

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

**Alifatický polyester větvený na tripentaerythritolu
jako nosič v tuhých disperzích**

Diplomová práce

Hradec Králové 2016

Michaela Tomsová

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Alifatický polyester větvený na tripentaerythritolu jako nosič v tuhých disperzích vypracovala pod odborným vedením PharmDr. Evy Šnejdrové, Ph.D. samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato diplomová práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Michaela Tomsová

Ráda bych poděkovala PharmDr. Evě Šnejdrové, Ph.D. za cenné rady, věcné připomínky a vstřícnost při konzultacích a vypracování diplomové práce. Dále děkuji ing. Martinu Drastíkovi, Ph.D. za pomoc při stanovení mikonazolu.

1 ABSTRAKT

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Farmaceutické technologie

Jméno a příjmení: **Michaela Tomsová**

Název diplomové práce: *Alifatický polyester větvený na tripentaerythritolu jako nosič v tuhých disperzích*

Školitel: PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.

Diplomová práce se zabývá přípravou a hodnocením tuhých disperzí založených na biodegradabilních polymerních nosičích: (i) lineárním kopolymeru kyseliny D,L-mléčné a kyseliny glykolové v poměru 1:1 (PLGA) a (ii) polyesteru kyseliny D,L-mléčné a kyseliny glykolové větveném na centrální molekule tripentaerythritolu (3T). Léčivé látky (kyselina salicylová, mikonazol) byly inkorporovány metodou rozpouštění a evaporace rozpouštědla (ethylmethylketon) nebo metodou tavení. Byly hodnoceny termické a liberační vlastnosti tuhých disperzí. Teoretická část se zabývá metodami inkorporace léčiva do polymerních nosičů, interakcemi polymer-léčivo a léčivými přípravky s obsahem kyseliny salicylové a mikonazolu. Výsledky termické analýzy soustav s kyselinou salicylovou nebo mikonazolem neprokázaly přítomnost krystalické ani amorfni formy léčiva. Z toho usuzujeme, že jsou léčiva molekulárně dispergována v polymerních nosičích. Přídavkem 5% kyseliny salicylové dojde k mírnému snížení teploty skelného přechodu polymerní soustavy, zatímco inkorporace 3% mikonazolu má efekt opačný. Z porovnání liberačních charakteristik PLGA a 3T je patrné, že vhodnějším nosičem je větvený polyester 3T, ze kterého se kyselina salicylová po počátečním jednohodinovém burstu ve výši 35 % uvolňuje rovnoměrně po dobu 4 dnů.

Klíčová slova: polyestery, tuhé disperze, liberace, kyselina salicylová, mikonazol, DSC, magistraliter příprava

2 ABSTRACT

CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE

Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove

Department of Pharmaceutical technology

Name of the student: **Michaela Tomsová**

Title of diploma thesis: *Aliphatic polyester branched on tripentaerythritol as carrier in the solid dispersions*

Consultant: PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.

Diploma thesis deals with the formulation and evaluation of solid dispersions based on biodegradable polymeric carriers: (i) a linear copolymer of D, L-lactic acid and glycolic acid in a ratio of 1:1 and (ii) a polyester of D, L-lactic and glycolic acids branched on central molecule of tripentaerythritol. Active substances (salicylic acid, miconazole) were incorporated by dissolution and evaporation of the solvent (ethylmethylketone), or by melting method. Liberation and thermal properties of solid dispersions were evaluated. Theoretical part deals with methods of incorporation of the drug into the polymeric carriers, polymer-drug interactions, and medicinal preparations containing salicylic acid and miconazole. The results of thermal analysis of the solid dispersions demonstrated the absence of an amorphous or crystalline state of the drugs. We conclude that the drugs are molecularly dispersed in the polymeric carriers. Addition of 5% salicylic acid occurs mild decrease in glass transition temperature, while the addition of 3% miconazole has an opposite effect. Compared to the release characteristics of linear and branched polyester more suitable carrier is the branched one that releases active ingredient gradually for 4 days after 35 % one-hour burst-effect.

Keywords: polyesters, solid dispersion, drug release, salicylic acid, miconazole, DSC, extemporaneous preparation

3 OSNOVA

1	Abstrakt.....	4
2	Abstract.....	5
3	Osnova	6
4	Zadání práce.....	8
5	Úvod.....	9
6	Teoretická část	10
6.1	Tuhé disperze	10
6.1.1	Metody inkorporace léčivých látek.....	12
6.1.2	Charakterizace fyzikálně chemických vlastností	15
6.2	Složky tuhých disperzí použitých v diplomové práci	18
6.2.1	Polyestery kyseliny mléčné a glykolové.....	18
6.2.2	Rozpouštědlo	19
6.2.3	Kyselina salicylová	20
6.2.4	Mikonazol, mikonazol-nitrát '.....	26
7	Experimentální část.....	29
7.1	Použité přístroje	29
7.2	Použité suroviny.....	29
7.3	Příprava tuhých disperzí s kyselinou salicylovou	30
7.3.1	Příprava tavením	30
7.3.2	Příprava rozpouštěním	30
7.4	Příprava tuhých disperzí s mikonazolem	30
7.4.1	Příprava tavením nosiče.....	30
7.5	Příprava fosfát-citrátového pufru, pH 7,4	31

7.6	Kalibrační přímka kyseliny salicylové.....	32
7.7	Disoluční testy.....	33
7.7.1	Disoluce kyseliny salicylové	33
7.7.2	Disoluce mikonazolu	34
7.8	Měření termických charakteristik na DSC.....	35
8	Výsledky	37
8.1	Liberace kyseliny salicylové - metoda tavení nosiče.....	46
8.2	Liberace kyseliny salicylové - metoda rozpouštění nosiče	50
8.3	Liberace mikonazolu.....	52
9	Diskuze	54
9.1	DSC charakteristika	54
9.2	Liberace kyseliny salicylové	57
9.3	Liberace mikonazolu.....	59
10	Závěry	60
11	Seznam literatury	61

4 ZADÁNÍ PRÁCE

Zadáním diplomové práce je inkorporace léčivých látek do lineárního a větveného polyesteru kyseliny mléčné a glykolové, studium termických vlastností tuhých disperzí a studium liberace léčiv. Zadání je možno formulovat v následujících bodech:

1. Jako nosič léčiv použít lineární polyester tvořený ekvimolárním množstvím kyseliny glykolové a kyseliny DL-mléčné (PLGA) a polyester kyseliny glykolové a kyseliny DL-mléčné větvený tripentaerythritolem v koncentraci 3% v reakční směsi (3T).
2. Do polyesterových nosičů inkorporovat kyselinu salicylovou nebo mikonazol metodou tavení nebo metodou rozpouštění.
3. Provést termickou analýzu léčivých látek, polymerních nosičů a tuhých disperzí složených z polyesteru a léčiva.
4. Provést disoluční test kyseliny salicylové a mikonazolu z polyesterových matric.

5 ÚVOD

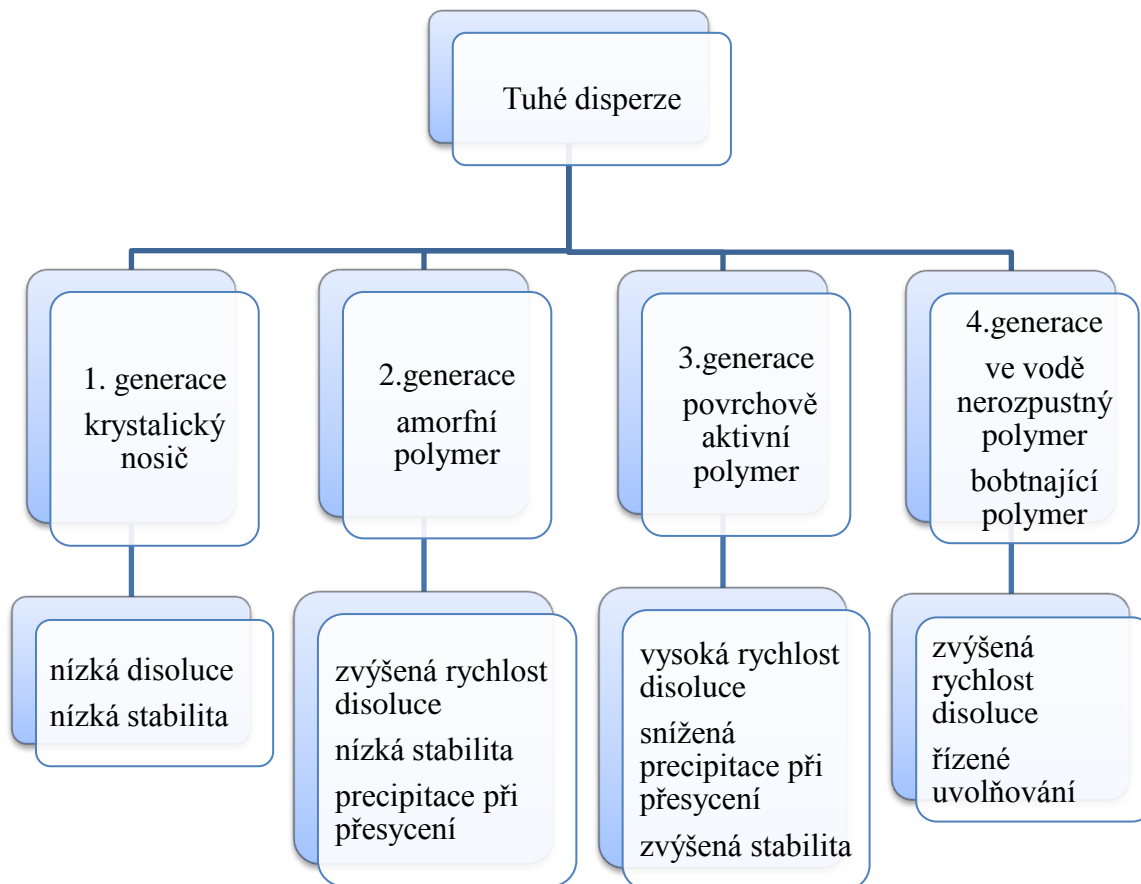
Tato diplomová práce metodicky navazuje na diplomové a rigorózní práce z minulých let, které se zabývaly využitím lineárních nebo větvených polyesterů kyseliny mléčné a glykolové jako nosičů léčiv. Tyto polymery byly syntetizovány na Katedře farmaceutické technologie FaF UK a jejich charakteristiky (molární hmotnost, stupeň větvení, teplota skelného přechodu) byly stanoveny v Synpo a.s. Pardubice. Dosud byly studovány tuhé disperze s flukonazolem^{1,2} a aciklovirem^{3,4} Pro inkorporaci léčiv použita metoda tavení, metoda rozpouštění a evaporace, nebo metoda plastifikace. Byla použita různá rozpouštědla⁵ (2-butanon, dichlormethan, ethylacetát, methylformiát) a různé plastifikátory⁶ (triethylcitrát, methylsalicylát, ethylsalicylát, ethylpyruvát, triacetin aj.). Ukázalo se, že větvené polymery jsou perspektivní nosiče v tuhých disperzích, především z důvodu zvýšení biodostupnosti a možnosti řízeného uvolňování účinné látky. Ve spolupráci s mikrobiology a farmakology jsou vybírány nové léčivé látky pro inkorporaci do polymerů. Snaha je určit fyzikálně-chemický stav léčiva v polymerní soustavě, povahu vazeb mezi léčivem a polymerem, reologické, adhezivní a liberační vlastnosti. Problémem může být stanovení množství uvolněného léčiva z matric. Předložená diplomová práce je příspěvkem k řešení této tematiky.

6 TEORETICKÁ ČÁST

6.1 Tuhé disperze

Nízká rozpustnost účinných látek ve vodě⁷ je v současnosti jedním z největších problémů při formulaci léčivých přípravků s přijatelnou biologickou dostupností. Existuje mnoho různých metod, jak zvýšit rozpustnost účinných látek ve vodě.⁸ Jedna z nejúspěšnějších je formulace tuhých disperzí, která jsou definovány jako disperze jedné nebo více účinných látek v inertním nosiči. Jako nosiče se nejčastěji využívají hypromelosa, povidon, polyethylenglykol, hyprolosa, poloxamery a jejich kombinace (např. hypromelosa/hyprolosa, poloxamer/povidon).⁸ Výhodou tuhých disperzí je velikost částic účinné látky inkorporované v nosiči, jež se může dostat na molekulární úroveň, relativně jednoduchá příprava a možnost škálování. Nevýhodou je pak možná rekrystalizace účinné látky z amorfního stavu během skladování, což vede ke snížení biodostupnosti.⁹ Byla navržena klasifikace tuhých disperzí do čtyř generací (Obr. 1) v závislosti na vlastnostech polymerního nosiče.⁸

Obr. 1: Klasifikace tuhých disperzí



První generací jsou krystalické tuhé disperze, kde je účinná látka dispergována v nosiči a tvoří eutektickou či monotektickou směs.^{10,11} Účinná látka zde může existovat ve formě amorfních částic nebo molekul (krystalické pevné roztoky), kde molekuly účinné látky mohou nahradit molekuly nosiče v krystalické mřížce.¹² Jako nosiče byly použity např. tyto látky - močovina, sorbitol a mannitol. Tyto nosiče, zejména sacharidy, mají vysokou teplotu tání, což je nevýhodné při přípravě tuhé disperze metodou tavení.^{10,13,14} Druhá generace zahrnuje amorfní nosiče (ve většině případů polymery). Amorfni tuhé disperze lze rozdělit na amorfni tuhé roztoky a amorfni tuhé suspenze. U amorfni tuhých roztoků jsou účinná látka a nosič mísitelné, vzniká tak homogenní směs, na rozdíl od amorfni suspenzí, které se skládají ze dvou oddělených fází.¹⁵ V těchto tuhých disperzích jsou účinné látky dispergovány ve formě velmi malých částic (molekulární amorfni částice nebo malé krystaly) a existují v přesyceném stavu

v amorfním nosiči z důvodu částečného rozpouštění těžko rozpustného léčiva.¹⁶ Amorfni nosiče zvyšují smáčivost a dispergovatelnost účinných látek, rovněž inhibují precipitaci účinných látek.¹⁷ Jako nosiče ve druhé generaci byly použity např. povidon, polyethylenglykol, krosopovidon, hypromelosa a inulin.⁸

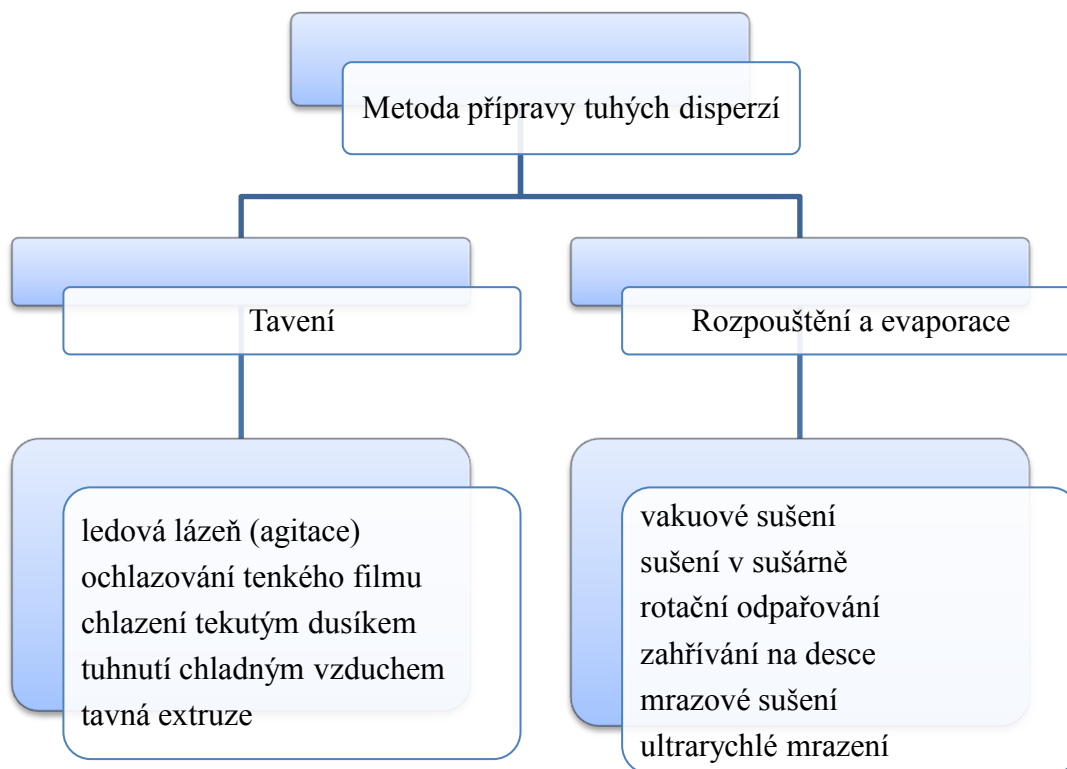
Ve třetí generaci tuhých disperzí byly přidány k amorfním polymerům tenzidy a kotenzidy, aby se zabránilo rekrystalizaci a precipitaci, ke kterým může docházet při chlazení, odstraňování rozpouštědla nebo při skladování. Povrchově aktivní látky zvyšují smáčivost léčiva, přispívají ke zlepšení disolučního profilu, ale také k chemické stabilitě účinné látky. Jako tenzidy se využívají např. poloxamery, polysorbát 80.^{18,19}

Tuhé disperze s řízeným uvolňováním účinné látky patří do čtvrté generace. Jako nosiče se využívají ve vodě nerozpustné polymery nebo ve vodě bobtnající polymery, které zpomalují liberaci účinné látky. Ta se z polymeru uvolňuje erozí nebo difúzí s Case II efektem.^{20,21} Léčivé přípravky s postupným uvolňováním mají výhodu v nižší frekvenci dávkování a nižším výskytu vedlejších účinků.²² Jako polymerní nosiče lze použít např. ethylcelulosu, hydroxypropylcelulosa, polyethylenoxid a karbomer.⁸

6.1.1 Metody inkorporace léčivých látek

Existují dvě základní metody inkorporace léčivých látek do polymerních nosičů, které lze je i kombinovat (Obr. 2). Příprava tuhých disperzí představuje účinnou metody zvyšování rozpustnosti špatně rozpustných látek, čímž se u nich zvýší biodostupnost a terapeutický účinek léčivého přípravku.

