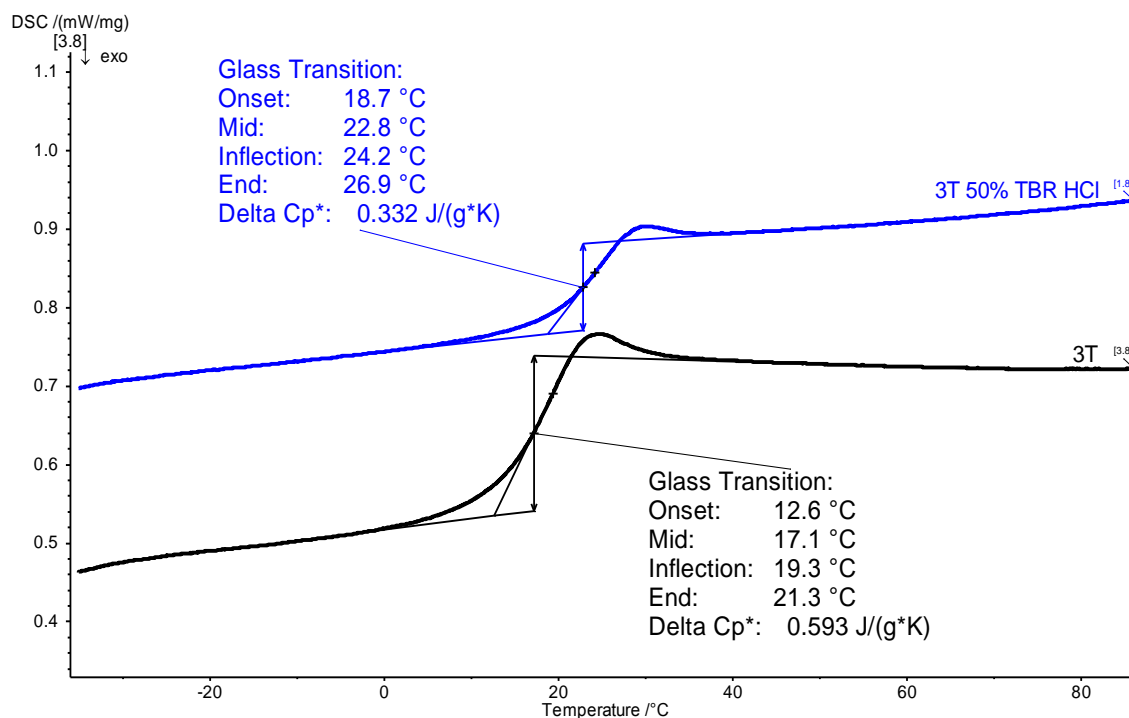
Obr. 20: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 3T a matrice s 50 % mikonazolu



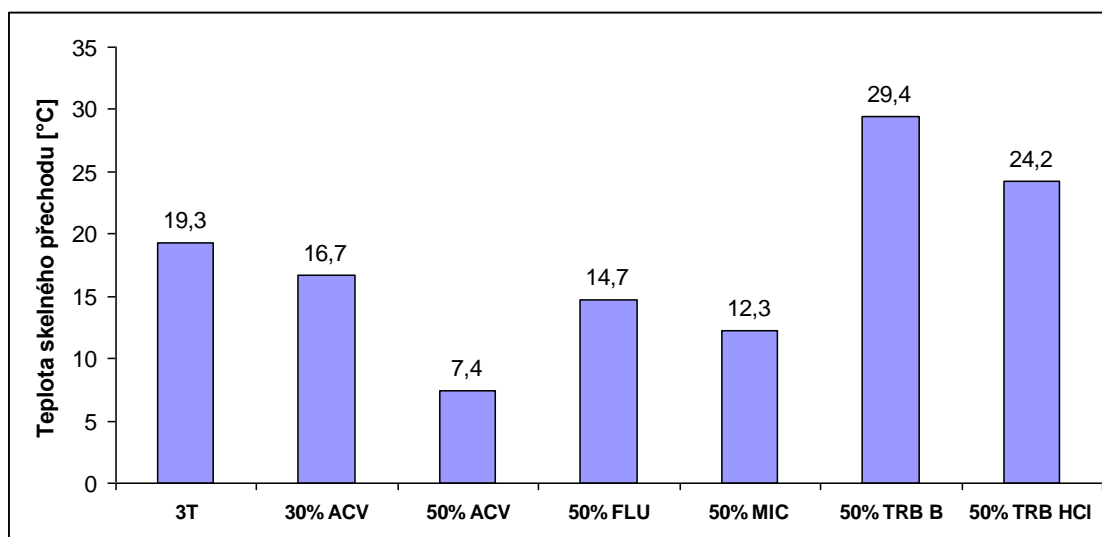
Obr. 21: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 3T a matrice s 50 % terbinafinu baze



Obr. 22: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 3T a matrice s 50 % terbinafinu hydrochloridu

