

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmaceutické technologie



Diplomová práce

Sprejové sušení suspenze chitosanu s různým obsahem léčiva
Spray drying of chitosan suspension with different content of active substance

Hradec Králové, 2021

Lucie Plotová

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem pro 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, Lucie Plotová

Poděkování patří vedoucí mé diplomové práce PharmDr. Petře Svačinové, Ph.D. za odborné vedení, pomoc a čas věnovaný zpracování této práce. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Janě Brokešové za poskytnutí kalibrační křivky meloxikamu. Další poděkování patří paní Lence Svobodové a Mgr. Tereze Vařilové za pomoc při zpracování experimentální části.

OBSAH

1	ABSTRAKT	6
2	ABSTRACT.....	7
3	ZADÁNÍ A CÍLE PRÁCE	9
4	ÚVOD.....	10
5	TEORETICKÁ ČÁST	11
5.1	Meloxikam.....	11
5.2	Laurylsíran sodný	15
5.3	Solubilizace.....	19
5.3.1	Surfaktanty.....	19
5.3.2	Micely	20
5.3.3	Micelární solubilizace.....	21
5.4	Sprejové sušení	24
5.4.1	Sprejové sušení meloxikamu	25
6	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	31
6.1	Použité suroviny	31
6.2	Použité přístroje	31
6.3	Metody přípravy	32
6.3.1	Sprejové sušení	32
6.3.2	Optická mikroskopie.....	33
6.3.3	Skenovací elektronová mikroskopie (SEM).....	34
6.3.4	Diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC)	34
6.3.5	Disoluce a spektrofotometrie.....	35
7	DISKUZE A VÝSLEDKY	38
7.1	Hodnocení vzhledu částic	39
7.2	Hodnocení rychlosti a množství uvolněného léčiva	49
7.3	Hodnocení tepelných vlastností pomocí DSC	54

8	ZÁVĚR.....	62
9	BIBLIOGRAFIE.....	64

1 ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Farmaceutická technologie

Školitel: PharmDr. Petra Svačinová, Ph.D.

Posluchač: Lucie Plotová

Název diplomové práce: Sprejové sušení suspenze chitosanu s různým obsahem léčiva

V této práci byla hodnocena sprejově sušená suspenze chitosanu s různým obsahem léčiva. Sprejovým sušením byly z různě koncentrované suspenze vytvořeny pevné částice, které byly dále hodnoceny, aby se posoudily jejich vlastnosti. Vytvořená suspenze obsahovala kromě chitosanu 20, 30, 40 nebo 50 mg meloxicamu a laurylsíran sodný jako tenzid a následně byla sušena při teplotě 170 °C, 190 °C nebo 210 °C.

Připravené částice byly hodnoceny optickým mikroskopem a skenovacím elektronovým mikroskopem (SEM). Dále se pomocí disoluce hodnotila rychlost a množství uvolněného léčiva a pomocí diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC) byly hodnoceny tepelné vlastnosti částic.

Dle výsledků z optického mikroskopu a SEM se ukázalo, že částice vzorků tvořily shluky z jednotlivých částic a na snímcích byly vidět nepravidelné tvary. Na povrchu destičkovitých částic chitosanu byly viditelné malé částice meloxicamu. Nebyl prokázán zásadní vliv teploty sušení ani změny koncentrace na vzhled částic. Po vyhodnocení disolučních profilů byla viditelně zvýšena rychlost uvolnění léčiva u sprejově sušených vzorků oproti samotnému meloxicamu i oproti nesusušené fyzikální směsi. Na termogramech DSC jsou zaznamenány píky dehydratace, teploty tání, dekompozice a degradačních produktů. Teplota tání meloxicamu byla u sprejově sušených vzorků snížena téměř o 65 °C oproti teplotě tání samotného meloxicamu. Po druhém měření s odstupem 6 měsíců nebyly na termogramech zaznamenány změny a připravené částice tak můžeme považovat za stabilní.

2 ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of: Pharmaceutical Technology
Consultant: PharmDr. Petra Svačinová, Ph.D.
Student: Lucie Plotová
Title of Thesis: Spray drying of chitosan suspension with different
 content of active substance

In this work, a spray-dried suspension of chitosan with different content of active substance was evaluated. By spray drying, solid particles were formed from the suspensions of various drug concentration, which were further evaluated to assess their properties. The formed suspensions contained, in addition to chitosan, 20, 30, 40 or 50 mg of meloxicam and sodium lauryl sulphate as surfactant and were subsequently dried at 170 °C, 190 °C or 210 °C.