Obr. 2: Metody přípravy tuhých disperzí



6.1.1.1 Metoda tavení

Jedná se o nejpoužívanější metodu inkorporace léčiva do polymerního nosiče. Nezbytným předpokladem je mísitelnost a především kompatibilita účinné látky a polymerního nosiče v roztaveném stavu, aby došlo ke vzniku homogenní směsi. V některých případech lze pro zvýšení smáčivosti použít povrchově aktivní látky. Metoda spočívá v tavení polymeru s léčivou látkou při teplotě vyšší než je eutektický bod, tj. nejnižší teplota existence taveniny obou látek, které se spolu izomorfne nemísí.⁸ Následně se směs ochladí různými technikami, např. pomocí studené lázně,²³ vylitím na ocelovou desku a následným chlazením vzduchem nebo vodou.²⁴ Jiný způsob spočívá ve vylití disperze do vhodné nádoby, např. na Petriho misky a umístění do exsikátoru,²⁵ nebo ponoření do tekutého dusíku. Vzniklá pevná směs může být rozdrčena a proseta přes síto určité velikosti ok dle požadované velikosti částic. Nejpoužívanějšími polymery pro tuto metodu jsou polyethylenglykoly,²⁶ povidony, poloxamery.²⁷

Výhodou metody tavení v porovnání s metodou rozpouštění je absence rozpouštědla.²⁸ Mezi limitace metody patří termolabilita účinné látky a nosiče ve vysokých teplotách tavení.⁸

Závěrečnou fází metody tavení je např. tavná extruze, při které dochází k protlačení horké taveniny přes extrudér a tvarování do finálních lékové formy (tablety, pelety, granule, implantáty, transdermální systémy a oční inserty).^{29,30} Do taveniny se mohou přidat pro zvýšení stability a kvality přípravku různé pomocné látky, např. plastifikátory, pH modifikátory aj. Jako výhoda se udává kratší doba, po kterou je směs v extruderu než u tavných metod bez použití aditiv. To snižuje riziko degradace termolabilních látek.³¹

6.1.1.2 Metoda rozpouštění

Metoda spočívá v rozpuštění léčivé látky a polymerního nosiče ve vhodném rozpouštědle za účelem lepší homogenity výsledné tuhé disperze. Nejčastěji se využívá ekvimolární směs dichlormethanu a ethanolu v poměru 1:1 k léčivu. Roztok polymeru a léčiva se poté ponechá v rotační odparce po dobu několika minut a vzorky se uschovají ve vakuu nejméně 12 hodin, aby se odstranila možná rezidua použitého rozpouštědla.³² K dalším používaným rozpouštědlům patří také methanol. Vzorky jsou v rotační odparce při teplotě 65 °C a tlaku 100 mbar po dobu 15 minut, nebo dokud není vzorek úplně suchý. Vzorky jsou před analýzou prosety přes síto určité velikosti (např. 350 µm) a uskladněny v exsikátoru³³. Výběr rozpouštědla závisí zejména na toxicitě a těkavosti rozpouštědla a na rozpustnosti a kompatibilitě léčivé látky. Následně může být směs vylita v tenké vrstvě na antiadhezivní podložku (např. hliníková, ocelová, silikonová). Směs se suší, z počátku při vyšší teplotě po kratší dobu (řádově minuty), poté se přenesse do skleněných vialek a suší se při nižší teplotě po delší dobu (řádově hodiny).³⁴ Pro tuto metodu je stěžejní nutnost nalezení netoxického rozpouštědla, které je vhodné jak pro nosič, tak pro léčivo. Nosiče mohou být zvoleny hydrofilní (např. 1. generace nosičů), ale v dnešní době převládají hydrofobní polymery (4. generace nosičů). Inkorporovány mohou být aktivní látky hydrofilní i hydrofobní.³⁵

6.1.1.3 Metoda tavení - rozpouštění

Jedná se o kombinaci rozpouštění a tavení. První krok je rozpuštění léčivé látky ve vhodném rozpouštědle, tavení polymerního nosiče a poté následuje smísení roztoku

léčiva s roztaveným nosičem. Následuje odstranění rozpouštědla a formování do tuhé disperze. Za výhodu se dá považovat, že léčivo je vystaveno nižší teplotě než při metodě tavení, což je samozřejmě výhodné pro termolabilní účinné látky, u kterých by mohlo dojít k termálnímu rozkladu.⁸

6.1.2 Charakterizace fyzikálně chemických vlastností

6.1.2.1 Diferenční skenovací kalorimetrie

Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) je jednou z nejvyužívanějších metod pro charakterizaci látek. Řadí se mezi metody lékopisné.²⁸ Při analýze vzorku pomocí DSC dochází k termodynamickým změnám vzorku při zahřívání nebo naopak chlazení. Analýza podává přesné informace o teplotě tání krystalických látek, teplotě skelného přechodu amorfních látek, zda je léčivo v polymerním nosiči rozpuštěné, zda nekystalizuje při vyšších koncentracích, posun teploty skelného přechodu (zvýšení či snížení – plastifikace, antiplastifikace). Pomocí výstupů z DSC lze také vypočítat stupeň krystalinity látky (pod 2% krystalinity nelze detekovat) a také energetické změny spojené s fázovými změnami. Při absenci píku teploty tání v DSC termogramu lze odhadovat, že tato látka se nachází v amorfním stavu.⁸

Při metodě dochází k lineárnímu ohřevu nebo k chlazení substancí. Uvnitř přístroje jsou dva vzorky. Jeden, který chceme zanalyzovat a druhý, sloužící jako srovnávací. Princip metody spočívá v měření energie nebo tepla potřebného k tomu, aby teplota měrného a srovnávacího vzorku byla stejná. Výhodou metody je skutečnost, že k analýze postačují opravdu minimální množství (do 10 mg). Důležitá je rychlost ohřevu, obvykle se volí 10 °C/min. Celkový rozsah teplot se u různých přístrojů liší, nejčastěji bývá od -40 °C do 450 °C.

Existují dvě různá uspořádání přístroje. U DSC s tepelným tokem (hf-DSC) se měří rozdíl teplot mezi vzorkem a referencí, přičemž každý z nich je umístěn na samostatném teplotním čidle, spojené tepelným mostem; oba dva vzorky jsou umístěny v jedné cele. Výsledkem měření je závislost tepelného toku na teplotě. Při DSC s kompenzací příkonu se měří energie potřebná k vyrovnání teplot mezi vzorkem a referencí. Výstup je stejný jako hf-DSC, rozdílem od DSC s tepelným tokem jsou dvě cely, kde jsou umístěny vzorek a reference.³⁶

6.1.2.2 Spektroskopie v infračervené oblasti

IČ spektroskopie je nedestruktivní analytická a lékopisná²⁸ metoda sloužící k identifikaci především organických látek, tedy i k identifikaci polymerů a kompozitů. Absorpční spektra jsou v intervalu vlnových délek od 0,78 - 1000 mm (tj. vlnčet 12800 – 10 cm⁻¹). Celá oblast je rozdělena na blízkou (13000 - 4000 cm⁻¹), střední (4000 - 200 cm⁻¹) a vzdálenou (200 - 10 cm⁻¹) infračervenou oblast, přičemž nejpoužívanější je střední oblast.

U spektrometrie ve střední oblasti metoda spočívá v interakci IČ záření a vzorku, kdy dochází k vibračně-valenčním změnám v závislosti na změnách dipólového momentu molekuly. Spektrofotometry se skládají z vhodného zdroje světla, monochromátoru (princip rozklad světla - disperzní spektrometry) nebo interferometru (infračervených spektrometrů s Fourierovou transformací - FTIR spektrometry) a detektoru.

V dnešní době se rozšířilo používání FTIR spektrometrů, protože disperzní spektrofotometry neumožňovaly analýzu silně absorbujících matic. FTIR přístroje pracující na principu interference spektra, které na rozdíl od disperzních přístrojů měří interferogram modulovaného svazku záření po průchodu vzorkem. Tyto přístroje vyžadují matematickou metodu Fourierovy transformace, abychom získali klasický spektrální záznam. FTIR spektrometry vykazují celou řadu výhod. Při měření dopadá na detektor vždy celý svazek záření. Takové uspořádání umožňuje i experimenty, při nichž dochází k velkým energetickým ztrátám, tj. měření již zmiňovaných silně absorbujících vzorků.

Výstupem je infračervené spektrum, které je grafickým zobrazením funkční závislosti energie, většinou vyjádřené v procentech transmitance (T) nebo jednotkách absorbance (A) na vlnové délce dopadajícího záření. IČ spektrum je složeno z mnoha absorpčních pásů, které odpovídají příslušným funkčním skupinám.^{37,38,39}

Spektrometrie v blízké infračervené oblasti (NIR spektrofotometrie) je metodou široce využívanou ve farmaceutických analýzách. Intenzita absorpčních pásů v blízké infračervené oblasti je mnohem nižší, než je intenzita jejich základních vibrací ve střední infračervené oblasti. Všechna NIR měření jsou založena na průchodu světla vzorkem nebo povrchem vzorku a měření zeslabení (prošlého, rozptýleného nebo odraženého) paprsku. Spektrofotometry spekter v blízké infračervené oblasti se skládají z vhodného zdroje záření a z monochromátoru nebo z interferometru. Jako

monochromátory se obvykle používají optoakustické laditelné filtry, mřížky nebo hranoly. Jako zdroje záření o vysoké intenzitě se používají nap. wolframové a křemenné lampy. Spektrální odezvu ovlivňuje zejména teplota vzorku (zejména u tekutých), vlhkost a zbytková rozpouštědla, tloušťka, polymorfie a stáří vzorku. Výstupem je opět infračervené spektrum. U obou oblastí se poté porovnávají spektra s referenčním spektrem, nebo je nutné provést matematickou validaci naměřených dat.²⁸

6.1.2.3 Prášková rentgenová difrakce

Prášková rentgenová difrakce (PXRD) je velice často využívaná lékopisná metoda²⁸ identifikace krystalického stavu látky. Princip je takový, že na práškovavý vzorek dopadá rentgenové záření a dochází k interakci rentgenového záření s elektronovými obaly atomů. Detektor následně zaznamenává interferované rentgenové záření o stejné vlnové délce, a tudíž můžeme měřit mřížkové parametry látek. Pokud vzorek obsahuje více složek, dostaneme několik mřížkových parametrů, protože každá složka má specifické mřížkové parametry (dochází ke specifickému ohybu paprsků). Přístroj dále obsahuje vysokoteplotní a komoru s řízenou vlhkostí. Ve vysokoteplotní komoře lze vzorek nahřát až na 1600 °C a můžeme sledovat fázové přeměny, které se dějí při postupném zahřívání látky. Ve vlhkostní komoře se vzorek podrobuje hydrataci a sledujeme opět fázovou přeměnu. Výsledkem je určení charakteristických struktur léčiva, které lze jednoznačně odlišit od polymerního nosiče. Nevýhodou je, že krystalinita pod 5 - 10 % je touto metodou nedekovatelná^{40,41,42}

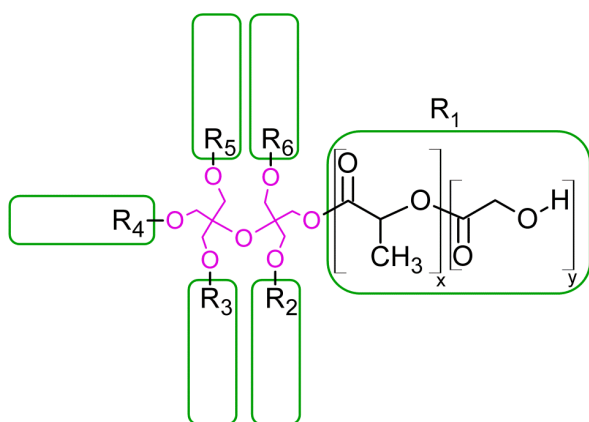
Z práškového difrakčního záznamu lze získat tři druhy informací: úhlové pozice difrakčních píků (závislé na geometrii a velikosti elementární buňky), intenzity difrakčních píků (závislé hlavně na druhu a uspořádání atomů a na orientaci částic ve vzorku) a profily difrakčních píků (závislé na přístrojovém rozlišení, na velikosti a pnutí krystalit a na tloušťce vzorku).²⁸

6.2 Složky tuhých disperzí použitých v diplomové práci

6.2.1 Polyestery kyseliny mléčné a glykolové

Kopolymery kyseliny DL-mléčné a glykolové (PLGA) jsou biodegradabilní polymery široce využívané v medicíně, v tkáňovém inženýrství a v ortopedii. Jsou syntetizovány polymerizací pomocí otevření kruhů dvou různých monomerů, kyseliny DL-mléčné a kyseliny glykolové. Získané polyestery mají vysokou molární hmotnost. Konvenčně se označují poly(laktidy-*co*-glykolidy). Jako nosiče léčiv se dobře uplatňují větvené polymery s nižší molární hmotností. Zejména z důvodu kratší doby jejich degradace (řádově hodiny až dny). Větvicí složkou mohou být vícesytné alkoholy a cukry, jako je např. mannitol, pentaerythritol, glukosa nebo polyvinylalkohol (obr. 3).

Obr. 3: Schéma větveného polyesteru⁴⁴



Větvené polyestery použité v předložené diplomové práci byly syntetizovány stupňovou kopolymerací systému složeného z ekvimolární směsi kyseliny glykolové a kyseliny DL-mléčné, doplněné větvicím monomerem různého typu a koncentrace. Mají různý stupeň větvení a různou molární hmotnost.

Tab. 1: Charakteristika polymerů PLGA a 3T

Označení nosiče	Poměr LA/GA/T [%]	M_n [g/mol]	M_w [g/mol]	T_g [°C]	g'
PLGA	50/50/0	1833	4086	17,0	1,00
3T	48,5/48,5/3,0	7 900	20 600	21,7	0,31

M_n [g/mol] je číselně střední molární hmotnost

M_w [g/mol] je hmotnostně střední molární hmotnost

T_g [°C] je teplota skelného přechodu

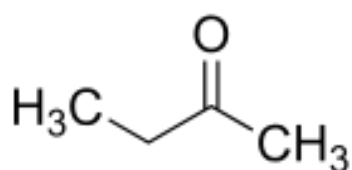
$g'=(\eta_{br}/\eta_{lin})$ je větvicí poměr stanovený z vnitřní viskozity lineárního (lin) a větveného (br) polymeru při shodné molární hmotnosti (lineární PLGA má $g'=1,0$)

Tyto kopolymery podléhají tzv. homogenní neenzymatické degradaci, která probíhá v celém objemu polymeru. Rychlost penetrace vody do tělesa je stejná nebo vyšší než rychlost difúze rozpustných degradačních produktů z polymerního tělesa. Degradace probíhá hydrolytickým štěpením nestabilních esterových skupin v polymerním řetězci. Výsledkem degradace je kyselina L-mléčná a glykolová. Kyselina L-mléčná vstupuje do citrátového cyklu, z těla je následně eliminována jako voda a oxid uhličitý. Kyselina glykolová je z těla z větší části exkretována, malá část také vstupuje do citrátového cyklu. Celková doba degradace závisí především na molární hmotnosti, stupni krystalinity a větvení a fyzikálně-chemických vlastnostech polymerního tělesa.^{43,44}

6.2.2 Rozpouštědlo

K rozpouštění léčivé látky a polymeru při přípravě tuhých disperzí metodou rozpouštění byl použit ethylmethylketon (obr. 4). V předchozích pracích již byla testována i jiná rozpouštědla, např. dichlormethan nebo ethylacetát.⁵

Obr. 4: Struktura ethylmethylketonu⁴⁵

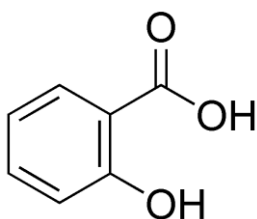


Ethylmethylketon je bezbarvá hořlavá kapalina s molekulovou hmotností 72,11. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a mísitelný s ethanolem 96%. Bod varu nastává při 79 - 80°C, taje při -86°C. Používá se jako organické rozpouštědlo ve výrobě pryže, pryskyřic, nátěrů z acetátu celulosy a z nitrocelulosy. Nachází také uplatnění při výrobě plastů, textilu, parafinového vosku a různých produktů pro domácnost, například laků, mořidel, odstraňovačů nátěrů.^{28,45}

V lékopise je zařazen mezi rozpouštědla třídy 3, která jsou považována jako méně toxická a s nižším rizikem pro lidské zdraví v koncentracích běžně přijatých v lékopisech. Pro mnohá z nich chybí dlouhodobé studie karcenogenity a toxicity, dostupné studie prokazují, že nemají genotoxické účinky.²⁸

6.2.3 Kyselina salicylová

Obr. 5: Kyselina salicylová ⁴⁶



Kyselina salicylová má molekulovou hmotnost 138,12, teplotu varu 211°C a teplotu tání 159°C.²⁸ pKa je 2,97, pH nasyceného roztoku je asi 2,4.⁴⁹ Kyselina salicylová je ve formě bílého nebo téměř bílého krystalického prášku, nebo jako bílé či bezbarvé jehlicovité krystaly, bez zápachu, chuti nasládlé štiplavé.⁴⁹ Rozpustnost kyselina salicylové v různých rozpouštědlech je u vedena přehledně např. v monografii Sklenář et al.⁴⁹ Kyselina salicylová je využívána pro své analgetické, protizánětlivé a antipyretické vlastnosti.⁴⁷ Po perorální aplikaci je silně dráždivá v gastrointestinálním traktu, a proto se v dnešní době využívá především zevně jako dermatologikum. Mezi další vlastnosti patří také antiseptické (koncentrace 1 až 2 %), konzervační, keratolytické, keratoplastické a nespecifické antimykotické schopnosti,⁴⁸ které vhodně doplňují zmíněné keratoplastické až keratolytické vlastnosti, čímž se zvyšuje průnik

současně podávaných léčiv do hlubších vrstev epidermis (např. kombinace s kortikoidy).⁴⁹ Kyselinu salicylovou řadíme do tzv. keratolytik v užším slova smyslu, což znamená, že výrazně změkčují rohovou vrstvu, rozpouštějí tmelovou mezibuněčnou hmotu a tím snižují soudržnost rohovinových lamel. Keratoplastický účinek naopak podporuje tvorbu rohové vrstvy. Tohoto efektu se dosahuje použitím keratolytických léčiv v nižší koncentraci než je 10%, tj. koncentrace pod 10% je pouze keratoplastická (nejčastěji 1 - 3%). Kyselina salicylová se nejčastěji předepisuje v koncentracích od 1 - 40 % do mastí, krémů, lihových roztoků, zásypů, emulzní a kolodií. Výhodnou vlastností je, že dokáže v kůži vytvořit depo, ze kterého se následně postupně uvolňuje. Kombinace s močovinou je možná, ale pouze v základech neobsahujících vodu nebo jiná hydrofilní vehikula. Snadno prochází i neporušenou kůží, a proto je zde riziko vzniku perkutánní resorpce toxických množství, a to zejména u dětí, starších lidí a osob s porušenou funkcí jater a ledvin. Přípravky s obsahem kyseliny salicylové by se neměly podávat kojencům do 6 měsíců, u starších kojenců a dětí by koncentrace neměla překročit 1% a aplikace by měla být pouze krátkodobá. Jako vhodná alternativa se jeví přípravky s močovinou. Pozor se musí dávat i u interakcí s dalšími léčivy, jako je např. methotrexát a kumarinové deriváty, kdy absorbovaná kyselina salicylová zesiluje účinek těchto látek. Současné podání s warfarinem je možné pouze se zvýšenou opatrností.⁴⁹

HVLP přípravky s obsahem kyseliny salicylové

Kyselina salicylová se v dnešní době vyskytuje pouze v topických přípravcích. Nejčastěji to jsou masti, gely, kožní roztoky, ale i oční kapky. Využívá se hlavně na různá chronická zánětlivá onemocnění kůže a proti bradavicím. Často se vyskytuje v kombinaci s kortikoidy a močovinou.