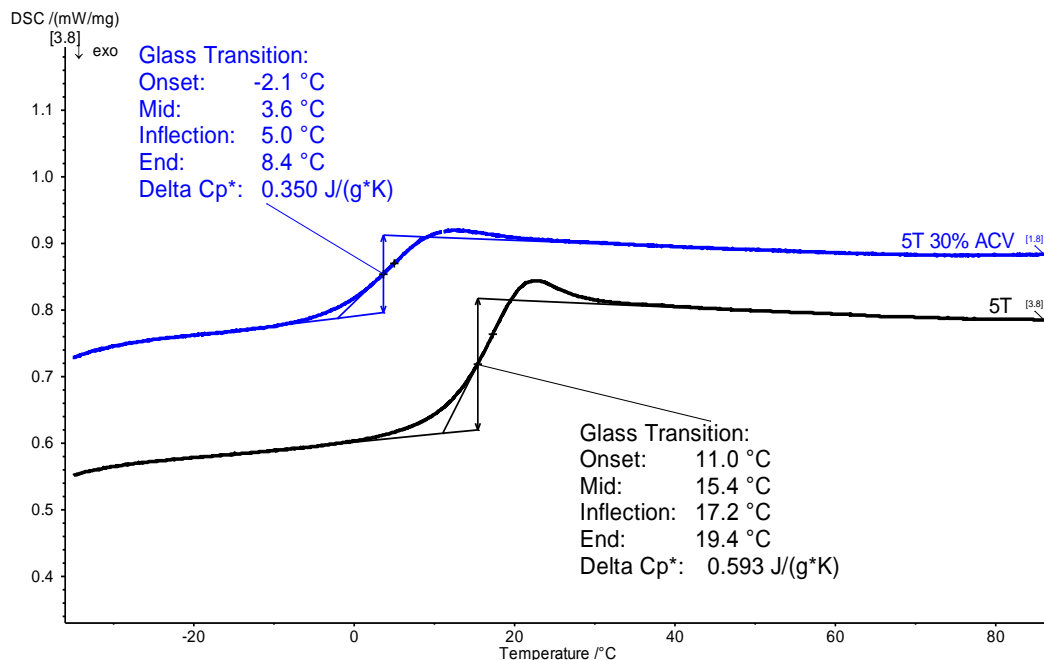


Obr. 23: Teploty skelného přechodu polyesteru 3T bez léčiva a s léčivy

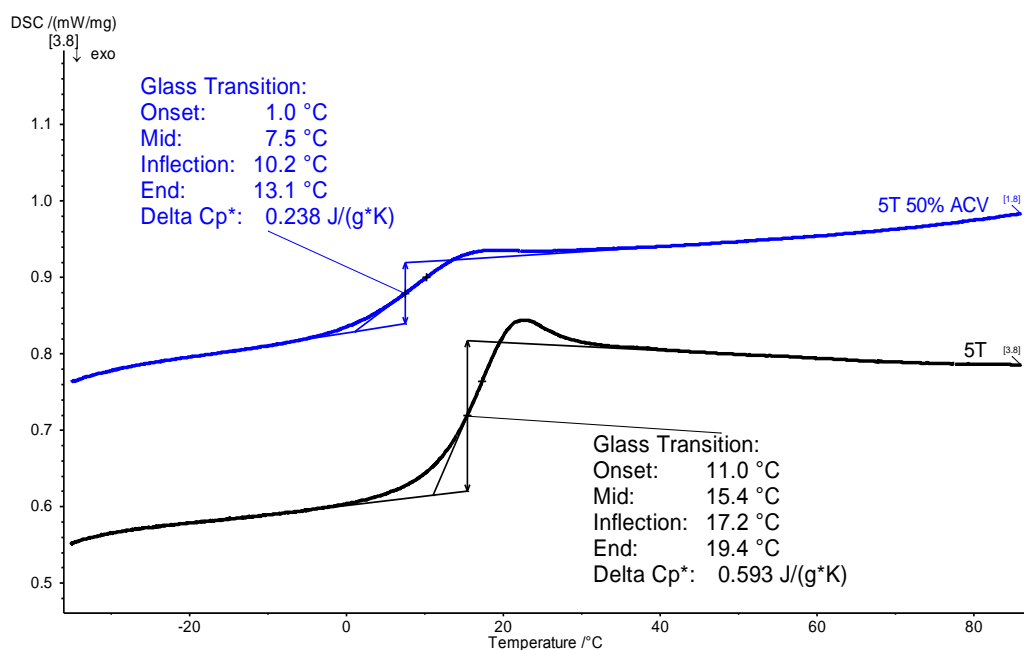


6.4 Teploty skelného přechodu polyesteru 5T³ bez léčiva a s léčivem

Obr. 24: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 5T a matrice s 30 % acikloviru