The prepared particles were evaluated using an optical microscope and a scanning electron microscope (SEM). Furthermore, the rate and amount of released active substance were evaluated by dissolution, and the thermal properties of the particles were evaluated by differential scanning calorimetry (DSC).

According to the results from the optical microscope and SEM, it was shown that the particles of the spray-dried samples formed clusters of individual particles and irregular shapes can be seen in the images. Small particles of meloxicam are visible on the surface of the platelet-shaped chitosan particles. No significant influence of drying temperature or change in concentration on the appearance of the particles was demonstrated. After evaluation of the dissolution profiles, the rate of active substance release increased in the spray-dried samples, compared to meloxicam alone and compared to the physical mixture. Peaks of dehydration, melting point, decomposition and degradation products are recorded on DSC thermograms. The melting point of meloxicam was reduced by almost 65 °C in spray-dried samples compared to the melting point of meloxicam alone. After the second measurement with an interval of

6 months, no changes were recorded on the thermograms and the prepared particles can be considered as stable.

3 ZADÁNÍ A CÍLE PRÁCE

Cílem diplomové práce je příprava sprejově sušených částic s obsahem chitosanu a léčiva a jejich následné hodnocení. Experimentální část bude zaměřena hlavně na ověření praktické proveditelnosti sprejového sušení suspenze pomocné látky a nastavení postupů přípravy částic a jejich hodnocení.

Částice budou připraveny ze suspenze chitosanu v roztoku léčiva (meloxicamu) s laurylsíranem sodným. Sušení bude probíhat při třech různých teplotách. Vliv teploty sušení a koncentrace léčiva na vzhled částic bude hodnocen mikroskopicky, pomocí diferenciální skenovací kalorimetrie budou sledovány tepelné charakteristiky připravených částic a vliv chitosanu na uvolňování léčiva bude hodnocen pomocí disoluce.

Získané výsledky budou sloužit především k nastavení parametrů sprejového sušení a nastavení metodiky hodnocení takto připravených částic a následně budou využity pro další experimenty.

4 ÚVOD

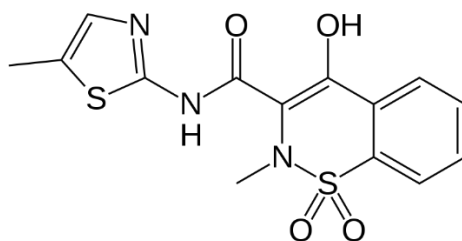
Sprejové sušení je metoda, kdy z připravených roztoků nebo suspenzí vzniknou po nástřiku do sušicí komory za zvýšené teploty suché mikročástice, které následně mohou být využity pro řízené uvolňování léčiv, pro zvýšení jejich rozpustnosti, cílený transport nebo pro přípravu nosičů pro léčiva v aerosolových přípravcích. Vzniklé mikročástice mohou být dále zpracovány do různých lékových forem. Nastavením vhodných parametrů sušení, jako je vstupní teplota, rychlost průtoku zásobního roztoku nebo proudění sušicího plynu mohou být upraveny vlastnosti částic tak, aby nedocházelo k tvorbě vlhkých shluků a vznikal produkt, který může být dále zpracovaný do lékové formy. Meloxicam je nesteroidní antiflogistikum, které patří mezi preferenční inhibitory cyklooxygenázy-2 a vyznačuje se malou rozpustností. S využitím sprejového sušení můžeme zvyšovat jeho rozpustnost a urychlit tak nástup účinku, což je výhodné při úlevě od bolesti u symptomatické léčby zánětlivých onemocnění. Pro hodnocení vlastností sprejově sušených částic byla v této diplomové práci vytvořena suspenze chitosanu s různým obsahem léčiva meloxicamu, který byl rozpuštěn v laurylsíranu sodném. [1] [2] [3] [4]

5 TEORETICKÁ ČÁST

5.1 Meloxikam

Meloxikam je nesteroidní antiflogistikum, které patří do skupiny oxikamů. Strukturní vzorec meloxikamu je uveden na Obrázku 1. Řadíme ho mezi preferenční inhibitory cyklooxygenázy-2 (COX-2). Díky svojí preferenci ke COX-2 má meloxikam snížené riziko vzniku gastrointestinálních komplikací a oproti skupině COX-2 selektivních koxibů byl u meloxikamu pozorován významně nižší výskyt kardiovaskulárních nežádoucích účinků. Hladiny plazmatické koncentrace dokáže udržovat v terapeutickém rozmezí při dávkování jednou denně. Využívá se především v terapii osteoartrózy, revmatoidní artritidy a u ankylozující spondylitidy, má protizánětlivé, analgetické a antipyretické vlastnosti. Meloxikam se vyznačuje tím, že je prakticky nerozpustný ve vodě, málo rozpustný v methanolu, ale naopak dobře rozpustný v dimethylformamidu. Jedná se o pevnou světle žlutou látku, která je bez zápachu. Ve skupině preferenčních COX-2 inhibitorů se nachází spolu s nimesulidem. [1] [5] [6]