Kyselina salicylová je obsažena v kožním roztoku Actikerall, kde je spolu s fluorouracilem podávána za účelem léčby hyperkeratotické iradiační keratózy, v dalším kožním roztoku je v kombinaci s prednisolonem (Alpicort) používaný proti psoriáze, alopecii, seboroické dermatitidě, je vhodný od 3 let. Alpicort F je přípravek na podobné bázi jako Alpicort, s tím rozdílem, že ještě navíc obsahuje estradiol-benzoát. Používá se ke zmírnění vypadávání vlasů u zánětlivých onemocnění pokožky hlavy. V kombinaci s betamethasonem-dipropionátem jsou hromadně vyráběny přípravky

Belosalic a Diprosalic, oboje ve formě masti a kožního roztoku. Používá se na hyperkeratózy, ekzémy, ichtyózy, psoriázy a seboroické dermatitidy. Další kožní roztok s obsahem kyseliny salicylové je Duofilm, mimo jiné obsahuje kolodium a kyselinu mléčnou, používá se na léčbu bradavic. Verrumal k léčbě bradavic obsahuje ještě navíc fluorouracil. V kombinaci s močovinou je obsažena v masti Kerasal, má obdobné použití jako Alpicort. Hromadně vyráběný gel s kyselinou salicylovou je Mobilat, obsahuje ještě extrakt z kůry nadledvinek a glykosaminoglykan-polysulfát. Pomocná léčba při stavech po tupých poraněních, jako je podvrtnutí, zhmoždění, distorze, bolestivost při pohybu a otoky způsobené zánětem kloubů, svalů, šlach a měkkých tkání u dospělých pacientů. Ve formě masti s mometasonem-furoátem (Momesalic) se používá proti středně závažné až těžké psoriáze. Další mast s obsahem kyseliny salicylové je Triamcinolon S léčiva (koncentrace 3%), kde je v kombinaci s triamcinolonem-acetonidem. Použití je na ekzémy a psoriázu. Kyselina salicylová se používá také pro lokální léčbu oka, je obsažena v očních kapkách Sophtal-pos N v koncentraci 0,1%, kde je indikován k léčbě blefaritid a kojunktivitid.⁵⁰

Magistraliter přípravky s kyselinou salicylovou

Při magistraliter přípravě s kyselinou salicylovou je potřeba dbát na určitá pravidla. V přípravcích, kde má být kyselina salicylová suspendována (masti, krémy), by během přípravy nemělo docházet k zahřívání, protože po ochlazení by mohlo dojít k vykrytalizování kyseliny salicylové ve formě malých jehliček, které svou velikostí překračují povolené limity a mohly by dráždit pokožku. Vždy se do topických polotuhých přípravků zapracovává v suspenzní podobě, k jejímu předmísení se použije kapalina, ve které je nerozpustná (tekutý parafín, glycerol 85%), nebo aspoň méně rozpustná než v základu, který použijeme. V žádném případě se nesmí použít kapalina, ve které je rozpustná (ricinový olej), protože se většina navážené kyseliny salicylové rozpustí v oleji a po přidání základu dochází k vykrytalizování částic kyseliny salicylové. Je-li třeba mít naopak kyselinu salicylovou rozpuštěnou, např. ve slunečnicovém oleji, je potřeba při koncentracích vyšších než 2% použít pomocné rozpouštědlo (např. ricinový olej). Avšak maximální koncentrace kyseliny salicylové je 10%. Jinak by mohlo dojít při uchovávání přípravku k vykrytalizování.⁴⁹

Příklady IPLP s kyselinou salicylovou

V následujícím textu jsou uvedeny receptury s obsahem kyseliny salicylové a u vybraných je popsán jejich možný postup přípravy.

Rp.	Picis lithanthracis	4,0
	Ichthammoli	2,5
	Ac. salicylici	8,0
	Vaselini fl.	ad 100,0
	M. f. ung.	
	D. S.	1× denně potírat.

Ichthamol se smísí s kamenouhelným dehtem v nerezové třence, kyselina salicylová se v jiné třence rozdrobní a smísí s tekutým parafínem (dle potřeby, cca 4,0-6,0 g tekutého parafínu). Po částech se přidává žlutá vazelína a vzniklá mast se postupně přidává k předem připravené směsi ichthamolu a dehtu a nakonec se důkladně promísí.⁵¹

Rp.	Dithranoli	0,1
	Ac. salicylici	5,0
	Ureae	3,0
	Dexamethasoni acetatis	0,01
	Vaselini fl.	ad 100,0
	M. f. ung.	
	D. S.	Na ložiska psoriázy.

K rozdrobněnému dithranolu se po částech přidává kyselina salicylová a močovina. Směs se smísí s malým množstvím tekutého parafínu. Dále se přidá asi 10,0 g žluté vazelíny, promísí se a nakonec se přidá 1% roztok dexamethasonu - acetátu. Postupně se přidává zbývající množství žluté vazelíny. Tato mast je indikována např. proti psoriáze.⁵¹

Rp.	Ac. salicylici	12,0
	Ac. lactici	6,0
	Vaselini fl.	ad 100,0
	M. f. ung.	
	D. S. Na tvrdou kůži plosek nohou.	

Kyselina salicylová se rozetře s tekutým parafínem (asi 6,0 až 8,0 g). Je doporučeno navážit 20,0 g Syndermanu (vazelína je neemulgující základ a kyselina mléčná je hydrofilní tekutina) a promísí se. Poté se přidá kyselina mléčná, po jejím vemulgování se po částech přimísí žlutá vazelína a mast se důkladně promísí. Mast se aplikuje např. na ztvrdlou kůži na nohou.⁵¹

Rp.	Ac. salicylici	11,0
	Pepsini pulveris	0,1
	Ac. lactici	
	Aq. purificata	aa 1,0
	Paraffini liq.	5,0
	Adipis lanae	10,0
	Vaselini flavi	ad 40,0
	M.f. pasta	
	D.S. Na ložiska 1x denně	

Kyselinu salicylovou rozetřeme s tekutým parafínem, přidáme tuk z ovčí vlny, část žluté vazelíny a důkladně promísíme. V další třence rozpustíme práškový pepsin ve směsi kyseliny mléčné a vody. Přimísíme obsah první třenky, dovážíme zbytek vazelíny a promísíme. Přípravek se nesmí nanášet okolo očí a na místa s tenkou a citlivou pokožkou, na sliznice a na poraněnou kůži. Používáme k odstranění nadměrné zrohovatělé kůže, nejčastěji bradavic, klavů a plantární hyperkeratózy.⁴⁹

Rp.	Ac. salicylici	
	Ac. lactici	aa 1,0
	Collodii elastici	10,0
	M. f. sol.	
	D. S. Aplikovat na bradavice, 2× denně po jejich seškrábnutí ⁵²	

Navážíme kyselinu salicylovou a kyselinu mléčnou, smísíme a nakonec přidáme kolodium a důkladně protřepeme. Aplikujeme na bradavice.

Rp. Ureae 10,0
 Ac. salicylici 15,0–20,0
 Paraf. liq. 20,0–25,0
 Vaselini flavi seu albi ad 200,0
 M. f. crm.
 D.S. zevně⁵³

Naváženou močovinu rozpustíme cca v 10 ml vody. V třence rozdrobníme kyselinu salicylovou v parafínu a po částech přidáváme vazelínu. Je možno část vazelíny nahradit Syndermanem pro lepší vemulgování roztoku močoviny. Aplikujeme na ztvrdlé paty.

Rp. Carbonis detergentis tinct. 10,0
 Ac. salicylici
 Ac. oleici aa 8,0
 Ethanol 60% ad 100,0
 M. f. sol.
 D. S. 1× denně do kštice.

Tinktura z kamenouhelného dehtu se smísí s kyselinou olejovou, po částech se přidává za promíchávání ethanol 60% a nakonec se ve směsi rozpustí kyselina salicylová. Indikujeme např. při lupénce do kštice.⁵³

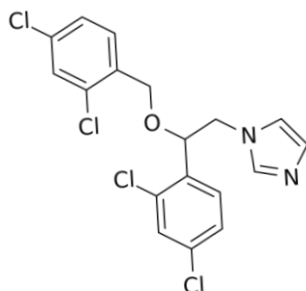
Rp. Ac. salicylici 2,0
 Sulfuris ad usum ext.
 Ricini olei virgin. aa 10,0
 Olivae olei raffinati ad 100,0
 M.f. susp.
 D.S. Na projevy 1x denně

Indikací je erythrasma lokalizovaná nejčastěji na vnitřní ploše stehien.⁴⁹

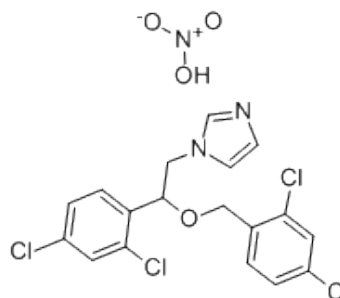
Rp. Tannini 3,0
 Ac. salicylici 0,9
 Zinci oxidi
 Talci aa ad 30,0
 M.f. pulv.adsp.
 D.S. Zasypávat postižená místa 1-3x denně⁴⁹

6.2.4 Mikonazol, mikonazol-nitrát^{54,55}

Obr. 6: Mikonazol



Obr. 7: Mikonazol-nitrát



Mikonazol má molekulovou hmotnost 416,13, teplotu varu 582,4 °C,⁵⁶ taje při 83 - 87°C a pK_A je 6,7.⁵⁷ Mikonazol je bílý nebo téměř bílý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v ethanolu 96%,³⁹ isopropylalkoholu a propylenglykolu⁵⁸ a snadno rozpustný v methanolu.

Mikonazol-nitrát má molekulovou hmotnost 479,15, teplota varu je mezi 159 - 163°C, teplotu tání 178 - 184°C, pK_A je 6,77.⁵⁹ Vzhledem je mikonazol-nitrát bílý nebo téměř bílý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu a těžce rozpustný v ethanolu 96 %.³⁸

Mikonazol řadíme mezi azolové antimykotikum (derivát imidazolu), který se dnes využívá pouze lokálně k léčbě kožních a slizničních mykóz včetně chronické mukokutánní kandidózy.⁶⁰ Dále je využíván na seboroickou dermatitidu, vaginální mykózy a mezi vedlejší indikace patří také akné.^{61,57} Účinkuje fungistaticky až fungicidně. Je účinný na G-pozitivní bakterie, zejména na dermatofyty (rod *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* a *Legoronia soudanensis*), kvasinky (rod *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Pityrosporum pachydermitis*, *Trichosporum cutaneum*), dimorfní houby (*Blastomyces brasiliensis*, *Histoplasma Capitulatum*), fykomycety, plísně, aktinomycety.^{62,63,64} Na G-negativní je mikonazol neúčinný. Mechanismem fungistatického účinku je inhibice syntézy ergosterolu v buněčné membráně hub, přesněji inhibice enzymu 14- α demetylázy, který je právě zodpovědný za syntézu ergosterolu. Fungicidní účinek spočívá v nahromadění reaktivních forem kyslíku, což je důsledek usmrcení houby.^{62,65}

HVLP přípravky s mikonazol-nitrátem

V České republice je registrován pouze jeden přípravek s obsahem mikonazolu-nitrátu. Tím je Klion-D 100, jedná se o vaginální tablety, které se podávají ženám proti urogenitální trichomoniáze nebo kandidóze. Aplikuje se vždy jedna tableta večer před spaním po 10 dní.⁶⁶

Magistraliter přípravky s mikonazolem a mikonazol-nitrátem

V jednofázových přípravcích (roztoky, roztokové masti) se pro rozpuštění mikonazolu nabízí jako vehikulu propylenglykol nebo makrogoly. Ve vícefázových přípravcích, kde je mikonazol suspendován, se používá mikronizovaná forma. Nejčastěji se jedná o hydrofilní gely a krémy, oleomasti. Z pevných lékových forem se zapracovává nejčastěji do vaginálních čípků a globulí. Při přípravě hydrofilních gelů se mikonazol může rozetřít např. s glycerolem 85 %, u krémů stačí mikonazol rozetřít s částí vehikula a poté se pomalu přidává zbylá část masťového základu (používají se základy typu Ambiderman, Neoaquasorb, Aniontový krém).^{67,58} Přehledný článek o magistraliter přípravcích a jejich možné přípravě vyšel v Praktickém lékárenství v roce 2013.⁵⁸

Rp.	Miconazoli	0,8
	Hypromellosi 4000	1,2
	Glyceroli 85%	6,8
	Menthae piperitae etheroleum	gtt. II (duas)
	Aque conservans	ad 40,0
	M.f. gelat.	
	D.S. 3x denně 3–4 kapky do ucha	

Hypromelosa se v kádince přelije asi 30,0 g vroucí konzervační vody a důkladně se promíchá za vzniku suspenze. Poté se přidá zbývající množství vody a promísí se. Zvlášť se smísí mikonazol s glycerolem 85 % a postupně se přidává k připravenému hypromelosovému gelu. Nakonec se přimísí silice z máty peprné. Indikace je proti orofaryngeální kandidóze.^{68,58}

Rp. Miconazoli 0,4
 Hydrocortisoni 0,2
 Ambidermani ad 20,0
 M.f. crm.
 D.S. 1-2x denně na osušenou kůži.

Smísíme mikonazol s hydrokortisonem a zhomogenisujeme je s částí Ambidermanu. Postupně se přidá zbývající množství základu. Doba použitelnosti je 1 měsíc. Aplikujeme na ekzematizované dermatomykózy, mikrobiální ekzémy, inverzní psoriáza a seborrhoickou dermatitidu.^{58,61}

Rp. Miconazoli nitratis 1,0
 Zinci oxidi 5,0
 Talci 44,0
 M.f. plv.
 D.S. na postižená místa

Mikonazol smísíme s částí oxidu zinečnatého, zhomogenizujeme. Postupně se přidá zbytek oxidu zinečnatého a mastek. Prášek se musí důkladně zhomogenizovat.⁶⁹

Rp. Miconazoli nitratis 1,0
 Cetomacrogoli emulsio 49,0
 M.f. emulsio
 D.S. nanést ráno a večer do postižené oblasti

Navážíme mikonazol a přidáme cca 5 g emulze cetomakrogolu. Důkladně promísíme a dále přidáváme zbylé části emulze. Po každém přidání se směs musí promíchat. Uchováváme v lékovce z tmavého skla.⁷⁰

7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

7.1 Použité přístroje

Biological termostat Bt 120

Disoluční přístroj Zotax – GFL 1083

DSC 200 F3 Maia, NETZSCH, Německo

Elektromagnetická míchačka s ohřevem – IKA – Werke, RT5

Horkovzdušná sušárna - Memmert

pH metr – Hanna Instruments – HI 221

Spektrofotometr SPECORD 250, Analytik Jena

Třepací vodní lázeň - Shaking Water Baths – 1083 (Gesellschaft Labortechnik, Německo)

Ultrazvuk – Sonorex Super 10P, Bandelin

Váhy Kern 440-35N, Německo

Váhy Kern 572, Německo

Váhy Kern ABN (J), Německo

Váhy pro přípravu vzorků na DSC – Cahn 26

Vakuová sušárna Binder

7.2 Použité suroviny

3T polyester větvený 3% tripentaerythritolu v reakční směsi (Faf UK HK)

Čištěná voda (Faf UK HK)

Ethylmethylketon (LACHEMA, Neratovice)

Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát (Dr. Kulich Pharma s.r.o.)

Kyselina citronová monohydrát (Dr. Kulich s.r.o.)

Kyselina salicylová (Dr. Kulich Pharma s.r.o.)

Mikonazol (Fagron a.s.)

PLGA kopolymer DL-kyseliny mléčné a kyseliny glykolové v poměru 1:1 (Faf UK HK)

7.3 Příprava tuhých disperzí s kyselinou salicylovou

7.3.1 Příprava tavením

Nejprve bylo naváženo 190 mg nosiče a 10 mg léčivé látky (koncentrace účinné látky byla 5%). V třence byl důkladně rozdrobněn polymer na prášek a byla přidána léčivá látka. Prášková směs se důkladně zhomogenizovala. Část práškové směsi byla odebrána pro analýzu DSC. Poté bylo odváženo do vialek 200 mg homogenní směsi. Dno vialek bylo zahřáto, aby prášek slinul a utvořil se souvislý tenký film. Takto byly připraveny 3 vzorky: PLGA, 3T a tzv. slepý vzorek, který obsahoval 200 mg polymerního nosiče bez účinné látky.

7.3.2 Příprava rozpouštěním

Do třenky bylo naváženo 2850 mg polymerního nosiče. Následovalo důkladné rozdrobnění polymeru na prášek. Poté se k prášku přidalo 150 mg účinné látky a prášková směs se zhomogenizovala. Koncentrace účinné látky byla 5%. Směs byla přesunuta do kádinky o objemu 15 ml. Ke každému nosiči byl připraven také slepý vzorek, na ten bylo potřeba rozdrobnit do kádinek 3000 mg nosiče (3T nebo PLGA). Na rozpouštění bylo použito 6 ml ethylmethylketonu. Celý proces byl urychlen mícháním pomocí magnetické míchačky. Roztoky byly vylity na připravené antiadhezivní podložky, dány do vakuové sušárny a sušeny po dobu asi 3 týdnů. Po uplynulé době byl připraven vzorek od každého polymerního nosiče s inkorporovaným léčivem a jeden slepý vzorek. Do scintilačních lahvíček bylo naváženo 200 mg matrice. Z takto připravených matric byly rovněž připraveny vzorky pro DSC analýzu.