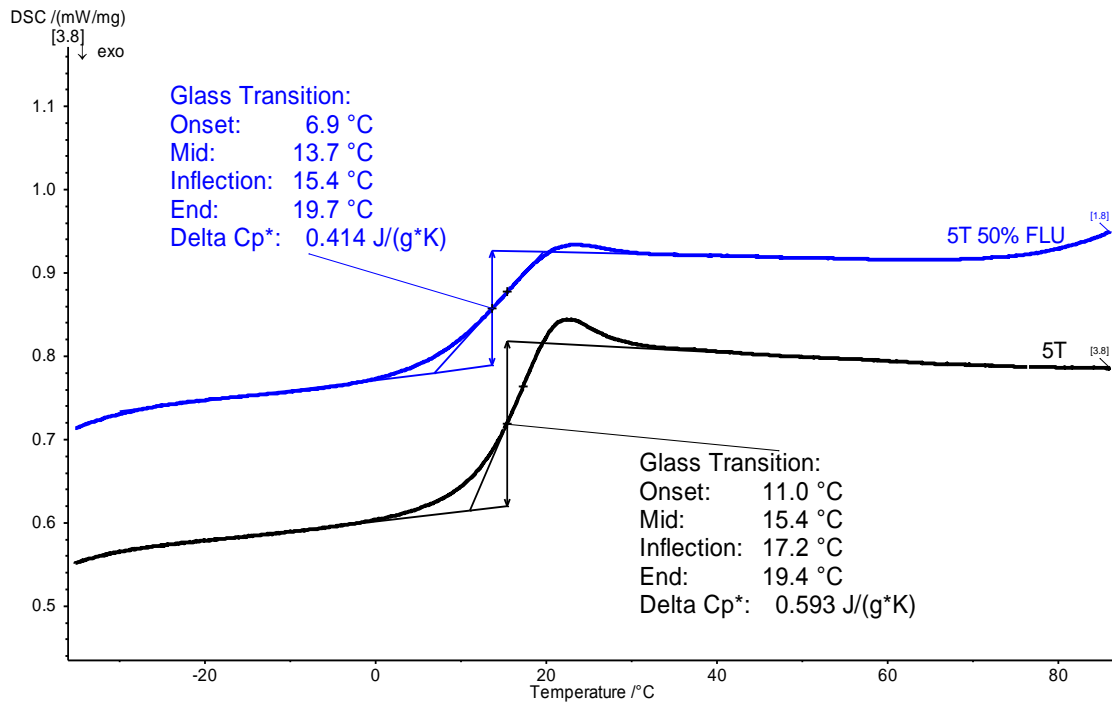


Obr. 25: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 5T a matrice s 50 % acikloviru

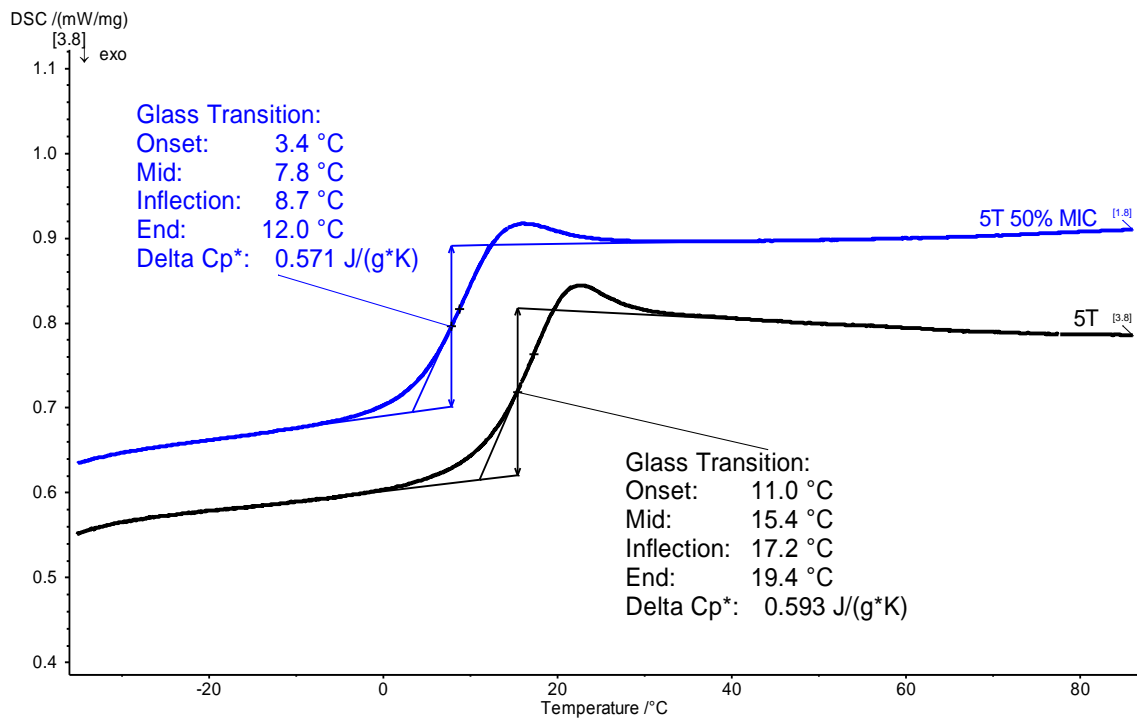


³ Polyester 5T rozpuštěný v methylesteru kyseliny mravenčí a následně sušený ve vakuové sušárně

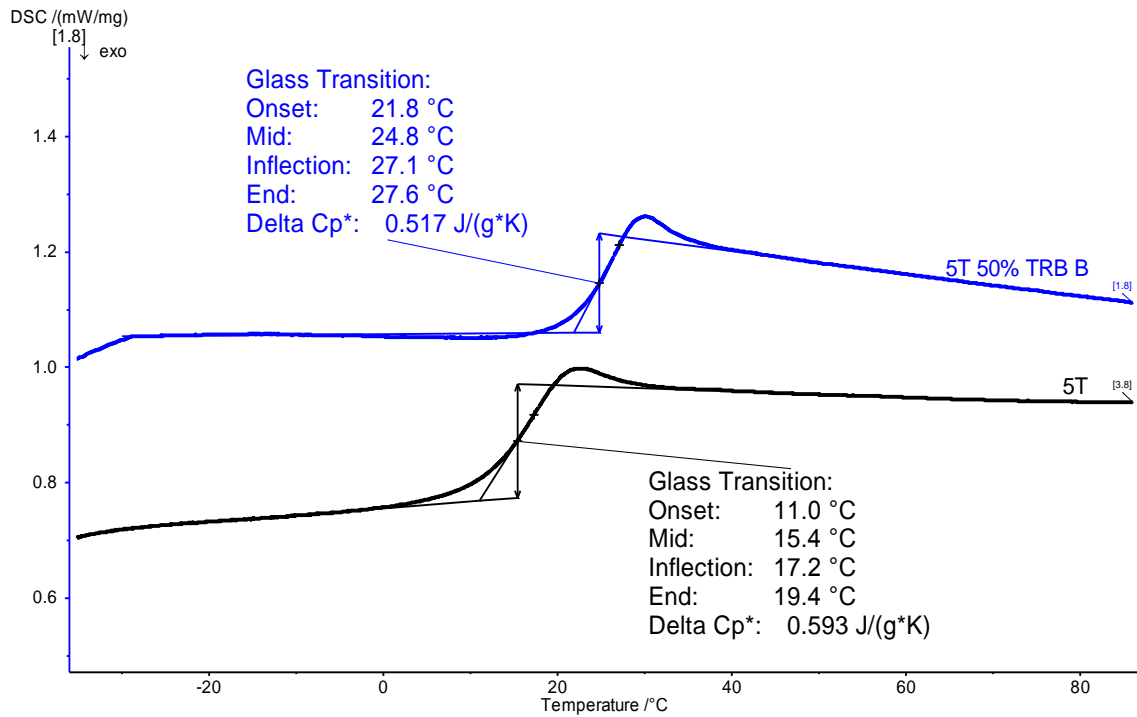
Obr. 26: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 5T a matrice s 50 % flukonazolu