Z farmakokinetického hlediska dochází k velmi dobré absorpci z gastrointestinálního traktu. Biologická dostupnost je až 89 % po perorálním podání. Léčivo je také jako ostatní nesteroidní antiflogistika (NSAID) z více jak 99,5 % vázáno na plazmatické bílkoviny, především na albumin. Maximální plazmatické koncentrace je dosaženo za 5–6 hodin, účinek však nastupuje rychleji. Metabolismus je zprostředkován pomocí CYP 2C9, vznikají 4 hlavní metabolity, které však nejsou biologicky aktivní. Poločas eliminace se udává okolo 20 hodin a k vylučování metabolitů dochází močí a stolicí. [7]



Obrázek 1: Strukturní vzorec meloxikamu [8]

Terapeutické využití meloxikamu najdeme u dlouhodobé symptomatické léčby revmatoidní artritidy. Revmatoidní artritida (RA) je chronické autoimunitní zánětlivé onemocnění, které postihuje šlachy a klouby, přičemž dochází k postupné destrukci kloubní chrupavky, dále dochází k postupné dekalcinaci a také ke kostní erozi. U pacienta vzniká chronický zánět synoviální membrány. Pro tělo je charakteristická zvýšená hladina revmatoidních faktorů. Dále jsou zvýšené protilátky proti citrulinovaným peptidům nebo také proti karbamylovaným peptidům. Cílem léčby je především udržet pacienta co nejdéle ve stavu remise nebo alespoň v málo komplikovaném stavu. [9] [10]

Terapie při RA pomáhá redukovat symptomy, avšak nedochází k zabránění strukturního poškození. Mezi hlavní součást farmakoterapie RA patří nesteroidní antiflogistika, chorobu modifikující léky (DMARDs) a glukokortikoidy. Při podávání perorálních tablet meloxikamu je stanovena maximální denní dávka 15 mg a podle terapeutické odpovědi můžeme dávku snížit na polovinu. [9] [10]

Další hlavní terapeutické využití je u ankylozující spondylitidy. Je to zánětlivé revmatické onemocnění, které postihuje spojení na páteři. Projevuje se bolestí v dolní části zad, u pacienta způsobuje ranní ztuhlost. K terapii se využívá kombinace nefarmakologické i farmakologické léčby. Do nefarmakologické léčby patří fyzioterapie a různá rehabilitační cvičení, farmakologická léčba zahrnuje NSAID (např. meloxikam), lokální glukokortikoidy, sulfasalazin a anti-TNF-preparáty. NSAID jsou zde základním lékem. Útlum cyklooxygenázy má zřejmě na svědomí to, že dochází ke zpomalení růstu syndesmofytů. Způsob podávání tu však může být různý. Buď jen v době potřeby při bolesti, anebo dlouhodobě, právě kvůli zpomalení strukturní progresi. [9] [10]

Dále je meloxikam indikován u osteoartrózy, což je kloubní onemocnění, při kterém dochází k poruše kloubní chrupavky. Z nefarmakologické léčby uplatňujeme rehabilitační cvičení. Z farmakologické léčby využíváme NSAID, která snižují bolest a ztuhlost. Vhodná jsou také SYSADOA a intraartikulárně aplikované glukokortikoidy. SYSADOA jsou symptomaticky pomalu působící léky při

osteoartróze. U akutních exacerbací osteoartrózy může být nasazena dávka meloxicamu 7,5 mg denně, pokud se účinek neprojeví, dávku zvyšujeme na 15 mg, aby došlo u pacienta k dostatečné symptomatické úlevě. [9] [10]

Meloxicam se často využívá v off-label indikacích. Jedná se o indikace, které nejsou uvedeny v aktuálním schváleném souhrnu údajů o přípravku. Například je to u lumbaga, kdy se využívá pro úlevu od bolesti nervů, dále je to úleva od bolesti spojenou se zubní chirurgií nebo od bolestí po operaci. [11]