7.4 Příprava tuhých disperzí s mikonazolem

7.4.1 Příprava tavením nosiče

Matrice byly připraveny tavením rozdrobněného polymerního nosiče a mikonazolu. Koncentrace léčiva byla 3%. Jako nosiče byly využity opět 3T a PLGA. Celkové množství práškové směsi (3T PLGA) bylo 5000 mg. Do kádinek o objemu 15 ml bylo přesně naváženo 4850 mg nosiče a 150 mg mikonazolu. Směs byla důkladně homogenizována a následně byla roztavena v horkovzdušné sušárně, která byla vyhřátá cca na 90 °C. Z takto připravených matric byly odebrány vzorky pro DSC analýzu.

Zbytek byl použit pro vzorky na disoluční testy. Bylo odváženo 200 mg na antiadhezivní podklad. Po chvíli byla matrice ztuhlá, vzorky byly odloupnuty a byly vloženy do dialyzačních trubiček. Vždy byly připraveny vzorky A, B, C a D od 3T a PLGA polymeru. K matricím s mikonazolem byly připraveny také slepé vzorky, které obsahovaly pouze 200 mg polymerního nosiče.

7.5 Příprava fosfát-citrátového pufru, pH 7,4

Pufir se skládal ze dvou roztoků, A a B. Celkový objem připravovaného pufru byl 2000 ml. Na roztok kyseliny citronové monohydrátu (0,1M) bylo potřeba 196 ml, na roztok hydrogenfosforečnanu disodného dodekahydrátu (0,2M) bylo potřeba 1824 ml. Roztok A se skládal ze 4,12 g kyseliny citronové a byl doplněn čištěnou vodou na objem 196 ml. Roztok B se skládal z 129,86 g hydrogenfosforečnanu disodného dodekahydrátu a byl doplněn čištěnou vodou na objem 1824 ml. Po smísení roztoků bylo zkontrolováno pH na digitálním pH metru.

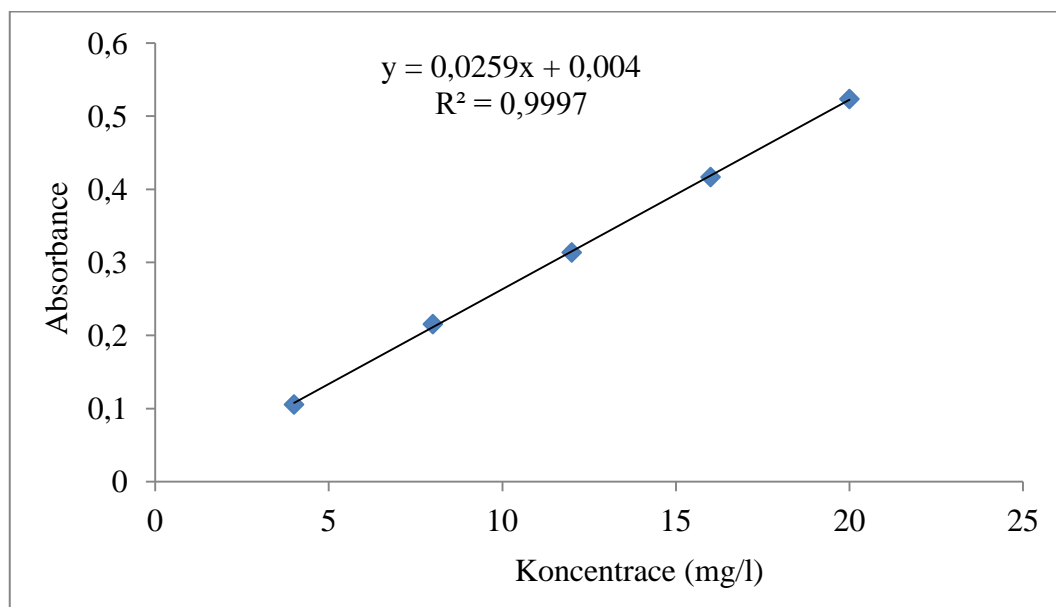
7.6 Kalibrační přímka kyseliny salicylové

Byl připraven zásobní roztok kyseliny salicylové, který byl zředěn a tím bylo získáno 5 roztoků. Byla měřena absorbance (tab.2) a na základě naměřených hodnot byla sestrojena kalibrační přímka a rovnice, která byla použita pro kvantitativní stanovení množství kyseliny salicylové, která byla uvolněna z tuhých disperzí.

Tab. 2: Zásobní roztoky pro kalibrační přímku

Koncentrace kys. salicylové [mg/l]	4	8	12	16	20
Absorbance	0,106	0,216	0,314	0,417	0,524

Obr. 8: Kalibrační přímka



7.7 Disoluční testy

7.7.1 Disoluce kyseliny salicylové

Připravené vzorky (viz kapitola 7.3) byly doplněny 15,0 ml fosfát-citrátového pufru pH 7,4 a vloženy do třepací vodní lázně předem vytemperované na 37,0 °C. Frekvence byla 50 min⁻¹ a amplituda 22 mm. Po určených intervalech, pro 3T a PLGA polymer (1 h, 3 h, 5 h, 24 h, 48 h, 4 dny, 7 dnů) byla slita veškerá disoluční tekutina do prázdných vialek a k matricím bylo opět doplněno 15,0 ml pufru (obr. 8 a 9). Množství uvolněného léčiva bylo stanoveno spektrofotometricky. Absorbance byla měřena proti slepému vzorku bez kyseliny salicylové při 298 nm.

Z kalibrační přímky byla vypočítána koncentrace uvolněného léčiva v mg/l. Následně bylo z této koncentrace přepočteno na 15 ml disolučního média a poté bylo spočítáno kolik % léčivé látky se uvolnilo z polymerního nosiče. Vždy se uvolněná % kyseliny salicylové přičítala k hodnotě předchozího uvolněného množství kyseliny salicylové jako kumulativní procenta.

Obr. 9: PLGA s kyselinou salicylovou



Obr. 10: 3T s kyselinou salicylovou



7.7.2 Disoluce mikonazolu

Připravené vzorky (viz kapitola 7.4) v dialyzačních trubičkách byly vloženy do vialek a přelity 15,0 ml fosfát-citrátového pufru pH 7,4. Vialky byly ponořeny do třepací vodní lázně předem vytemperované na 37,0 °C. Po 1 h, 3 h, 24 h, 48 h a 3 dnech byla z vialek pomocí pinzety vyjmuta dialyzační trubička se vzorkem a přenesena do nové vialky s disolučním médiem. Množství uvolněného mikonazolu bylo stanoveno metodou HPLC na Katedře biofyziky a fyzikálních chemie ve spolupráci s ing. Martinem Drastíkem, Ph.D.

Složení HPLC sestavy Shimadzu:

- Pumpa: LC-10AD VP
- Autosampler: SIL-20A HT PROMINENCE
- Termostat kolony: CT0-10AC VP
- Detektor: UV- VIS – SPD-20A PROMINENCE
- Komunikační modul: CBM-20A
- Kolona: Supelco (Sigma Aldrich), Ascentis Express RP-Amide; 10 cm × 3,0 mm, 2,7 μm
- Předkolona: Supelco (Sigma Aldrich), Ascentis Express RP-Amide; 0,5 cm × 3,0 mm, 2,7 μm

Podmínky:














- Průtok: 0,8 ml/min
- Teplota kolony: 40 °C
- Nástřik vzorku: 5 µl
- Retenční čas: 3,80 min
- Celkový čas analýzy: 4,40 min
- Vlnová délka: 220 nm
- Mobilní fáze: MeOH:pufr 75:25; filtrováno přes Nylon (póry 0,22 µm)
- pufr: 0,01M k. citronová:0,02M Na₂HPO₄ 1:1, pH upraveno na 5,00

7.8 Měření termických charakteristik na DSC

Pro termickou analýzu se navážily vzorky PLGA, 3T, polymerní soustavy s léčivem a léčivem. Vážení probíhalo na vahách Cahn 26. Nejprve byl zvážen samotný hliníkový kelímek s víčkem. Do kelímku byl dán vzorek, předběžně byl zvážen, zda hmotnost nepřesahuje danou mez (cca 50 mg). Pokud nikoli, kelímek byl přikryt víčkem, hermeticky uzavřen a zvážen. Nakonec je nutný odečet hmotnosti samotného kelímku od kelímku se vzorkem a vyjde přesná navážka vzorku, která se zadává do programu na PC jako jeden z důležitých parametrů.

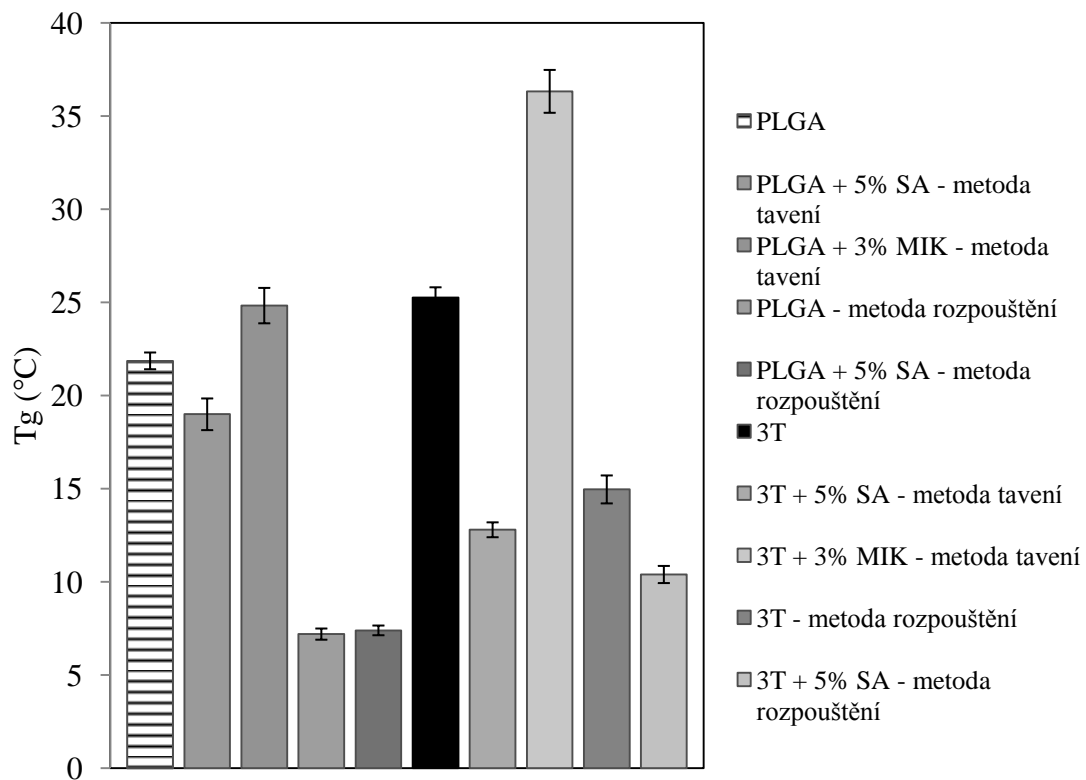
Přístroj byl zapnutý cca hodinu před prvním měřením, aby došlo k jeho ustálení. Po odkrytí komůrky pro vzorky byl dán na levou stranu slepý vzorek, který je zde připraven a na pravou stranu vzorek, který je potřeba měřit. Oba vzorky byly překryty a uzavřeny víkem. V programu na PC byly nastaveny požadované parametry. Teplotní režim je uveden na obr. 11. Byl změřen termogram kyseliny salicylové, mikonazolu, polyesterů PLGA a 3T zpracovaných tavením nebo rozpouštěním a termogramy polyesterových matic s obsahem 5 % kyseliny salicylové nebo 3 % mikonazolu.

Obr. 11: Teplotní režim DSC

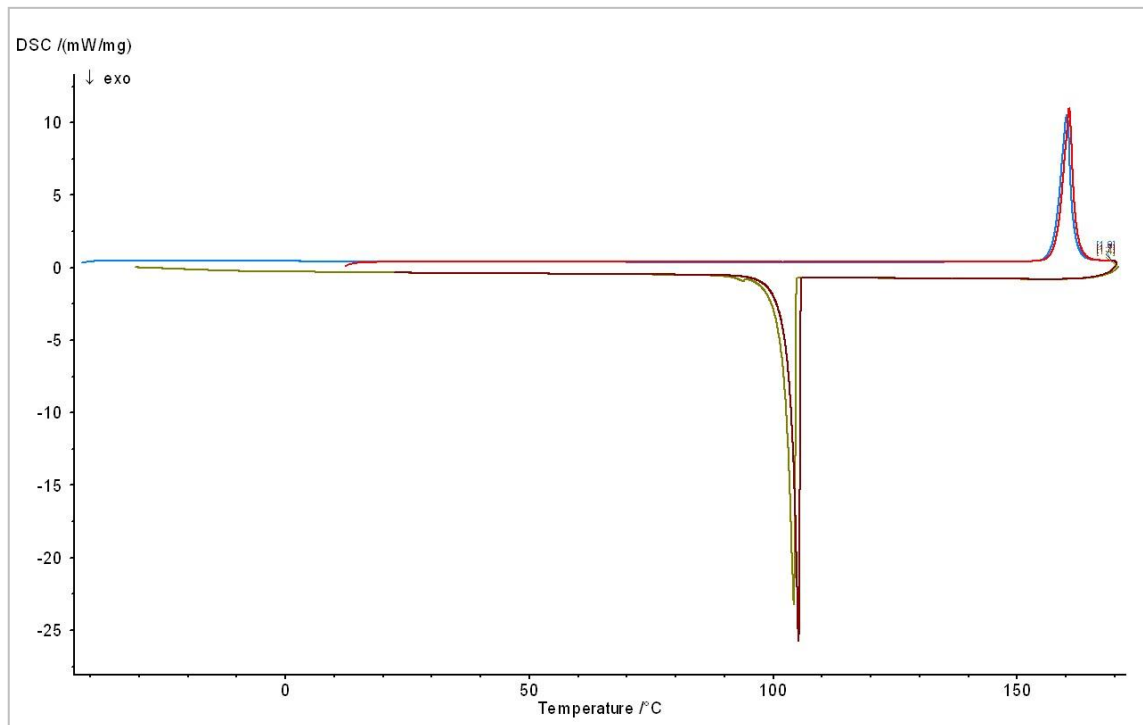
Contents							
Num	Mode	°C	K/min	pts/min	hh:mm	STC	Co
 ---	Initial	22.8				1	1
 1	Isothermal	22.8		50.00	00:05	1	1
 2	Dynamic	-20.0	10.000	300.00	00:04	1	1
 3	Isothermal	-20.0		50.00	00:05	1	1
 4	Dynamic	180.0	10.000	300.00	00:20	1	1
 5	Isothermal	180.0		150.00	00:02	1	1
 6	Dynamic	-20.0	10.000	300.00	00:20	1	1
 7	Isothermal	-20.0		50.00	00:05	1	1
 8	Dynamic	180.0	10.000	600.00	00:20	1	1
 9	Dynamic	20.0	10.000	600.00	00:16	1	1
 10	Emergency	190.0					0
 ---	StdBy Heat.	20.0	20.000		00:00	1	1
 ---	StdBy Iso	20.0			00:20	1	0

8 VÝSLEDKY

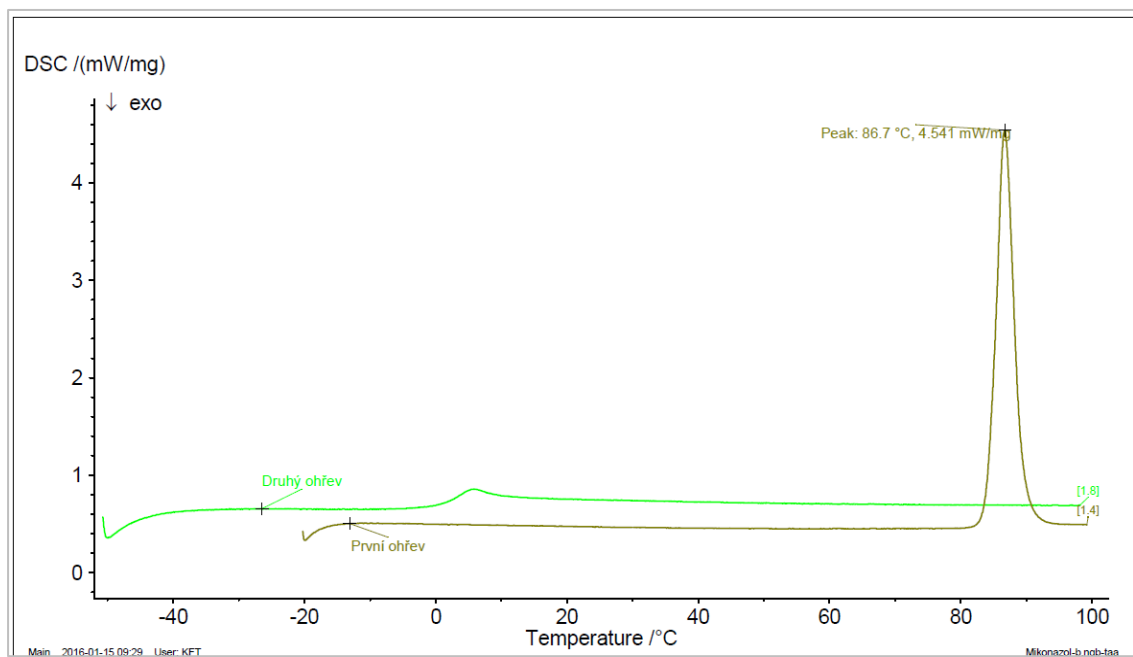
Obr. 12: Porovnání teplot skelného přechodu