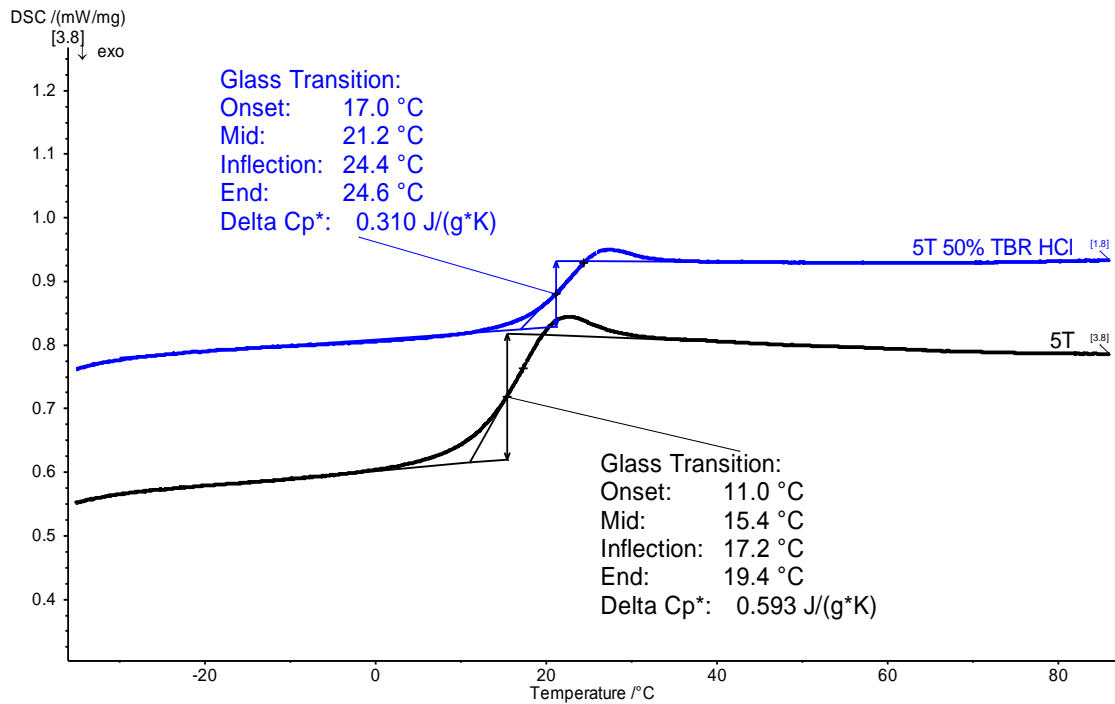
Obr. 27: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 5T a matrice s 50 % mikonazolu



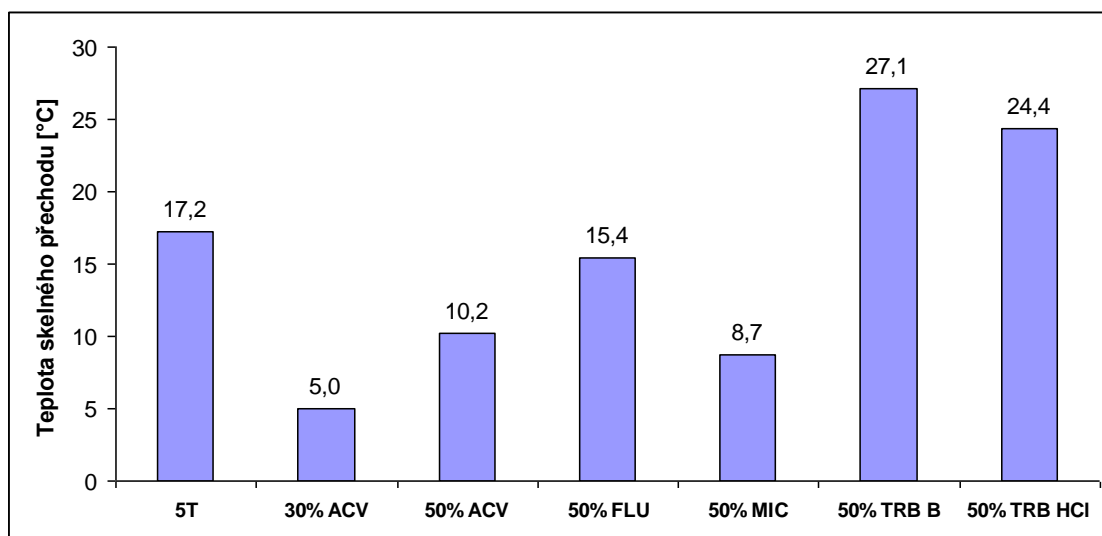
Obr. 28: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 5T a matrice s 50 % baze terbinafinu