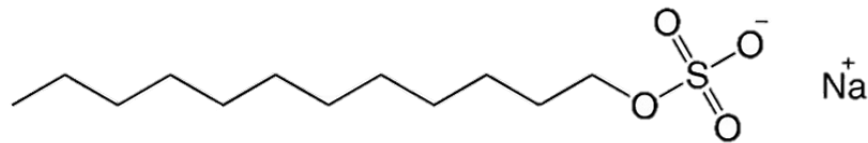
Ve studii Euler–Ziegler a kol. [12] se porovnávala hodnocení o intramuskulárním použití meloxicamu při akutní revmatické bolesti. Porovnával se mezi sebou účinek a snášenlivost intramuskulární injekce a perorální formy meloxicamu. Ze studie vyplývá, že intramuskulární injekce mají rychlejší nástup účinku při akutním stavu. Avšak pro dlouhodobé používání se intramuskulární forma nedoporučuje a pacient by měl být převedený na formu perorální. Problémem u intramuskulárního podání může být špatná lokální snášenlivost. Po farmakokinetické stránce bylo u intramuskulární aplikace dosaženo maximální plazmatické koncentrace během 1,5 hodiny. U perorálního podání byla tato koncentrace dosažena za 5–6 hodin. Obě aplikované formy snížily u pacientů s akutním ischiasem a revmatoidní artritidou spontánní bolest a průměrná doba nástupu účinku se také příliš nelišila. Významným parametrem bylo zkrácení času do maximálního zlepšení bolesti a zkrácení doby ranní ztuhlosti.

Velmi výhodnou lékovou formou pro meloxicam jsou orodispergovatelné tablety. Jsou vhodné pro pacienty, kteří mají problémy s polykáním běžných tablet a tobolek, např. pro geriatrické, dětské a psychotické pacienty. Dispergovatelné tablety se snadno rozpouští v ústech během několika vteřin a následně nastupuje rychlá úleva od bolesti. Pro jejich přípravu se používají superrozvolňovadla, která umožňují rychlejší rozpad tablety. U léčiv se špatnou rozpustností ve vodě, jako je např. meloxicam, pak pozitivně ovlivňují rozpouštění a uvolnění léčiva. Ve studii Singh a kol. [13] byly tablety s obsahem meloxicamu připraveny přímým lisováním. K jejich přípravě byla použita superrozvolňovadla (např. sodná sůl glykovaného

škrobu, maltodextrin) a jako plniva byla použita hypromelosa, mastek a uhličitan vápenatý.

5.2 Laurylsíran sodný

Laurylsíran sodný (SLS), neboli dodecylsíran sodný, je aniontový tenzid, který patří mezi alkylysíran, jejichž obecný vzorec je $R-CH_2-O-SO_3Na$. Mají vysokou povrchovou aktivitu a sodné soli se nejčastěji používají jako prací prostředky. [14]



Obrázek 2: Strukturní vzorec laurylsíranu sodného [43]

Sumární vzorec pro laurylsíran sodný je $C_{12}H_{25}OSO_3Na$. Jedná se o bílý až slabě žlutý prášek, který je dobře rozpustný ve vodě a částečně rozpustný v 96% lihu. Používá se v kosmetických přípravcích, v zubních pastách a v potravinách pro tvorbu pěny. Jeho dlouhodobé používání v kosmetických přípravcích v péči o pokožku a vlasy může ale způsobovat vysušování a lokální podráždění. Doporučuje se používání v koncentracích nižších než 1 %. U čisticích prostředků je vhodné používat ochranné pomůcky, aby nedocházelo k podráždění pokožky. [14]

Vliv laurylsíranu sodného na pokožku hodnotili Leoty–Okombi a kol. [15] Zdravým ženám byla aplikována náplast 0,5% vodného roztoku laurylsíranu sodného na 24 hodin. Analýza probíhala před a po odstranění náplasti. Pokožka byla po odstranění zarudnutá, snížila se bariérová funkce pokožky a bylo sníženo i přirozené zvlhčování pokožky.

Používání laurylsíranu sodného v zubních pastách se věnovala studie Alli a kol. [16] zabývající se recidivující aftózní stomatitidou (RAS). Při RAS dochází k poškození dutiny ústní a narušení ústní mikroflóry, kdy se na ústní sliznici tvoří vředy. Jsou vytvářeny v různých cyklech a s různým množstvím výskytu. Cílem studie

bylo porovnat u pacientů s RAS účinky zubní pasty s laurylsíranem sodným a bez laurylsíranu sodného. Výsledkem studie se prokázalo, že zubní pasta bez laurylsíranu sodného snížila počet vředů, trvání vředů, bolestivost a počet recidivujících epizod.