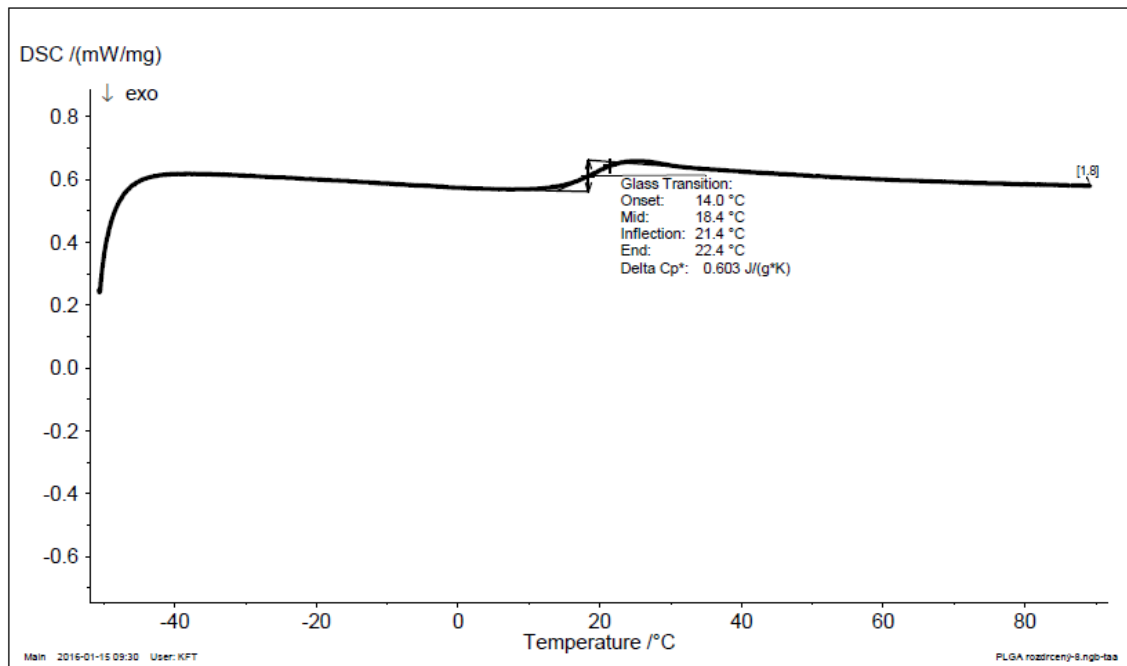
Obr. 13: DSC záznam kyseliny salicylové



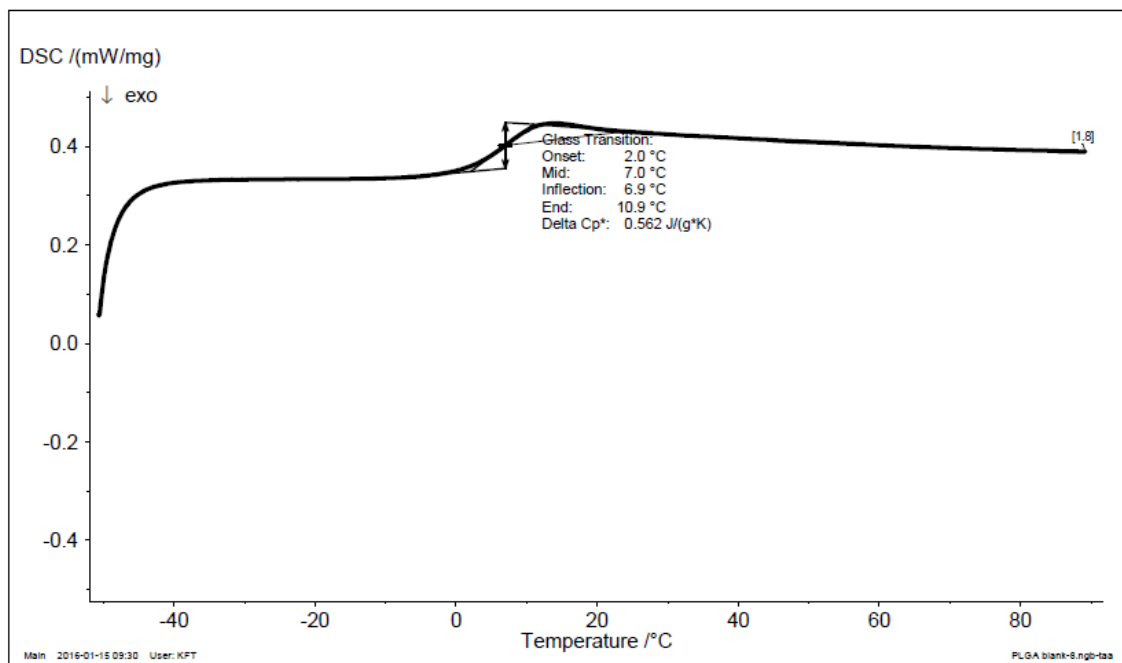
Obr. 14: DSC záznam mikonazolu



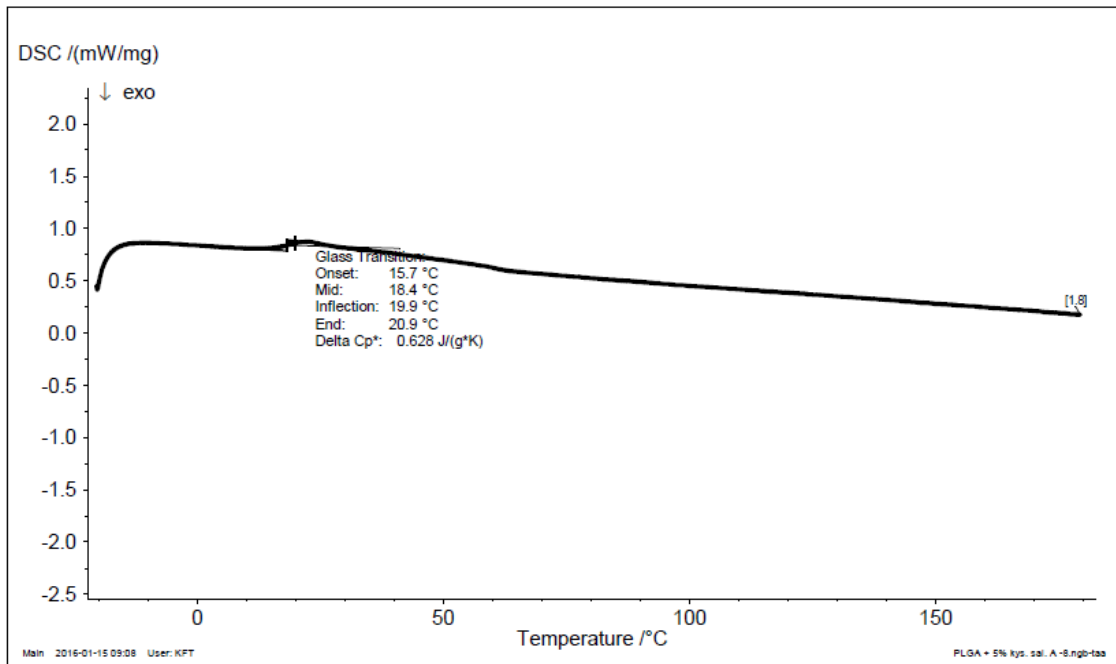
Obr. 15: DSC záznam polyesteru PLGA



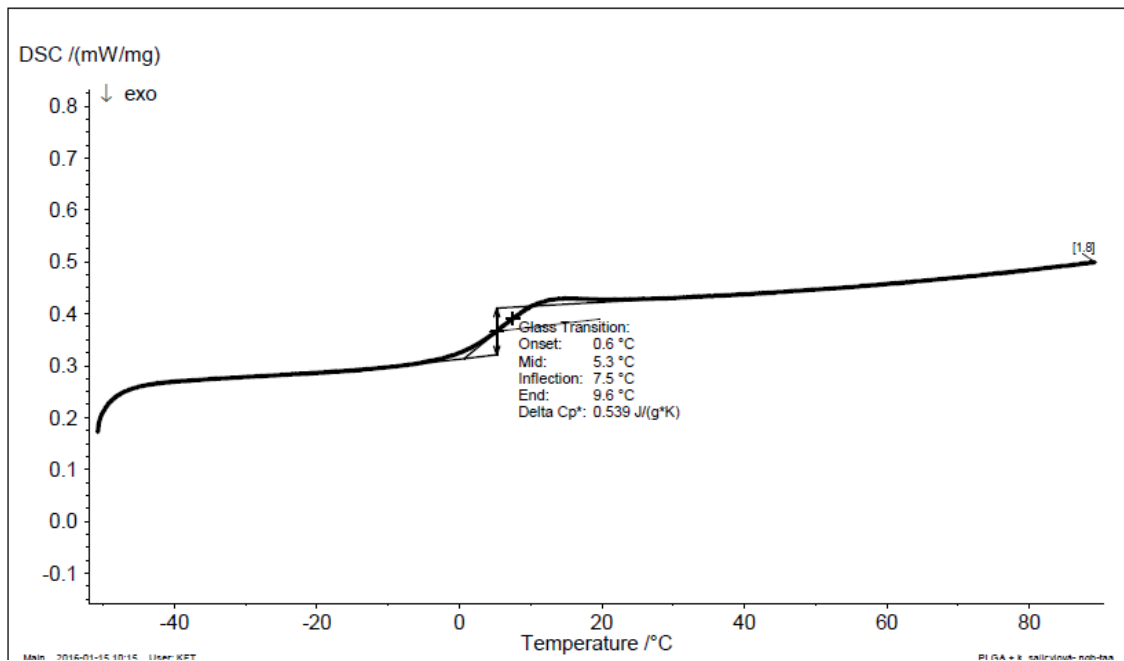
Obr. 16: DSC záznam polyesteru PLGA zpracovaného rozpouštěním



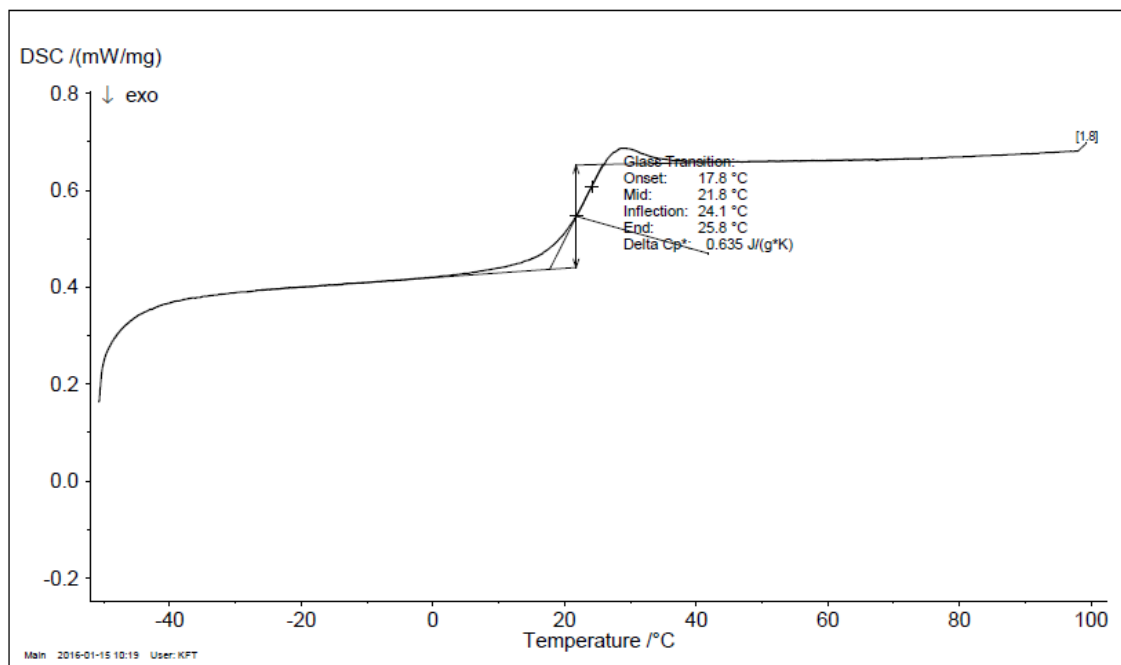
Obr. 17: DSC záznam polyesteru PLGA s 5% kyseliny salicylové - metoda tavení



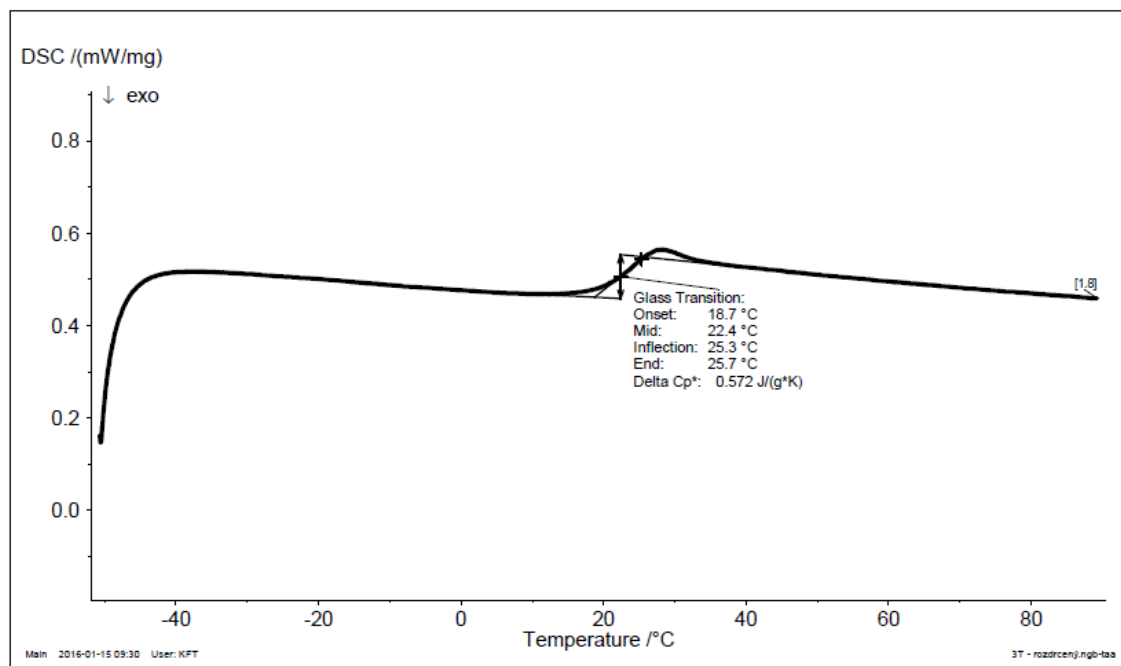
Obr. 18: DSC záznam polyesteru PLGA s 5% kyseliny salicylové - metoda rozpouštění



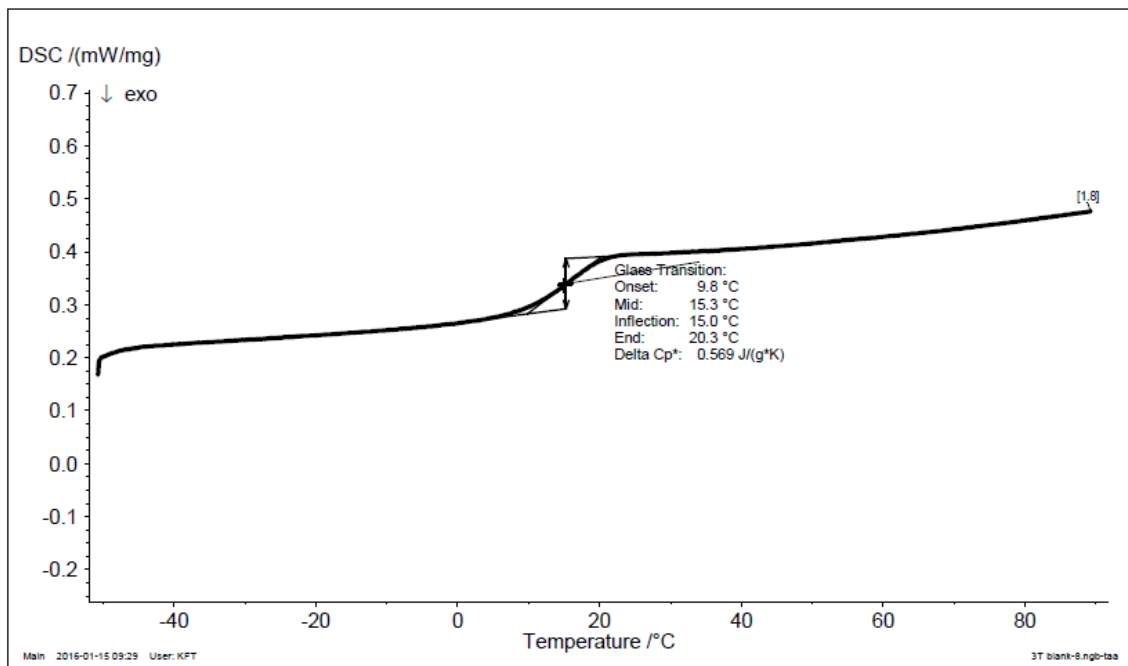
Obr. 19: DSC záznam polyesteru PLGA se 3% mikonazolu - metoda tavení