Obr. 29: Porovnání teploty skelného přechodu polyesteru 5T a matrice s 50 % terbinafinu hydrochloridu



Obr. 30: Teploty skelného přechodu polyesteru 5T bez léčiva a s léčivy



7 Diskuze

Polymery hodnocené v této práci jsou tvořeny hvězdicovitě větvenými polyestery syntetizovanými na Katedře farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové. Jedná se o kopolymery kyseliny D,L-mléčné a kyseliny glykolové větvené tripentaerythritolem v koncentraci 1 % (1T), 3 % (3T) a 5 % (5T) tripentaerythritolu v reakční směsi. Jejich analýza byla ihned po syntéze provedena Prof. Štěpánem Podzimkem v Synpo, a.s. Pardubice. Údaje získané z analýzy jsou uvedeny v Tab. 5.

Tab. 5: Vlastnosti větvených polyesterů

Větvený polyester	Poměr LA/GA/P(D)(T)	M_n [g/mol]	M_w [g/mol]	T_g [°C]	g'
1T	49,5/49,5/1,0	3800	15200	25,3	0,42
3T	48,5/48,5/3,0	7900	20600	21,7	0,31
5T	47,5/47,5/5,0	5800	11900	17,2	0,34

LA – kyselina D,L-mléčná

GA – kyselina glykolová

P(D)(T) – pentaerythritol, dipentaerythritol, tripentaerythritol

M_n [g/mol] – číselně střední molární hmotnost

M_w [g/mol] – hmotnostně střední molární hmotnost

g' [η_{br}/η_{lin}] – větvicí poměr stanovený z vnitřní viskozity lineárního (*lin*) a větveného (*br*) polymeru při shodné molární hmotnosti (g' pro lineární PLGA = 1,0)

V této práci byly testovány výše charakterizované větvené polyestery, polyesterové matrice tvořené polyesterem a léčivem a vybrané léčivé látky. Pro inkorporaci do větvených polyesterů bylo zvoleno 5 léčivých látek – aciklovir, flukonazol, mikonazol, báze terbinafinu a terbinafin hydrochlorid. Matrice byly zhotoveny metodou rozpouštění polymeru ve vhodném rozpouštědle a následném přidání léčiva. Na základě výsledků předcházející práce byl jako vhodné rozpouštědlo použit methylester kyseliny mravenčí.^[1] Připravované matrice obsahovaly 50 % léčivé látky. Z důvodu obtížné rozpustnosti ACV v použitém rozpouštědle byly vytvořeny i matrice pouze s 30% obsahem ACV.

Pomocí diferenciální skenovací kalorimetrie byly nejprve zjišťovány termické charakteristiky výchozích komponent matric. Měřeny byly T_{\max} léčiv a T_g větvených polyesterů. Pro měření teploty skelného přechodu byl zvolen teplotní režim, kdy se po počátečním ochlazení na teplotu $-20\text{ }^\circ\text{C}$ vzorky zahřály na teplotu $90\text{ }^\circ\text{C}$, po 2 minutách se zchladily na $-50\text{ }^\circ\text{C}$ a následně se po 5 minutové izotermě opět zahřály na teplotu $90\text{ }^\circ\text{C}$. Ohřevy i chlazení probíhaly rychlostí $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$. Pro stanovení T_{\max} léčivých látek byl režim upraven tak, že se zahřívalo na teplotu o $30\text{ }^\circ\text{C}$ vyšší, než byla předpokládaná T_{\max} . Hodnoty T_g a T_{\max} byly odečítány z druhého cyklu ohřevu.

V Tab. 2 jsou shrnuty naměřené výsledky T_{\max} léčiv v porovnání s teplotami uváděnými v literatuře. Průměrné hodnoty T_{\max} jsou maximálně o $0,7\text{ }^\circ\text{C}$ vyšší než běžně uváděné teploty, pouze u terbinafinu hydrochloridu byly naměřeny teploty asi o $6\text{ }^\circ\text{C}$ vyšší než je očekávaná teplota tání. Vyšší T_{\max} může být způsobena případnými nečistotami v surovině. T_{\max} pro bazi terbinafinu nebyla v dostupné literatuře nalezena, získané výsledky tedy nelze porovnat, naměřené hodnoty se pohybují mezi $44,3\text{ }^\circ\text{C}$ a $45,8\text{ }^\circ\text{C}$.

Tab. 3 uvádí zjištěné hodnoty T_g větvených polyesterů. Jejich grafické vyjádření i s vyznačením směrodatné odchylky je zobrazeno na Obr. 8. Získané T_g se pohybují nad $20\text{ }^\circ\text{C}$ (1T $28,8\text{ }^\circ\text{C}$, 3T $26,9\text{ }^\circ\text{C}$ a 5T $23,8\text{ }^\circ\text{C}$). Jedná se tedy o látky, které se při teplotě místnosti ($15 - 25\text{ }^\circ\text{C}$) vyskytují ve skelném stavu, mají tvrdou a křehkou strukturu. Zajímavé je, že naměřené hodnoty T_g jsou vyšší než hodnoty získané při analýze v Synpo, a.s. Pardubice provedené ihned po syntéze polyesterů (viz. Tab. 5). Časový odstup mezi analýzou a tímto experimentem je asi 8 let. V této době mohlo dojít ke změně vnitřní struktury polyesterů, která ovlivnila hodnotu T_g . I nyní získané výsledky však potvrzují, že T_g klesá se zvyšující se koncentrací větvicí složky ve směsi.