V jedné ze studií Zhao a kol. [17] je popisován vliv laurylsíranu sodného na rozpustnost želatinové tobolky. Želatinové tobolky jsou běžně používané pro perorální podávání. Použity byly šedé tvrdé tobolky velikosti 0. Pro disoluci byla zvolena pádlová disoluční metoda a jako disoluční média byla použita kyselina chlorovodíková, pufr octanu sodného a pufr fosforečnanu sodného. Při nepřítomnosti laurylsíranu sodného rychlost rozpouštění tobolky s rostoucím pH klesala. Naopak u 1% laurylsíranu sodného bylo pozorováno výrazné zpomalení rozpouštění při nízkém pH. Vznikla i želatinová sraženina, ale při zvyšujícím pH byla už méně výrazná. Při $\text{pH} > 5$ už nebyl výrazný rozdíl mezi výsledky disoluce s laurylsíranem sodným nebo bez něho.

Laurylsíran sodný je nejběžnější povrchově aktivní látka, která se používá u různých perorálních forem léčivých přípravků s léčivy, jako je alprazolam, klonazepam, acetaminofen a gabapentin atd., pro zvýšení rozpustnosti. Rozpustnost 19 léčiv ve vodě a v koncentracích 0,1% a 0,5% vodného roztoku laurylsíranu sodného stanovovali Alizadeh a kol. [18] Většina léků uvedených v této studii (např. ketokonazol, ibuprofen, acetaminofen) vykazovala zvýšení rozpustnosti v 0,5% laurylsíranu sodném.

Laurylsíran sodný se jako anionický tenzid často využívá pro přípravu mikrosuspenzí, které jsou následně sprejově sušeny. Sprejové sušení bylo použito ve studii Park a kol. [19], kde měl laurylsíran vliv na zvýšenou rozpustnost nesteroidních antiflogistik.

Studie Lee a kol. [20] popisuje, že laurylsíran sodný může být použitý při sprejovém sušení nejen pro zabránění ulpívání na stěnách sušící komory, ale také pro enkapsulaci ethanolu v dextrinu. Ve studii byl použit roztok ethanolu, vody a dextrinu, kdy voda byla téměř odstraněna při sprejovém sušení a ethanol byl enkapsulován

v polymerním obalu. Díky tomu byla vyvinuta léková forma pro špatně rozpustná léčiva ve vodě a byla nazvána suchý elixír. Jednalo se o mikrotobolku, která obsahovala ethanol a léčivo, které bylo v polymerním obalu rozpustným ve vodě. Avšak tato metoda vyžadovala pro enkapsulaci vysoké dávky léčiv i velké množství polymeru i ethanolu. Laurylsíran sodný byl použitý pro přípravu mikrotobolek, aby se zvýšil obsah ethanolu a snížilo se množství dextrinu. Maximální účinnost enkapsulace byla pozorována u koncentrace 0,5–1% laurylsíranu sodného. Přidané malé množství laurylsíranu sodného umožnilo snížit množství použitého dextrinu.

U studie Hanif a kol. [21] byla popisována inkorporace benzothiazolu do micel. Benzothiazoly jsou bicyklické systémy, které se používají jako např. potravinářské přídatné látky. Použití micel jako nosičů léčiv je pro molekuly léčiva výhodné, protože snadněji dosahují cíle. Ve studii byl zvolen aniontový tenzid laurylsíran sodný a jako kationtový tenzid cetyltrimethylamonium bromid. Micely svojí strukturou napodobují biomembrány, protože mají hydrofobní jádro a hydrofilní povrch a právě tato podobnost je vhodná při zkoušení interakcí lék-membrána. Je to výhodné zejména u léků, kde je uváděn účinek interakcí s biologickými membránami, např. s lokálním anestetikem, antidepresivem a antibiotikem. Benzothiazol zvyšuje kritickou micelární koncentraci obou surfaktantů a silněji se váže na kationtový surfaktant než na aniontový.

V další studii Carlota a kol. [22] byla hodnocena rozpustnost ibuprofenu v micelárních roztocích různě nabitých povrchově aktivních látek. Jako aniontový tenzid zde byl použitý laurylsíran sodný, jako kationtový tenzid dodecyltrimethylamonium bromid a jako neiontový tenzid ethylenoxid. Ibuprofen je nesteroidní protizánětlivé léčivo, které je špatně rozpustné ve vodě. Celková rozpustnost ibuprofenu vzrostla se zvyšující se koncentrací povrchově aktivní látky bez ohledu na typ tenzidu. Avšak aniontový tenzid vykazoval nejhorší solubilizační schopnost, protože docházelo k elektrostatickému odpuzování mezi léčivem a povrchově aktivní látkou. Naopak kationtový tenzid poskytl nejvyšší solubilizační schopnost pro ibuprofen. Stejně vhodnou alternativou ke kationtovému tenzidu byl i neiontový tenzid, protože vedl ke zvýšení rozpustnosti léčiva v micelárním roztoku

a zároveň měl nízkou hodnotu kritické micelární koncentrace, která také vede ke zvýšení rozpustnosti ibuprofenu.