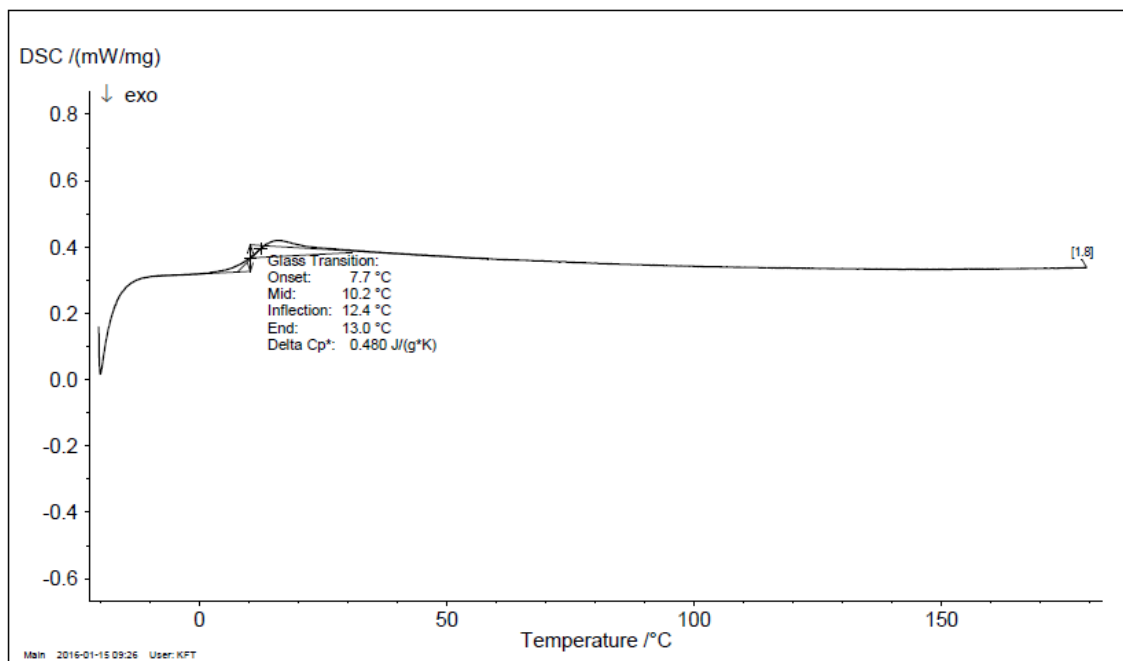
Obr. 20: DSC záznam polyesteru 3T



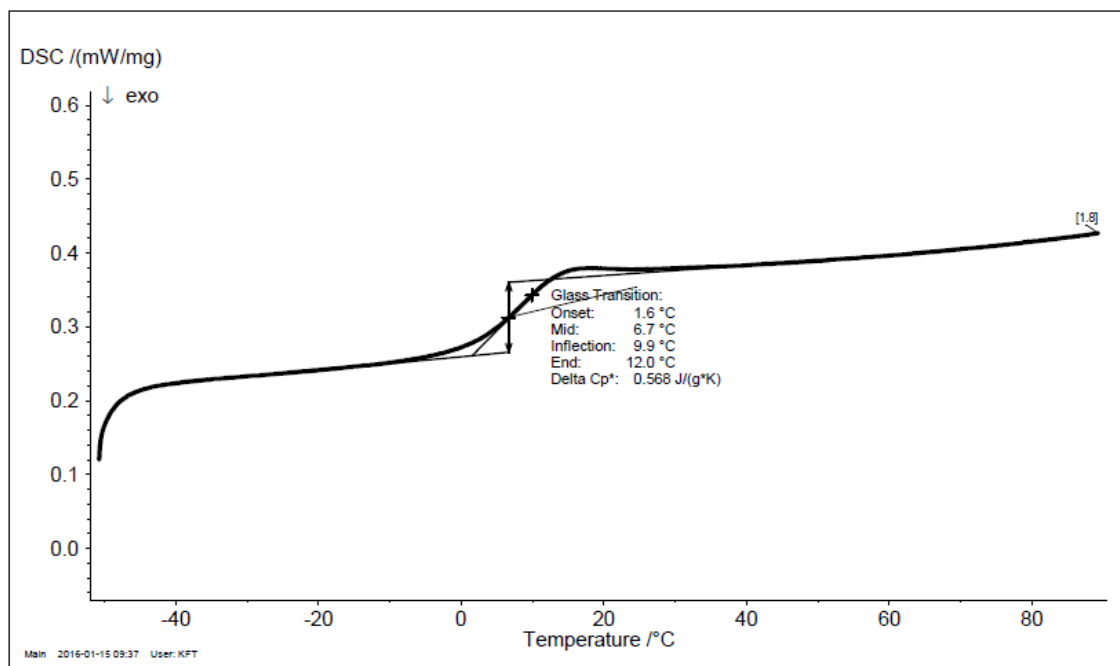
Obr. 21: DSC záznam polyesteru 3T zpracovaného rozpouštěním



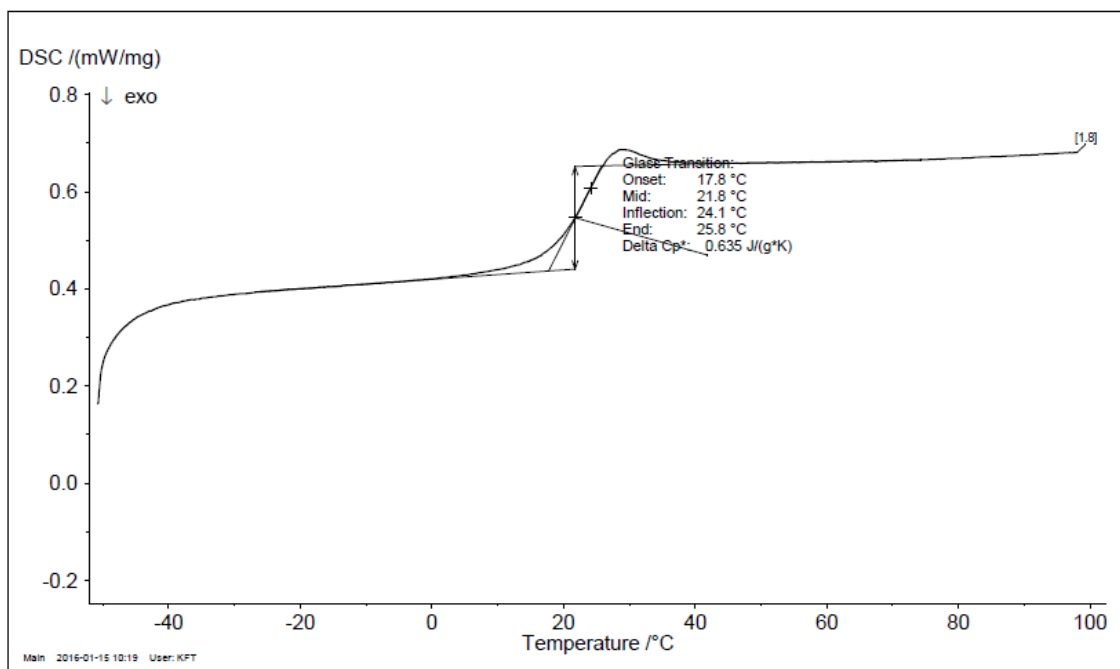
Obr. 22: DSC záznam polyesteru 3T s 5% kyseliny salicylové - metoda tavení



Obr. 23: DSC záznam polyesteru 3T s 5% kyseliny salicylové - metoda rozpouštění



Obr. 24: DSC záznam polyesteru 3T se 3 % mikonazolu - metoda tavení



Tab. 3: T_m kyseliny salicylové a mikonazolu

Léčivá látka	Teplota tání (°C)	Průměr	Směrodatná odchylka
Kyselina salicylová	160,7	160,1	0,6
	160,2		
	159,5		
Mikonazol	86,7	86,7	0,4
	86,3		
	87,1		

Tab. 4: T_g polyesterů PLGA a 3T

Polymer	Metoda	T_g (°C)	Průměr	Směrodatná odchylka
PLGA	tavení	21,4	21,9	0,45
		22,3		
		21,9		
	rozpouštění	6,9	7,2	0,3
		7,5		
		7,2		
3T	tavení	25,3	25,3	0,55
		24,7		
		25,8		
	rozpouštění	15,0	15,0	0,75
		14,2		
		15,7		

Tab. 5: T_g polymerních soustav

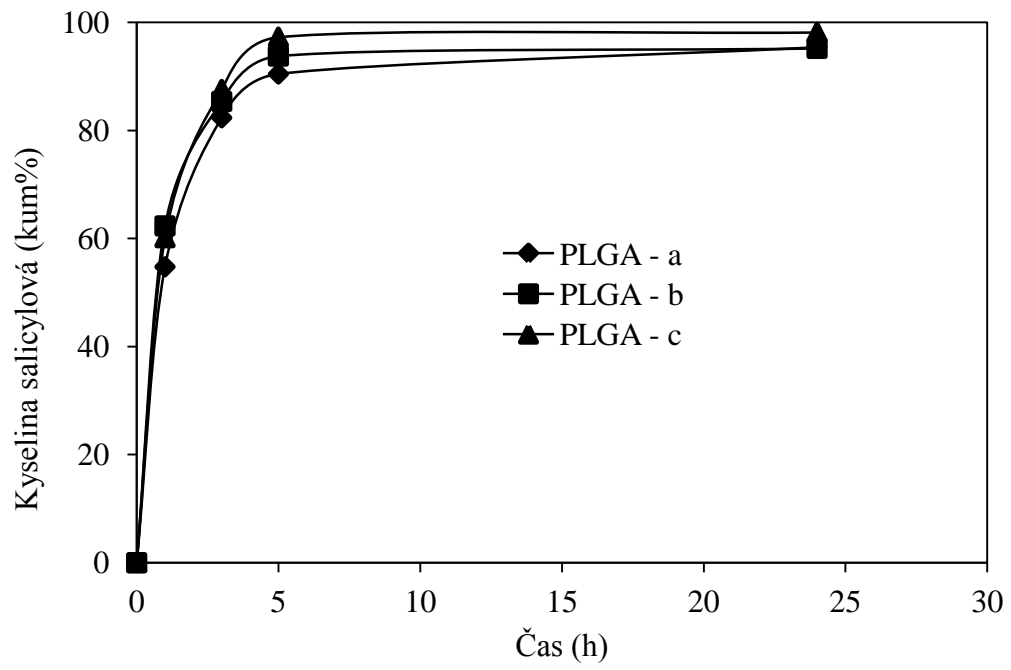
Polymer	Metoda	Léčivá látka	T_g (°C)	Průměr	Směrodatná odchylka
PLGA	rozpuštění nosiče	kyselina salicylová (5%)	7,5	7,4	0,26
			7,1		
			7,6		
	tavení nosiče	mikonazol (3%)	24,1	24,8	0,95
			25,9		
			24,5		
		kyselina salicylová (5%)	19,9	19,0	0,85
			18,2		
			18,9		
3T	rozpuštění nosiče	kyselina salicylová (5%)	9,9	10,4	0,46
			10,5		
			10,8		
	tavení nosiče	mikonazol (3%)	37,5	36,2	1,15
			35,2		
			35,8		
		kyselina salicylová (5%)	12,4	12,8	0,4
			13,2		
			12,8		

8.1 Liberace kyseliny salicylové - metoda tavení nosiče

Tab. 6: Uvolněné množství kyseliny salicylové z PLGA nosiče

Čas (h)	Absorbance	Ředění	Koncentrace kyseliny salicylové (mg/15ml)	K. salicylová (kumulativní %)	Průměr
1	0,6534	15	5,64	54,76	59,08
	0,7001		6,04	62,34	
	0,7514		6,49	60,15	
3	0,3311	15	2,84	82,35	85,10
	0,2611		2,23	85,36	
	0,3450		2,96	87,59	
5	0,1480	10	0,83	90,44	93,83
	0,1449		0,82	93,77	
	0,1844		1,04	97,27	
24	0,8815	1	0,51	95,38	96,24
	0,2423		0,14	95,19	
	0,1685		0,10	98,15	
48	0,0512	1	0,03	95,64	96,72
	0,1297		0,07	95,94	
	0,0837		0,05	98,58	
96	0,0152	1	0,01	95,71	96,87
	0,0144		0,01	96,01	
	0,0650		0,04	98,90	
168	0,0153	1	0,01	95,77	96,93
	0,0202		0,01	96,10	
	0,0087		0,01	98,93	

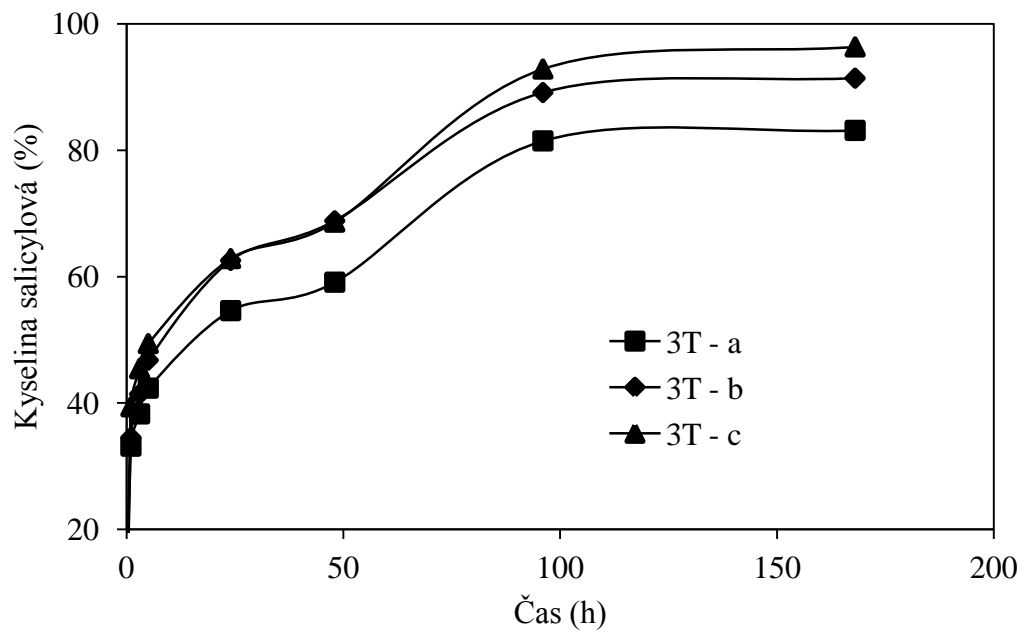
Obr. 25: Průběh liberace kyseliny salicylové z PLGA nosiče



Tab. 7: Uvolněné množství kyseliny salicylové z 3T nosiče

Čas (h)	Absorbance	Ředění	K. salicylová (mg/15ml)	K. salicylová (kumulativní %)	Průměr
1	0,386	15	3,32	33,17	35,70
	0,4055		3,49	34,53	
	0,5031		4,34	39,40	
3	0,8867	1	0,51	38,28	41,70
	1,2022		0,69	41,41	
	1,1491		0,66	45,42	
5	0,7077	1	0,41	42,45	46,21
	0,9395		0,54	46,77	
	0,7589		0,44	49,40	
24	0,2158	10	1,23	54,61	60,01
	0,2793		1,59	62,56	
	0,2597		1,48	62,85	
48	0,7822	1	0,45	59,12	65,52
	1,098		0,63	68,83	
	1,0992		0,63	68,61	
96	0,2615	15	2,24	81,48	87,82
	0,240		2,05	89,13	
	0,3109		2,67	92,84	
168	0,2904	1	0,17	83,13	90,29
	0,3991		0,23	91,40	
	0,6698		0,39	96,34	

Obr. 26: Průběh liberace kyseliny salicylové z 3T nosiče

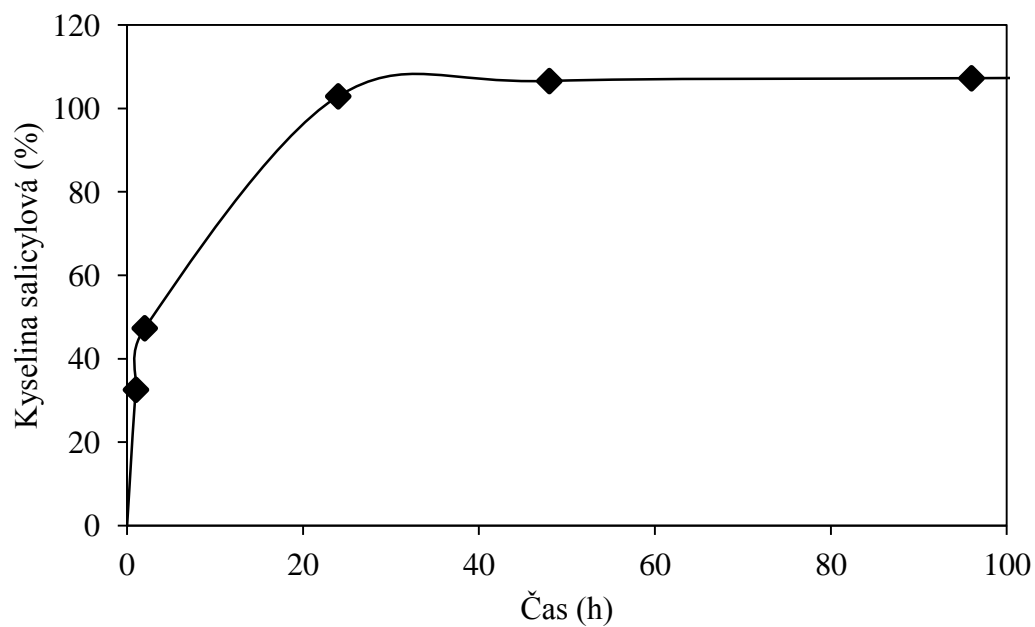


8.2 Liberace kyseliny salicylové - metoda rozpouštění nosiče

Tab. 8: Uvolněné množství kyseliny salicylové z PLGA nosiče

Čas (h)	Absorbance	Ředění	Kyselina salicylová (mg/15 ml)	Kyselina salicylová (kumulativní %)
1	0,3771	15	3,24	32,54
2	0,1731	15	1,47	47,29
24	0,6414	15	5,54	102,89
48	0,6348	1	0,37	106,55
96	0,1189	1	0,07	107,22
168	0,1212	1	0,07	107,90

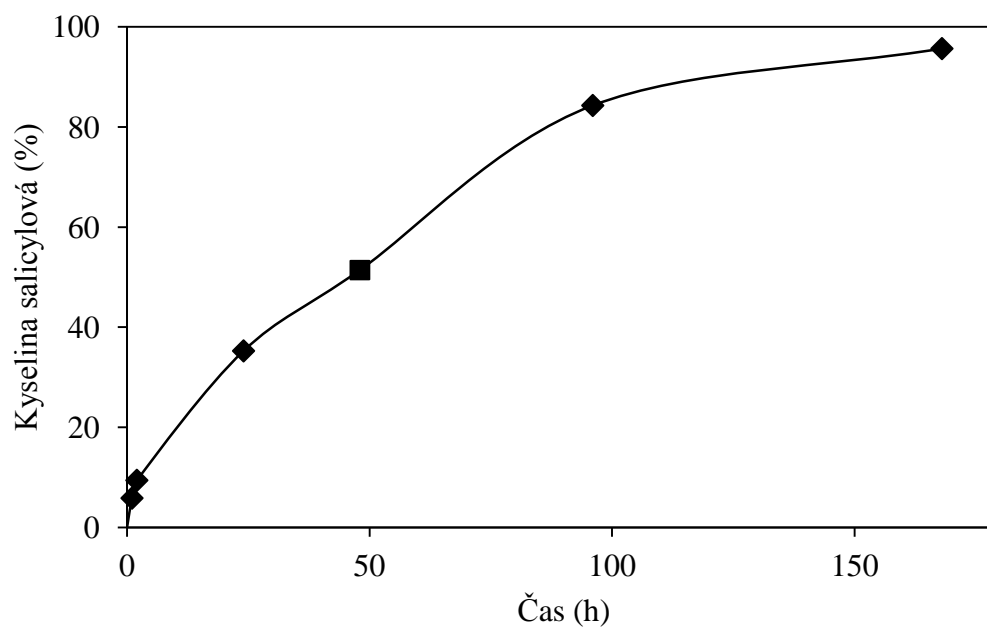
Obr. 27: Průběh liberace kyseliny salicylové z PLGA nosiče