Po rozpuštění větvených polyesterů v methylesteru kyseliny mravenčí a následném odpařování rozpouštědla ve vakuové sušárně po dobu 12 dní byly naměřeny hodnoty T_g polyesterů až o $7,6\text{ }^\circ\text{C}$ nižší, než byly průměrné teploty skelného přechodu větvených polyesterů před rozpuštěním. Naměřené výsledky jsou uvedeny v Tab. 4 a na Obr. 9 jsou rozdíly znázorněny graficky. Vzniklé odchylky mohou být způsobeny zbytky použitého rozpouštědla.

Inkorporace léčiv do 1T, 3T a 5T byla provedena přidáním léčivé látky do roztoku polymeru v methylesteru kyseliny mravenčí. Ve snaze co největší eliminace vlivu

zbytkového rozpouštědla na hodnoty T_g byly vzorky 9 – 11 dní sušeny ve vakuové sušárně.

Na Obr. 9 – 14 jsou zobrazeny skelné přechody větveného polyesteru 1T bez léčiva a s léčivem. Matrice s konkrétním léčivem je vždy porovnávána s polyesterem bez léčivé látky po rozpuštění v methylesteru kyseliny mravenčí a sušení ve vakuové sušárně. Je zřejmé, že inkorporací léčiva do 1T došlo ke změnám T_g polyesteru. Pouze u vzorků obsahujících TRB B a TRB HCl byla naměřena hodnota T_g asi o 6 °C vyšší, než hodnota zjištěná pro polyester 1T po rozpuštění a sušení. U všech ostatních vzorků bylo pozorováno snížení T_g . Změny v T_g mohou být způsobeny interakcemi polyesteru a léčiva. Mezi polymerem a léčivou látkou se mohou vytvářet vodíkové vazby, které oslabují interakce mezi polymerními řetězci. Oslabením interakcí se zvyšuje mobilita řetězců a vyšší mobilita je příčinou snížení T_g .^[16,22] Naopak zvýšení T_g , které pozorujeme u matric obsahujících TRB B a TRB HCl, může být způsobeno krystalizováním léčiva v matrici. Překročí-li celkový obsah léčiva v matrici určitou koncentraci, léčivo již není schopné více se vázat k polymeru a dochází ke shlukování molekul léčiva a tvorbě krystalů.^[15]

Jak je vidět na dalších záznamech z DSC (Obr. 17 – 30), podobný charakter změn T_g je patrný i v případě matric tvořených polymerem 3T a 5T. Naměřené výsledky shrnují Obr. 16, 23 a 30.

Výrazného snížení T_g bylo dosaženo u vzorků obsahujících ACV a MIC. Rozdíl v T_g pro větvený polyester 1T po rozpuštění v methylesteru kyseliny mravenčí a matrici obsahující 30 % ACV je 9,8 °C, pro polyester 5T je rozdíl ještě vyšší (12,2 °C). Výrazné snížení T_g je pozorováno i u matric s 50% obsahem ACV. Při přípravě matric bylo použito větší množství rozpouštědla a ani tak nebyl ACV v koncentrovanějších matricích zcela rozpuštěn. Nelze tak říci, jestli snížení T_g bylo způsobeno inkorporací ACV, nebo zbytky methylesteru kyseliny mravenčí.

V případě matrice obsahující MIC bylo dosaženo viditelných změn struktury. Matrice jsou pružnější, naměřené hodnoty T_g se pohybují kolem 10 °C a při teplotě místnosti se tedy matrice vyskytují v kaučukovitém stavu. Z výsledků vyplývá, že MIC v 50% koncentraci lze pravděpodobně úspěšně inkorporovat do všech tří testovaných polymerů.

Pokles T_g pozorujeme i po inkorporaci FLU, není však tak výrazný jako v případě MIC a ACV. Nejvyššího snížení T_g po inkorporaci FLU bylo dosaženo při použití větveného polyesteru 3T. Hodnota T_g klesla o 4,6 °C oproti polyesteru bez léčiva rozpuštěného v methylesteru kyseliny mravenčí. U matrice tvořené polyesterem 5T se teplota skelného přechodu snížila pouze o 1,8 °C.

Po inkorporaci TRB B a TRB HCl do polyesterových matric dochází ke zvýšení T_g . V případě matric tvořených TRB B a polymerem 3T či 5T dokonce o 10 °C. To by mohlo svědčit o možné krystalizaci léčiva z matrice. Inkorporace takového množství TRB B a TRB HCl do matric tvořených větvenými polyestery 1T, 3T a 5T tedy není vhodná.