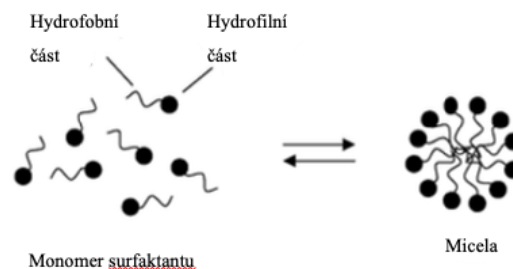
5.3 Solubilizace

Termín solubilizace můžeme také najít jako zprostředkované rozpouštění. Jedná se o zlepšení rozpustnosti léčiva tím, že pomocí pomocných látek můžeme převést léčivo do roztoku. Pomocnými látkami jsou tenzidy, hydrotropní přísady a kosolventy. [23]

5.3.1 Surfactanty

Surfactanty neboli tenzidy jsou amfifilní molekuly složené z hydrofilní a hydrofobní části (Obrázek 3). Polární hlava může být různě nabitá (aniontová, kationtová, zwitterionová a neiontová). Surfactant se v nízké koncentraci ve vodném roztoku adsorbuje na fázovém rozhraní a působí na snížení mezifázové volné energie. Pokud se zvýší koncentrace tenzidu v roztoku, dojde k nasycení fázového rozhraní. Při překročení kritické micelární koncentrace (CMC) se molekuly tenzidu shlukují do micel. [23] [24]

Příkladem kationtového tenzidu je cetyltrimethylammonium-bromid, aniontového laurylsulfát sodný a amfoterního fosfatidylcholin. Mezi neiontové tenzidy patří poly(oxyethylen)sorbitanmonooleát (Tween[®] 80, Polysorbát 80). Surfactanty mají využití i jako solubilizátory pro některá nesteroidní antiflogistika. Ukázalo se, že kationtové povrchově aktivní látky jsou nejvhodnější pro kyselá léčiva, jako jsou nimesulid, ibuprofen a kyselina mefenamová. Neionogenní surfaktanty budou naopak výhodnější pro hydrofobní léčiva, protože mají nižší hodnotu kritické micelární koncentrace. [23] [24]

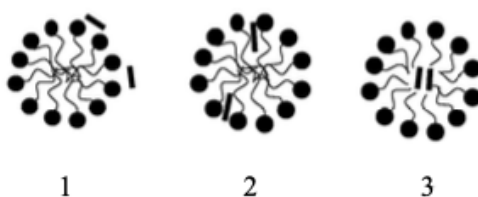


Obrázek 3: Struktura micely. Upraveno podle [24]

5.3.2 Micely

Micely jsou systémem nosičů léčiv. Mohou zvyšovat biologickou dostupnost špatně rozpustných léčiv a ty poté zůstávají dostatečně dlouho v krvi. Micely jsou tvořené jednotlivými monomery povrchově aktivních látek. Velikost částic se pohybuje v rozmezí 5–100 nm v průměru. U všech micelárních struktur, které se nachází ve vodném prostředí, jsou molekuly orientovány polární hlavou směrem k vodní fázi a uhlovodíkovým řetězcem dovnitř. Naopak v nevodném prostředí vznikají asociativní micely, které mají polární skupiny ve středu micely a uhlovodíkové řetězce směřují ven (Obrázek 3). [24] [25]

Micely jsou tvořeny povrchově aktivními látkami. Mají různý tvar, nejčastěji kulovitý, jejich tvar je však ovlivněn vlastností roztoku. Závisí především na tvaru molekul surfaktantu a na jeho koncentraci. Léčiva, která jsou v micelárním systému, jsou chráněna před inaktivací biologickými látkami. Léčiva jsou umístěna v micelách podle své povahy (znázorněno na Obrázek 4). Hydrofilní léčivo je adsorbované na povrchu micely (Obrázek 4.1), mírně hydrofobní je uložené v palisádové vrstvě mezi hydrofilními hlavičkami a prvními uhlovodíkovými atomy, které jsou hydrofobní (Obrázek 4.2). Hydrofobní léčivo je umístěno ve vnitřním jádru micely (Obrázek 4.3). [24] [25]