Tab. 9: Uvolněné množství kyseliny salicylové z 3T nosiče

Čas (h)	Absorbance	Ředění	K. salicylová (mg/15 ml)	K. salicylová (kumulativní %)
1	1,0055	1	0,58	5,82
2	0,6169	1	0,35	9,39
24	0,3004	15	2,57	35,24
48	0,1894	15	1,61	51,41
96	0,3808	15	3,27	84,28
168	0,3949	5	1,13	95,64

Obr. 28: Průběh liberace kyseliny salicylové z 3T nosiče

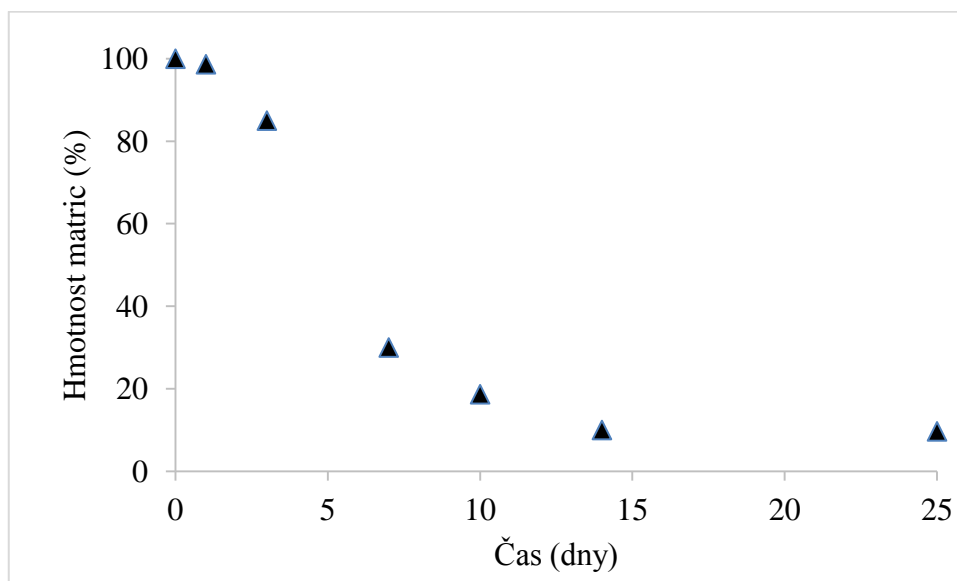


8.3 Liberace mikonazolu

Tab. 10: Množství mikonazolu stanovené v polyesteru 3T v čase t

Čas t (dny)	Hmotnost matrice v čase t ₀ (mg)	Hmotnost matrice v čase t (mg)	Hmotnost matrice v čase t (%)	Průměr (%)	Množství mikonazolu (mg)	Průměr (%)
1	209,0	204,6	98	99	15,3	15,6
	203,2	202,9	99			
	205,7	203,5	99			
3	206,5	175,2	85	85	16,1	15,9
	206,9	174,8	84			
	206,1	174,9	86			
7	207,3	62,2	30	30	13,1	12,7
	200,4	59,8	30			
	205,3	61,4	30			
10	206,6	35,7	17	19	14,0	14,9
	203,7	37,3	18			
	207,0	44,9	21			
14	203,3	22,2	11	10	14,0	12,6
	202,7	18,6	9			
	211,8	22,0	10			
25	204,7	20,7	10	10	12,3	14,5
	208,1	17,0	8			
	206,9	23,4	11			

Obr. 29 : Hmotnostní úbytek tuhých disperzí větveného polyesteru s mikonazolem



9 DISKUZE

V diplomové práci bylo pracováno se dvěma různými typy polymerů. Prvním z nich byl lineární kopolymer DL-kyseliny mléčné a kyseliny glykolové v poměru 1:1 (PLGA) a druhým byl 3T polyester větvený 3% tripentaerythritolu v reakční směsi. Tyto polyestery byly syntetizovány na katedře Farmaceutické technologie Univerzity Karlovy v Hradci Králové. Charakterizace polymerů byla provedena v Synpo a.s. Pardubice (tab. 1). Práce se zabývá formulací tuhých disperzí tvořených uvedenými polyestery s inkorporovanou kyselinou salicylovou nebo mikonazolem, připravených metodou tavení nebo metodou rozpouštění. Byla provedena DSC charakterizace polyesterových soustav s účinnými látkami, samostatných polyesterů i účinných látek a sledován průběh liberace léčiv.

9.1 DSC charakteristika

Vzorky tuhých disperzí pro termickou analýzu byly připraveny metodou tavení a metodou rozpouštění. Z důvodu vysoké viskozity polymerních nosičů i po jejich roztavení při teplotě 90 °C se jako lepší postup zpracování jeví metoda rozpouštění. V práci použitý ethylmethylketon je zařazen mezi zbytková rozpouštědla třídy 3, která se považují za méně toxická a s nižším rizikem pro lidský organizmus. Protože ještě nejsou k dispozici dlouhodobé studie jeho toxicity a karcenogenity, je uveden mezi rozpouštědly třídy 3, která by se měla omezit požadavky SLP nebo jinými kvalitativními požadavky. Ethylmethylketon použitý pro rozpuštění polyesterů a léčiv musí být následně z tuhé disperze odstraněn. Použití organických rozpouštědel při výrobě léčivých přípravků může být z hlediska toxicity, ekologie i ekonomické náročnosti problematické. Volba metody přípravy musí být v praxi voleny po důkladném zvážení.

Pomocí termické analýzy byla změřena teplota tání účinných látek (obr. 13 a 14). T_m kyseliny salicylové (160,1 °C) a mikonazolu (86,7 °C) se shodují s údaji uváděnými v literatuře.^{38,57} Před přípravou tuhých disperzí byla změřena teplota skelného přechodu obou použitých polyesterů. U lineárního polyesteru PLGA byla zjištěna T_g 21,9 °C (obr. 15), u větveného polyesteru 3T byla T_g 25,3 °C (obr. 20). Oproti hodnotám stanoveným při analýze provedené bezprostředně po syntéze polyesterů (tab. 1) jsou naměřené T_g o několik stupňů vyšší. Rozdíl může být dán změnami při skladování

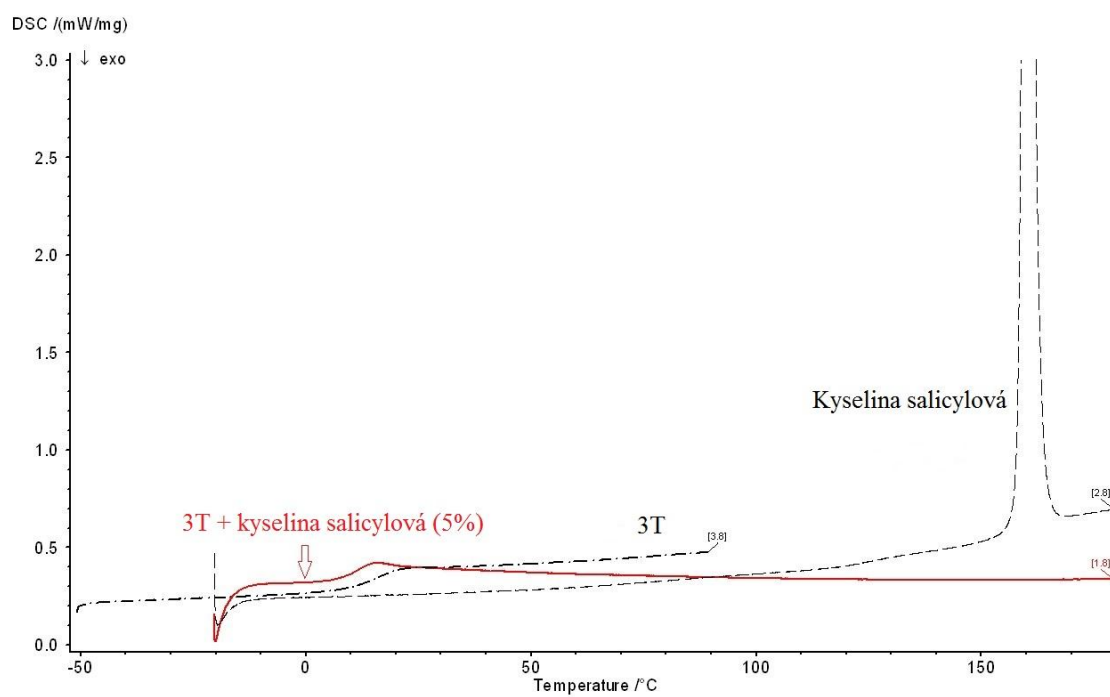
polyesterů v průběhu několika let. Teploty skelného přechodu polyesterů PLGA a 3T, zpracovaných rozpouštěním v ethylmethyketonu, jsou podstatně nižší (obr. 16 a 21). Tento pokles lze přisuzovat nedokonalému odstranění rozpouštědla z tuhé disperze. Stanovením termických charakteristik použitých léčiv byla ověřena jejich kvalita. Na DSC záznamu kyseliny salicylové (obr. 13) je vidět pík tání v prvním i druhém ohřevu a pík krystalizace v průběhu chlazení. Na DSC záznamu mikonazolu (obr. 14) je patrný pík tání v prvním ohřevu. Po roztavení již mikonazol nekystalizuje. Přehledně jsou hodnoty T_m léčiv uvedeny v tab. 3.

Tabulka 4 uvádí hodnoty T_g tuhých disperzí. Kyselina salicylová v koncentraci 5 % působí mírně plastifikačně v případě lineárního polyesteru PLGA, došlo ke snížení T_g o 2 °C, ale výrazně plastifikačně v případě větveného polyesteru 3T, kde se T_g snížila o více než 10 °C. Opačný, tzv. antiplastifikační efekt má mikonazol. Inkorporací 3 % mikonazolu do PLGA dochází ke zvýšení T_g o 3 °C, u 3T o více než 10 °C.

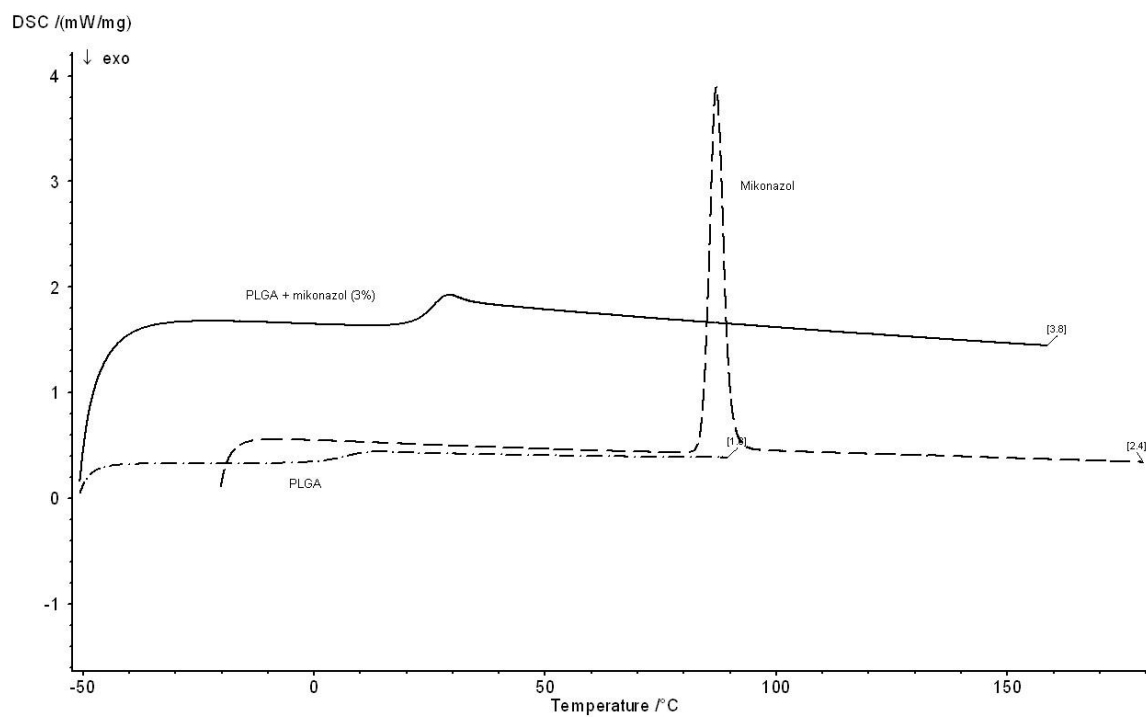
Hlavním cílem bylo pomocí metody DSC určit fyzikální stav léčiva v polymeru, zda je léčivo v polymerním nosiči přítomno v krystalickém nebo amorfním stavu, nebo molekulárně dispergováno. Z DSC záznamů na obr. 30 a 31 lze vyvodit, že je kyselina salicylová v koncentraci 5 % je v polymerním nosiči 3T molekulárně dispergována. Není patrný pík teploty tání krystalické fáze, ani skelný přechod amorfní fáze léčiva. Stejně tak tomu bylo i při použití lineárního polyesteru PLGA. Na obr. 31 je obdobné porovnání pro mikonazol inkorporovaný v koncentraci 3% v PLGA. Ani zde není na skenu náležitě pevné disperzi viditelný pík teploty tání krystalické fáze. Stejně tak tomu bylo u polyesteru 3T.

Nebyly testovány vyšší koncentrace kyseliny salicylové. Zde by mohlo dojít k vykrytalizování účinné látky. Přítomnost krystalické fáze by se dala jednoznačně prokázat např. pomocí práškové rentgenové difrakce.

Obr. 30: DSC záznamy tuhé disperze 3T s kyselinou salicylovou



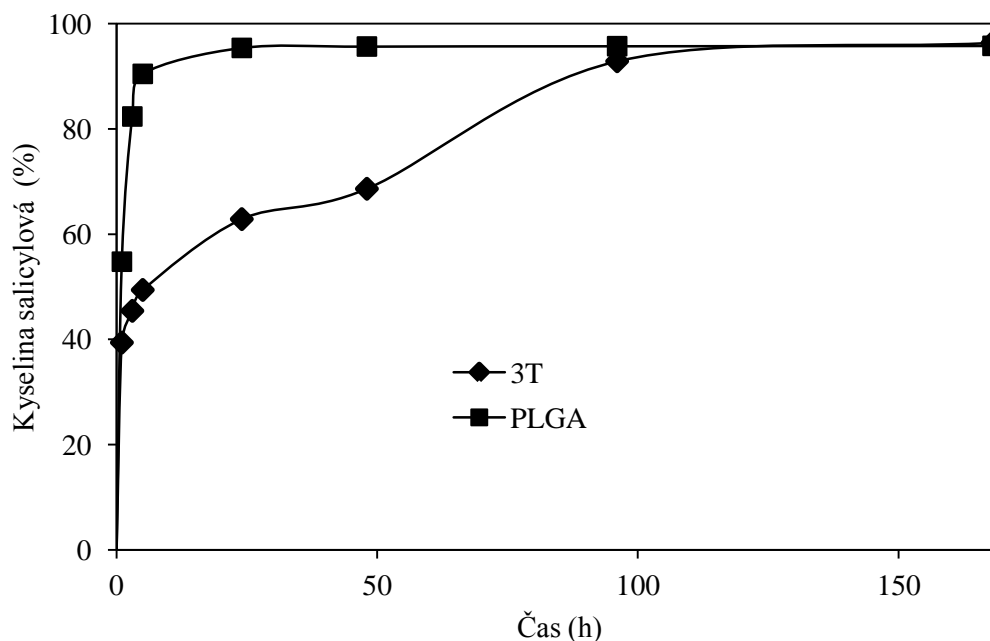
Obr. 31: DSC záznam tuhé disperze PLGA s mikonazolem



9.2 Liberace kyseliny salicylové

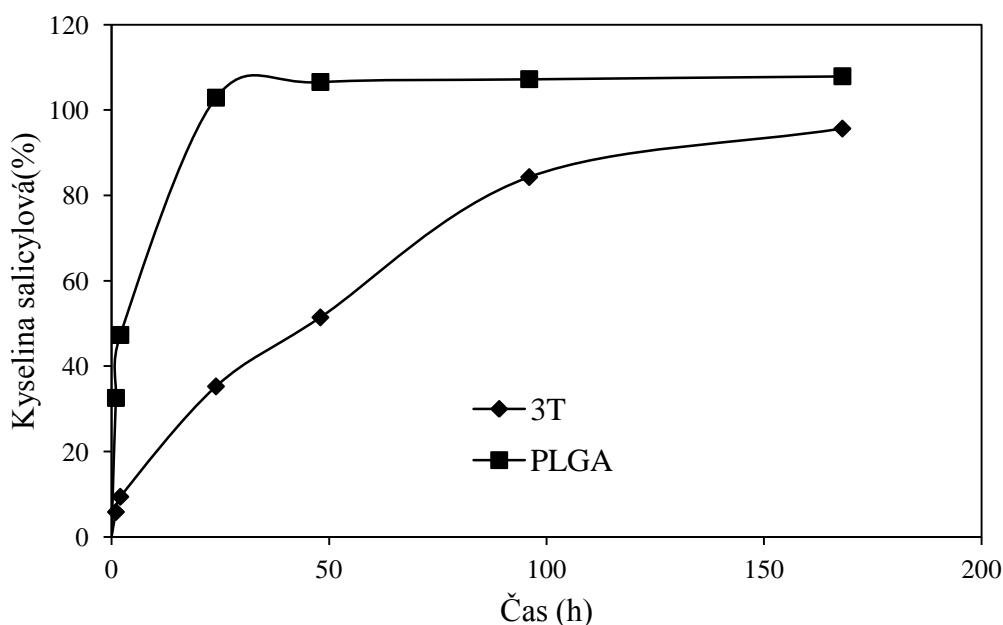
Degradace alifatických polyesterů probíhá hydrolyticky. Léčivá látka se z nich uvolňuje difúzí a erozí. Vliv má především molární hmotnost polyesteru, stupeň větvení a hmotnost polymerního tělíska. Byly připraveny tuhé disperze založené na lineárním PLGA nebo větveném 3T metodou tavení. Byla sledována liberace kyseliny salicylové. Z výsledků liberace kyseliny salicylové z PLGA (tab. 6, obr. 25) vyplývá, že se více než polovina účinné látky uvolnila již za hodinu. Za 5 hodin se uvolnilo více než 90%. Liberace z větveného 3T nosiče byla pomalejší (tab. 7, obr. 26). Za 1 hodinu se uvolnilo 35%. Zbylé množství se uvolňovalo rovnoměrně v intervalu do 7 dnů s mírným zpomalením mezi 2. a 3. dnem. Odlišný průběh liberace kyseliny salicylové z polyesterů z lineárního a větveného polyesteru je patrný z porovnání na obr. 32.