8 Závěr

Ze získaných výsledků lze učinit následující závěry:

1. Zjištěné teploty tání acikloviru, flukonazolu a mikonazolu odpovídají hodnotám uváděným v literatuře.
2. Polyestery PLGA větvené tripentaerythritolem mají při teplotě místnosti (15 – 25 °C) tvrdou a křehkou strukturu. Vyskytují se ve stavu sklovitém, jejich T_g je 28,8 °C u 1T, 26,9 °C u 3T a 23,8 °C u polyesteru 5T.
3. Větvené polyestery 1T, 3T a 5T jsou rozpustné v methylesteru kyseliny mravenčí. Nižší hodnoty T_g zjištěné po 12 dnech sušení ve vakuové sušárně ukazují, že tato doba sušení není dostatečná k odstranění rozpouštědla.
4. Mikonazol v polyesterových nosičích 1T, 3T a 5T funguje jako plastifikátor. Inkorporací 50 % mikonazolu dochází k výraznému snížení teploty skelného přechodu. Matrice jsou při pokojové teplotě ve stavu kaučukovitém, hodnoty T_g se pohybují kolem 10 °C.
5. Inkorporací baze terbinafinu či terbinafinu hydrochloridu do polyesterových matric dochází ke zvýšení T_g až o 10 °C. To by mohlo svědčit o možné krystalizaci léčiva z matrice. Inkorporace takového množství TRB B a TRB HCl do matric tvořených větvenými polyestery 1T, 3T a 5T tedy není vhodná.

9 Seznam použité literatury

1. KRÁČALÍKOVÁ, Markéta. *Inkorporace léčiv do polyesterových nosičů*. Hradec Králové, 2013. Diplomová práce, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.
2. KRÁČALÍKOVÁ, Markéta. *Studium vlivu terbinafinu na teplotu skelného přechodu polyesterových matric*. Hradec Králové, 2014. Rigorózní práce, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.
3. LIU, Shih-Jung, KAU, Yi-Chuan, CHOU, Chi-Yin, CHEN, Jan-Kan, WU, Ren-Chin, YEH, Wen-Ling. Electrospun PLGA/collagen nanofibrous membrane as early-stage wound dressing. *Journal of Membrane Science*. 2010, **355**(1-2), 53–59. DOI: 10.1016/j.memsci.2010.03.012.
4. UHRICH, Kathryn E., CANNIZZARO, Scott M., LANGER, Robert S., SHAKESHEFF, Kevin M. Polymeric systems for controlled drug release. *Chem Rev*. 1999, **99**(11), 3181–3198. DOI: 10.1021/cr940351u.
5. WU, X.S., WANG, N. Synthesis, characterization, biodegradation, and drug delivery application of biodegradable lactic/glycolic acid polymers. Part II: Biodegradation. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2001, **12**(1), 21–34.
6. HOUCHIN, M. L., TOPP, E. M. Physical properties of PLGA films during polymer degradation. *J Appl Polym Sci*. 2009, **114**(5), 2848–2854. DOI: 10.1002/app.30813.
7. SIEGEL, Steven J., KAHN, Jonathan B., METZGER, Kayla, WINEY, Karen I., WERNER, Kathryn, DAN, Nily. Effect of drug type on the degradation rate of PLGA matrices. *Eur J Pharm Biopharm*. 2006, **64**(3), 287–293. DOI: 10.1016/j.ejpb.2006.06.009.
8. MAKADIA, Hirenkumar K. and SIEGEL, Steven J. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers (Basel)*. 2011, **3**(3), 1377–1397. DOI: 10.3390/polym3031377.
9. ŠNEJDROVÁ, Eva a DITTRICH, Milan. Pharmaceutical applications of plasticized polymers. *InTech* [online]. 2012 [cit. 2014-10-10]. DOI: 10.5772/36543. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-plasticizers/pharmaceutical-applications-of-plasticized-polymers>.
10. ŠNEJDROVÁ, Eva a DITTRICH, Milan. Poly(α -hydroxykyseliny) jako nosiče léčiv. *Chem. Listy*. 2011, **105**, 27–33.

11. OUYANG, Chunping, LIU, Qian, ZHAO, Shunxin, MA, Guilei, ZHANG, Zhengpu and SONG, Cunxian. Synthesis and characterization of star-shaped poly (lactide-co-glycolide) and its drug-loaded microspheres. *Polym. Bull.* 2012, **68**, 27–36. DOI 10.1007/s00289-011-0516-x.
12. PODZIMEK, Štěpán. *Charakterizace větvených polyesterů gelovou permeační chromatografií s online rozptylovým fotometrem a viskozimetrem*. Pardubice, 2006. Výzkumná zpráva, Synpo, a.s. Pardubice
13. DITTRICH, Milan and ŠNEJDROVÁ, Eva. Cyclic swelling as a phenomenon inherent to biodegradable polyesters. *J. Pharm. Sci.* [online]. 2014 [cit. 2014-10-15]. DOI: 10.1002/jps.24146. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jps.24146/full>
14. SPERLING, L. H. *Introduction to physical polymer science*. New York, NY: John Wiley & Sons, 2001. 720 p. ISBN 0471329215.
15. YANG, Min, WANG, Peng, SUWARDIE, Herman, GOGOS, Costas. Determination of acetaminophen's solubility in poly(ethylene oxide) by rheological, thermal and microscopic methods. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011, **403**(1-2), 83–89. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2010.10.026.
16. WU, Chuanbin, MCGINITY, James W. Non-traditional plasticization of polymeric films. *International Journal of Pharmaceutics*. 1999, **177**(1), 15–27. DOI: 10.1016/S0378-5173(98)00312-3.
17. BREITENBACH, Joerg. Melt extrusion: from process to drug delivery technology. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2002, **54**(2), 107–117.
18. GRYCZKE, A. *Melt extrusion with EUDRAGIT solubility enhancement modified release*. Degussa. Darmstadt, Germany: RÖHM GmbH & Co. KG; 2006.
19. GRUNHAGEN, H. H. and MULLER, O. Melt extrusion technology. *Pharmaceutical Manufacturing International*. 1995, 1. 167–170.
20. QIAN, Feng, HUANG, Jun, ZHU, Qing, HADDADIN, Raja, GAWEL, John, GARMISE, Robert, HUSSAIN, Munir. Is a distinctive single Tg a reliable indicator for the homogeneity of amorphous solid dispersion? *International Journal of Pharmaceutics*. 2010, **395**(1-2), 232–235. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2010.05.033.
21. HANCOCK, B. C., ZOGRAFI, G. Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems. *J. Pharm. Sci.* 1997, **86**(1), 1–12.