Obrázek 4: Umístění léčiva v micelách [24]

Kritická micelární koncentrace je určitá koncentrace, kdy dochází ke shluku molekul rozpuštěné látky do micel. CMC pro různé tenzidy se pohybuje v rozmezí 10^{-5} až 10^{-3} mol·dm⁻³. Při rostoucí koncentraci tenzidů v roztoku se povrchové napětí snižuje až do CMC, ale následně se už téměř nemění. Na hodnotu CMC má vliv

i teplota. U iontových tenzidů se s rostoucí teplotou zvyšuje i hodnota CMC, a naopak u neiontových tenzidů se snižuje. Další často hodnocenou veličinou ve studiích je Krafftova teplota. Krafftova teplota je teplota, při které rozpustnost tenzidů dosáhne CMC. Po dosažení Krafftovy teploty dochází ke zvýšení rozpustnosti a tvorbě micel. U neionických tenzidů je to naopak nazýváno jako bod zákalu, protože zvýšená teplota vede ke snížení rozpustnosti. [26] [27]

5.3.3 Micelární solubilizace

Micelární solubilizace je vhodná pro zvyšování rozpustnosti špatně rozpustných léčiv ve vodě. Léčivá látka je inkorporována do micelárního komplexu a dochází také ke zlepšení transportu přes střevní epitel. Solubilizační schopnost tenzidů narůstá s délkou jejich hydrofobního řetězce. Pro stabilitu micel je výhodnější nižší kritická micelární koncentrace. Je to výhodné například u intravenózního podání, kdy i po naředění objemem krve stále existují micely, které mají nízkou hodnotu CMC. Micely s vysokou hodnotou se disociují na monomery. CMC závisí na struktuře molekul surfaktantu. Rozvětvený uhlíkatý řetězec a přítomnost násobných vazeb v řetězci ji zvyšují, naopak CMC klesá při rostoucí délce uhlíkatého řetězce. Z obecného hlediska platí, že CMC iontových tenzidů je vyšší než neiontových. [23] [24]

Podle hodnoty hydrofilně-lipofilní rovnováhy (HLB) můžeme posoudit schopnost surfaktantu tvořit micely. Hodnota HLB ukazuje poměr vlivu hydrofilní a lipofilní části molekuly surfaktantu. Vysokou hodnotu HLB najdeme u surfaktantu s objemnou polární částí, jako je například laurylsíran sodný. Schopnost tvořit micely je zde velmi dobrá. Naopak nízké hodnoty HLB (např. kyselina olejová) jsou vhodné pro snadnější tvorbu inverzní micely. [28]

Zvýšení rozpustnosti nesteroidních antiflogistik nimesulidu, ibuprofenu a kyseliny mefenamové za pomoci různých typů surfaktantů v 1% koncentraci se hodnotilo ve studii Park a kol. [19] Jako kationtový surfaktant byl použit cetyltrimethylamonium bromid (CTAB), laurylsíran sodný (SLS) jako aniontový surfaktant a polysorbát 80 (PS80) jako neionický surfaktant. Jako disoluční médium

byl použit fosfátový pufr (pH 6,8) a chlorovodíkový pufr (pH 1,2). U kyseliny mefenamové došlo po přidání surfaktantu ke zvýšení rozpouštění na 90 % z původních 10 %. Rychlost rozpouštění nimesulidu, kyseliny mefenamové a ibuprofenu byla nejvyšší po přidání CTAB, následoval SLS a nejnižší rychlost měl PS80. U ibuprofenu došlo ke zvýšení rychlosti rozpouštění u všech surfaktantů s minimálními rozdíly.

Cílem studie, kterou vedl Alkhamis a kol. [29], bylo zvýšení rozpustnosti gliklazidu pomocí micelární solubilizace. Gliklazid je antidiabetikum používané pro léčbu diabetu mellitu 2. typu. Patří do skupiny derivátů sulfonylmočoviny, jedná se o slabou kyselinu a je prakticky nerozpustný ve vodě. Cílem studie tedy bylo zvýšit jeho rozpustnost ve vodném prostředí pomocí iontových a neiontových surfaktantů. Ze všech použitých surfaktantů poskytoval nejvyšší solubilizaci hexadecyltrimethylamonium bromid a nejnižší decyltrimethylamonium bromid. Rozpustnost gliklazidu byla vyhodnocena z různých 1% koncentrací roztoků surfaktantů. Dle výsledků uvedených ve studii je prokázáno, že iontové povrchově aktivní látky mají mnohem vyšší solubilizační schopnost než neiontové. U kationtového surfaktantu vedlo prodloužení uhlovodíkových řetězců ke zvýšení solubilizace gliklazidu. Naopak aniontové surfaktanty při prodloužení uhlovodíkového řetězce snížily solubilizační schopnosti, proto nejnižší délka řetězce má nejvyšší solubilizační schopnost.