Obr. 32: Srovnání liberace kyseliny salicylové z 3T a PLGA nosiče - metoda tavení



Druhou metodou, která byla použita pro přípravu tuhých disperzí, bylo rozpouštění. Jako rozpouštědlo byl použit ethylmethyketon. Snaha byla použít co nejmenší množství rozpouštědla, protože musí být následně z tuhých disperzí odstraněno. Bylo použito 6 ml ethymethylketonu. Liberace kyseliny salicylové z PLGA nosiče (tab. 8, obr. 27) ukazuje, že téměř polovina léčiva se uvolnila již za dvě hodiny, poté došlo ke zpomalení a celková doba liberace byla pouze 24 hodin. Rychlejší průběh liberace kyseliny salicylové z tuhých disperzí připravených rozpouštěním ve srovnání s disperzemi připravenými tavením je pravděpodobně dán přítomností zbytkového rozpouštědla. Z tuhé disperze tvořené větveným polyesterem se za 2 hod uvolnilo pouze 9 % účinné látky, za 24 hod 35 %. Po dobu 4 dnů probíhala liberace lineárně, poté došlo ke zpomalení. Celková doba liberace byla 7 dnů (tab. 9, obr. 28). Porovnání je na obr. 33.

Obr. 33: Srovnání liberace kyseliny salicylové z 3T a PLGA nosiče - metoda rozpouštění



9.3 Liberace mikonazolu

Stanovení množství uvolněného mikonazolu v disolučním médiu odebraném v jednotlivých časových intervalech nebylo úspěšné. Nepomohlo ani přemístění vzorku v dialyzační trubičce do čerstvého média místo odběru disolučního média. Důvodem je patrně adsorpce mikonazolu na stěny vialky. Řešením se zdálo být stanovit množství dosud neuvolněného mikonazolu ve zbytku matrice. Proto bylo připraveno 18 vzorků, tentokrát už jen z větveného polyesteru 3T, s 10 % mikonazolu. V daný časový interval byla odebrána tuhá disperze, vysušena do konstantní hmotnosti a stanoveno množství mikonazolu. Výsledky získané z tohoto testu jsou uvedeny v tab. 10. Je možno zjistit hmotnostní úbytek tuhé disperze (obr. 29). Za 7 dnů erodovalo 70 %, po 25 dnech, kdy byl test ukončen, byl zůstatek 10 % z původní hmotnosti. Množství mikonazolu stanovené v tuhé disperzi v daný časový interval bylo vždy přibližně 12 mg až 16 mg, což je přibližně 15 % z celkového množství inkorporovaného mikonazolu. Ani tato varianta disolučního testu tedy nevedla k věrohodným výsledkům. Problém bude nutno podrobně analyzovat, konzultovat a navrhnout řešení.

10 ZÁVĚRY

Z výsledků provedeného experimentu lze vyvodit závěry:

1. Výsledky termické analýzy pevných disperzí s kyselinou salicylovou a mikonazolem neprokázaly přítomnost krystalické fáze léčiva v polyesterovém nosiči. Z toho usuzujeme, že je léčivo v nosiči molekulárně dispergováno, čímž se zvýší jeho biodostupnost.
2. Inkorporace 5% kyseliny salicylové do polyesterového nosiče způsobí mírné snížení T_g , tedy plastifikaci polyesteru.
3. Přídavek 3% mikonazolu působí antiplastifikačním účinkem, došlo ke zvýšení T_g .
4. Vhodným nosičem pro prodloužené uvolňování kyseliny salicylové je polyester kyseliny mléčné a glykolové větvený na tripentaerythritolu.
5. Disoluční testy mikonazolu bohužel neposkytly věrohodné výsledky.

11 SEZNAM LITERATURY

1 Černohousová, L.: Liberace acikloviru z plastifikovaných větvených polyesterů, Diplomová práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2011, 57 s

2 Bacílková, A.: Adhezivita a viskozita větvených oligoesterů, Rigorózní práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 84 s

3 Weissová, M.: Liberace acikloviru z neplastifikovaných polyesterů, Diplomová práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2014, 58 s

4 Líbenková, M.: Mukoadhezivní polymerní systémy s aciklovirem, Rigorózní práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2014, 53 s

5 Kráčalíková, M.: Inkorporace léčiv do polyesterových nosičů, Diplomová práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2013, 50 s

6 Bílková, K.: Vliv plastifikace na reologické vlastnosti oligoesteru kyseliny mléčné a glykolové větveného dipentaerythritolem, Diplomová práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2014, 47 s

7 FDA, Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms based on a Biopharmaceutics Classification System, Guidance for Industry, 2000

8 Le-Ngoc Vo, Ch., Park, Ch., Lee, B.-L.: Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs, Eur. J. Pharm. Biopharm., 2013, Vol. 85, No. 3, s. 799-813, ISSN: 1873-3441

9 Baird, J. A., Taylor, L. S.: Evaluation of amorphous solid dispersion properties using thermal analysis techniques, Adv. Drug Delivery Rev., 2012, Vol. 64, No. 5, s. 396-421, ISSN: 0169-409X

10 Sekiguchi, K., Obi, N.: Studies on absorption of eutectic mixture. I. A comparison of the behavior of eutectic mixture of sulfathiazole and that of ordinary sulfathiazole in man, *Chem. Pharm., Bull.*, 1961, Vol. 9, No. 11, s. 866-872, ISSN: 1347-5223

11 Chiou, W.L., Riegelman, S.: Pharmaceutical applications of solid dispersion systems, *J. Pharm. Sci.*, 1971, Vol. 60, No. 9, s. 1281-1302, ISSN: 1520-6017

12 Leuner, C., Dressman, J.: Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2000, Vol. 50, No. 1, s.47-60, ISSN: 1873-3441

13 Jachowicz, R.: Dissolution rates of partially water-soluble drugs from solid dispersion systems. I. Prednisolone, *Int. J. Pharm.*, 1987, Vol. 35, No. 1-2, s. 1-5, ISSN: 0378-5173

14 Zajc, N., Obreza, A., Bele, M., Srcic, S.: Physical properties and dissolution behaviour of nifedipine/mannitol solid dispersions prepared by hot melt method, *Int. J. Pharm.*, 2005, Vol. 291, No. 1-2, s. 51-58, ISSN: 0378-5173

15 Van Drooge, D., Hinrichs, W., Visser, M., Frijlink, H.: Characterization of the molecular distribution of drugs in glassy solid dispersions at the nano-meter scale, using differential scanning calorimetry and gravimetric water vapour sorption techniques, *Int. J. Pharm.*, 2006, Vol. 310, No.1-2, s. 220-229, ISSN: 0378-5173

16 Tanaka, N., Imai, K., Okimoto, K., Ueda, S., Tokunaga, Y., Ibuki, R., Higaki, K., Kimura, T.: Development of novel sustained-release system, disintegration controlled matrix tablet (DCMT) with solid dispersion granules of nilvadipine (II): in vivo evaluation, *J. Control. Release*, 2006, Vol. 112, No.1, s. 51-56, ISSN: 0168-3659

17 Chauhan, H., Hui-Gu, C., Atef, E.: Correlating the behavior of polymers in solution as precipitation inhibitor to its amorphous stabilization ability in solid dispersions, *J. Pharm. Sci.*, 2013, Vol. 102, No. 6, s. 1924-1935, ISSN: 1520-6017

18 Ghebremeskel, A. N., Vemavarapu, C., Lodaya, M.: Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: selection of polymer-surfactant combinations using solubility parameters and testing the processability, *Int. J. Pharm.*, 2007, Vol. 328, No. 2, s. 119-129, ISSN: 0378-5173

19 Passerini, N., Albertini, B., Gonzalez-Rodríguez, M. L., Cavallari, C., Rodriguez, L.: Preparation and characterisation of ibuprofen-poloxamer 188 granules obtained by melt granulation, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2002, Vol. 15, No. 1, s. 71-78, ISSN: 1879-0720

20 Huang, J., Wigent, R.J., Schwartz, J.B.: Nifedipine molecular dispersion in microparticles of ammonio methacrylate copolymer and ethylcellulose binary blends for controlled drug delivery: effect of matrix composition, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 2006, Vol. 32, No. 10, s. 1185-1197, ISSN: 1520-5762

21 Cui, F., Yang, M., Jiang, Y., Cun, D., Lin, W., Fan, Y., Kawashima, Y.: Design of sustained-release nitrendipine microspheres having solid dispersion structure by quasi-emulsion solvent diffusion method, *J. Control. Release*, 2003, Vol. 91, No. 3, s.375-384, ISSN: 1873-4995

22 Desai, J., Alexander, K., Riga, A.: Characterization of polymeric dispersions of dimenhydrinate in ethyl cellulose for controlled release, *Int. J. Pharm.*, 2006, Vol. 308, No. 1-2, s. 115-123, ISSN: 1873-3476

23 Chiou, W.L., Riegelman, S.: Pharmaceutical applications of solid dispersion systems, *J. Pharm. Sci.*, 1971, Vol. 60, No. 9, s. 1281-1302, ISSN: 1520-6017

24 Chiou, W.L., Riegelman S.: Preparation and dissolution characteristics of several fast-release solid dispersions of griseofulvin, *J. Pharm. Sci.*, 1969, Vol. 58, No. 12, s. 1505-1510, ISSN: 1520-6017

25 Li, F.-Q., Hu, J.-H., Deng, J.-X., H. Su, H., Xu,S., Liu,J.-Y.: In vitro controlled release of sodium ferulate from Compritol 888 ATO-based matrix tablets, *Int. J. Pharm.*, 2006, Vol. 324, No. 2, s. 152-157, ISSN: 0378-5173

26 Lin, S.P., Hou, Y.C., Liao, T.Y., Tsai, S.Y.. Enhancing the bioavailability of magnolol in rabbits using melting solid dispersion with polyvinylpyrrolidone, *Drug Dev Ind Pharm*, 2014, Vol. 40, No. 3, s.330-337, ISSN: 1520-5762

27 Khan, A.W., Kotta, S., Ansari, S.H., et al.: Enhanced dissolution and bioavailability of grapefruit flavonoid Naringenin by solid dispersion utilizing fourth generation carrier, *Drug Dev Ind Pharm*, 2015, Vol. 41, No. 5, s.772-779, ISSN: 1520-5762

28 Český lékopis 2009, Doplněk 2013, První vydání, Grada Publishing a.s., 2009, ISBN:978-80-247-2994-7

29 Verhoeven, E., De Beer, T., Schacht, E., Van den Mooter, G., Remon, J.P., Vervaet, C.: Influence of polyethylene glycol/polyethylene oxide on the release characteristics of sustained-release ethylcellulose mini-matrices produced by hot-melt extrusion: in vitro and in vivo evaluations, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2009, Vol. 72, No. 2, s. 463-470, ISSN: 1873-3441

30 Kumar, V.: Solid Dispersions of Opioid Antagonists,U.S. Patent 7,914,776, 2011

31 Leuner, C., Dressman,J.: Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2000, Vol. 50, No. 1, s.47-60, ISSN: 1873-3441

32 Rumondor, A. C. F., Ivanisevic, I., Bates, S., Alonzo, D.E. Taylor, L.S.: Evaluation of Drug-Polymer Miscibility in Amorphous Solid Dispersion Systems, *Pharm. Res.*, 2009, Vol. 26, No. 11, s. 2523 - 2534, ISSN: 1573-904X

33 Meng, F., Trivino, A., Prasad, D., Chauhan, H.: Investigation and correlation of drug polymer miscibility and molecular interactions by various approaches for the preparation of amorphous solid dispersions, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2015, Vol. 71, s. 12–24, ISSN: 1879-0720

34 Sotthivirat, S., McKelvey, C., Moser, J., Rege, B., Xu, W., Zhang, D.: Development of amorphous solid dispersion formulations of a poorly water-soluble drug, MK-0364S, *Int. J. Pharm.*, 2013, Vol. 452, No.1-2, s.73– 81, ISSN: 0378-5173

35 Sahoo, N.G., Kakran, M., Li, L., Judeh, Z., Muller, R.H.: Dissolution enhancement of a poorly water-soluble antimalarial drug by means of a modified multi-fluid nozzle pilot spray drier, *Mater. Sci. Eng.*, 2011, Vol. 31, No.2, s. 391 - 399, ISSN: 0921-5093

36 Seilerová L., Brusová, H., Kratochvíl, B., Krejčík, L.: Využití metod termické analýzy ve výzkumu a vývoji léčiv, *Chem. Listy*, 2012, Vol. 106, s. 890 - 895, ISSN: 1213-7103

37 Klimeš J. a kol.: Kontrolně-analytické hodnocení léčiv lékopisnými metodami, *Nukleus HK* 2011, ISBN: 978-80-87009-29-1

38 Český lékopis 2009, Doplněk 2013, První vydání, Grada Publishing a.s., 2009, ISBN:978-80-247-2994-7

39 Dostupné z: <http://old.vscht.cz/lms/Zverze/Infrared.htm>, datum náhledu: 25.2.2016

40 Leuner, C., Dressman, J.: Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2000, Vol. 50, No. 1, s. 47-60, ISSN: 1873-3441

41 Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Rentgenov%C3%A1_krystalografie, datum náhledu 15.8.2015

42 Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/rentgenova-difracni-analyza-na-praskovych-vzorcich>, datum náhledu 17.10.2015

43 Šnejdrová, E., Dittrich, M.: Poly(α -hydroxykyseliny) jako nosiče léčiv, Chem.Listy, 2011, Vol.105, str. 27-33, ISSN: 1213-7103

44 Šnejdrová, E., Drastík, M., Dittrich, M.: Plasticized branched aliphatic oligoesters as potential mucoadhesive drug carriers. Int. J. Pharm., 458 (2013) 282– 286.

45 Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Butanon>, datum náhledu: 1.4.2016

46 Dostupné z :https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Salicylic_acid_chemical_structure.png, datum náhledu 11.1.2016

47 Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.331.html>, datum náhledu: 10. 8. 2015

48 Doležal, M. a kol., Farmaceutická chemie působící na centrální nervový systém, Nakladatelství Karolinum 2013, ISBN: 978-80-246-2382-5

49 Sklenář, Z. et al.: Magistraliter receptura v dermatologii, Galén 2009; ISBN: 978-80-7262-588-8, 441 s

50 Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php>, datum náhledu: 25.2.2016

51 Sklenář, Z.: Úskalí individuální přípravy léčivých přípravků v lékárnách – vybrané příklady II, Praktické lékárenství, 2009; Vol. 5, No.3, str. 139-142, ISSN: 1803-5329

52 Růžičková Jarešová,L.: Dermatologická externa tekutá, Dermatologie pro praxi, 2009; Vol. 3, No. 2, str. 94 - 97, ISSN: 1803-5337

53 Sklenář,Z.: Úskalí individuální přípravy léčivých přípravků v lékárnách – vybrané příklady I., Praktické lékárenství, 2008; Vol. 4, No.5, s. 247-250, ISSN: 1803-5329

54 Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Miconazole>, datum náhledu 15. 8. 2015

55 Dostupné z:http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB7705401.htm, datum náhledu: 25.2.2016

56 Dostupné z: <http://www.chemnet.com/cas/cz/22916-47-8/Miconazole.html>, datum náhledu: 16. 8. 2015

57 Al-Badr, AA.: Miconazole nitrate: comprehensive profile, Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol., 2005, Vol. 32, s. 3–65, ISSN: 1871-5125

58 Hašek,J.: Nové léčivé látky v magistraliter receptuře XIV – mikonazol a mikonazol-nitrát, Praktické lékárenství, 2013; Vol. 9, No. 4–5, s. 192–195, ISSN: 1803-5329

59 Dostupné z: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01110>, datum náhledu: 7.3.2016

60 Ellepola, AN., Samaranayake, LP.: Oral candidal infections and antimycotics, Crit. Rev. Oral. Biol. M., 2000, Vol. 11, No.2, s. 172–198, ISSN: 1544-1113

61 Bukvić Mokos Z., Kralj, M., Basta-Juzbašić, A., Lakoš Jukić, I.: Seborrheic dermatitis: an update, Acta. dermat.-venerol. Croatica, 2012, Vol. 20, No.2, s. 98–104, ISSN: 1847-6538

62 Piérard, G.E., Hermanns-Le, T., Delvenne, P., Piérard-Franchimont, C.: Miconazole, a pharmacological barrier to skin fungal infections, Expert Opin. Pharmacother., 2012, Vol. 13, No.8, s. 1187–1194, ISSN: 1744-7666

63 Barasch, A., Griffin, A.V.: Miconazole revisited: new evidence of antifungal efficacy from laboratory and clinical trials, *Future Microbiology*, 2008, Vol. 3, No. 3, s. 265–269, ISSN: 1746-0913

64 Heeres, J., Meerpoel, L., Lewi, P.: Conazoles, *Molecules*, 2010, Vol. 15, No.6, s. 4129–4188, ISSN: 1420-3049

65 Quatresooz, P., Vroome, V., Borgers, M., Cauwenbergh, G., Piérard, G.E.: Novelities in the multifaceted miconazole effects on skin disorders, *Expert Opin. Pharmacother.*, 2008, Vol. 9, No. 11, s. 1927–1934, ISSN: 1744-7666

66 Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0031404&tab=texts>, datum náhledu: 25.2.2016

67 Niazi, S.: *Handbook of pharmaceutical manufacturing formulations, Part 4. Semisolid products*. Boca Raton: CRC, Press 2004:, s. 263, ISBN: 978-1-4200-8126-8

68 *Therapeutisch Magistraal Formularium. Medisch farmaceutische kwaliteitszorg.*, Vydání 2010., Dostupné na webu: <http://www.mfk-qmp.be/>. Datum náhledu 20. 9. 2015

69 Dostupné z : <http://www.mfk-qmp.be/nl/content/miconazoolnitraat-poeder-2>, datum náhledu 20.9.2015

70 Dostupné z: <http://www.mfk-qmp.be/nl/content/miconazoolnitraat-emulsie2>, datum náhledu: 20.9.2015