22. BLASI, Paolo, SCHOUBBEN, Aurélie, GIOVAGNOLI, Stefano, PERIOLI, Luana, RICCI, Maurizio and ROSSI, Carlo. Ketoprofen poly(lactide-co-glycolide) physical interaction. *AAPS PharmSciTech*. 2007, **8**(2), Article 37.
DOI: 10.1208/pt0802037.
23. Český lékopis 2009. První vydání. Praha: Grada publishing, a.s., 2009. 3968 s.
ISBN: 978-80-247-2994-7.
24. BRIARD, P.P., ROSSI, J.C. Kétoprofène. *Acta Cryst.* 1990, **C46**, 1036–1038. DOI: 10.1107/S0108270189004968.
25. SHAMSIPUR, Mojtaba, POURMORTAZAVI, Seied Mahdi, BEIGI, Ali Akbar Miran, HEYDARI, Rouhollah and KHATIBI, Mina. Thermal stability and decomposition kinetic studies of acyclovir and zidovudine drug compounds. *AAPS PharmSciTech*. 2013, **14**(1), 287 – 293. DOI: 10.1208/s12249-012-9916-y.
26. LINCOVÁ, Dagmar, FARGHALI, Hassan et al. Základní a aplikovaná farmakologie. Druhé, doplněné a přepracované vydání. Praha: Galén, 2007. 672 s.
ISBN 978-80-7262-373-0.
27. THUMMEL, K. E., SHEN, D. D. Design and optimization of dosage regimens: Pharmacokinetic data. In: Hardman, J.G., Limbird, L.E. (eds). *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 10th ed. New York: McGraw-Hill Co Inc, 2001, 1925 p.
28. Český lékopis 2009 – Doplněk 2011. První vydání. Praha: Grada publishing, a.s., 2011. 1552 s. ISBN: 978-80-247-3785-0.
29. PubChem Compound [online] [cit. 2014-08-30]. Dostupné z: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=2022&loc=ec_rcs#x27.
30. Mikro-verze AISLP 2014.3 [program] [cit. 2014-07-20].
31. ATTIA, Ismail A., EL-GIZAWY, Sanaa A., FOUUDA, Medhat A. and DONIA, Ahmed M. Influence of a niosomal formulation on the oral bioavailability of acyclovir in rabbits. *AAPS PharmSciTech*. 2007, **8**(4), 206–212. DOI: 10.1208/pt0804106.
32. Wikipedia, the free encyclopedia [online] [cit. 2014-07-10]. Dostupné z: http://en.wikipedia.org/wiki/Fluconazole#mediaviewer/File:Fluconazole_structure.svg.

33. PubChem Compound [online] [cit. 2014-07-10]. Dostupné z: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=3365&loc=ec_rcs#x27.
34. Český lékopis 2009 – Doplněk 2013. První vydání. Praha: Grada Publishing, a.s., 2013. 1168 s. ISBN 978-80-247-4679-1.
35. HELAL, Doaa A., EL-RHMAN, Dalia Abd, ABDEL-HALIM, Sally A., EL-NABARAWI, Mohamed A. Formulation and evaluation of fluconazole topical gel. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 2012, **4**(5), 176–183. ISSN – 0975-1491.
36. SALERNO, Claudia, CARLUCCI, Adriana M. and BREGNI, Carlos. Study of in vitro drug release and percutaneous absorption of fluconazole from topical dosage forms. *AAPS PharmSciTech* [online]. Jun 2010, **11**(2), 986–993 [cit. 2014-05-04]. DOI: 10.1208/s12249-010-9457-1. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2902339/>.
37. Wikipedia, the free encyclopedia [online] [cit. 2014-08-21]. Dostupné z: <http://en.wikipedia.org/wiki/Miconazole#mediaviewer/File:Miconazole2DCSD.svg>
38. LALLA, R. V. and BENSADOUN, R. J. Miconazole mucoadhesive tablet for oropharyngeal candidiasis. *Expert Rev Anti Infect Ther* [online]. 2011 Jan, **9**(1), 13–7 [cit. 2014-05-26]. DOI: 10.1586/eri.10.152. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21171872>.
39. HAŠEK, Jan. Nové léčivé látky v magistraliter receptuře XIV – mikonazol a mikonazol-nitrát. *Prakt. lékáren*. 2013, **9**(4–5), 192–195.
40. Therapeutisch Magistraal Formularium. Medisch farmaceutische kwaliteitszorg. [online] [cit. 2014-08-21]. Dostupné z: <http://www.mfk-qmp.be/nl/node/537>.
41. Wikipedia, the free encyclopedia [online] [cit. 2014-05-25]. Dostupné z: <http://en.wikipedia.org/wiki/Terbinafine>.
42. The United States Pharmacopoeial Convention [online] [cit. 2014-08-13]. Dostupné z: www.usp.org/.../TerbinafineHydrochlorideRevisionB...
43. TANRIVERDI, Sakine Tuncay, ÖZER, Özgen. Novel topical formulations of terbinafine-HCl for treatment of onychomycosis. *Eur J Pharm Sci*. 2013, **48**(4-5), 628–636. DOI: 10.1016/j.ejps.2012.12.014.