Pro zlepšení rozpustnosti ve vodě se ve studii Vinarov a kol. [30] zkoumal i progesteron, což je steroidní pohlavní hormon. Jedná se o hydrofobní léčivo, které má velmi nízkou rozpustnost ve vodě. Ve studii Zughaid a kol. [31] bylo zjištěno, že nejlépe solubilizován je progesteron ve směsi žlučových kyselin a fosfolipidů. V další studii Barry a kol. [32] se pozoroval vliv alkohol ethoxylátů na zvýšení rozpustnosti. Proto právě při této studii byla vybrána tato kombinace povrchově aktivních látek. V této práci bylo cílem stanovit strukturní vlastnosti pro surfaktanty vhodné pro progesteron na zlepšení jeho rozpustnosti. Využilo se 17 surfaktantů s různou délkou hydrofobního řetězce a také s různým nábojem u hydrofilních částí surfaktantu. Připravené suspenze byly umístěny do vodní lázně, kde byly při teplotě 37 °C míchány 24 hodin. Koncentrace rozpuštěného léčiva byla stanovena pomocí vysokoúčinné

kapalinové chromatografie (HPLC). Největší účinek měly aniontové tenzidy, poté kationtové a v závěru neiontové tenzidy. U všech typů tenzidů došlo při prodloužení délky hydrofobního řetězce i ke zlepšení solubilizace léčiva. Z toho vyplývá, že vhodnou volbou pro výběr tenzidu na zvýšení rozpustnosti u progesteronu bude surfaktant s dlouhým uhlovodíkovým řetězcem a iontovou hydrofilní částí. [30]

5.4 Sprejové sušení

Sprejové sušení je metoda, při které dochází k rychlému odstranění rozpouštědel z roztoku nebo suspenze za vzniku suchého prášku. Celý proces probíhá ve sprejové sušárně (Obrázek 5). Dle typu sprejové sušárny, průměru rozprašovací trysky a koncentrace roztoku tak můžeme ovlivnit velikost částic. Tato technika je vhodná nejen pro vysoušení, ale také k modifikaci velikosti částic a jejich tvaru, mikroenkapsulaci a také aglomeraci nanočástic nebo k maskování nepříjemné chuti léčiva. [2] [3]

Před zahájením sušení je látka nejdříve suspendována nebo rozpuštěna ve vhodné kapalině. Poté se přivede do sušárny, kde dochází za zvýšené teploty k nástřiku do sušicí komory a sušení probíhá v proudu vzduchu nebo inertního plynu. Během několika sekund dochází k odpařování více než 95 % vody v kapičkách. Předem nastavená tryska nám rozptyluje kapičky v sušicí komoře. Veškeré nastavení sušárny musí být optimalizováno tak, aby nedošlo ke slepení částic. Vlhkost by se také neměla dostat k výslednému produktu sušení, který se sbírá v jiné části sprejové sušárny do sběrné nádoby. Pro separaci produktu je vhodné použití cyklonu, kde dochází k ochlazení vzduchu. [2] [3]

Důležitými parametry pro sprejové sušení jsou vstupní a výstupní teplota. Vysoká vstupní teplota může narušit fyzikálně-chemické vlastnosti produktu, výstupní teplota je maximální teplota, na kterou se produkt může zahřát, a nelze ji přímo ovlivnit. Také reguluje konečnou vlhkost prášku. Dalšími parametry jsou viskozita připraveného roztoku nebo suspenze, povrchové napětí, rychlost nástřiku, průměr otvoru a materiál trysky. [2] [3] [33]

Výsledné (mikro)částice se ve většině případů při styku s kapalinou dobře smáčí a rychle rozpouští. Jejich využití je následně vhodné pro řízené uvolňování léčiv, cílený transport léčiv nebo jako nosiče pro léčiva v aerosolových přípravcích. [2] [3] Sprejovým sušením lze připravit také pomocné látky pro výrobu tablet, např. sprejově sušená laktosa, koprocesované pomocné látky (Avicel® HFE-102,

Emdex). Koprocesované pomocné látky mají dobré mechanické i fyzikální vlastnosti, které jsou pak ideální pro tvorbu tabletovací směsi. [34]



Obrázek 5: Sprejová sušárna Büchi Mini Spray Dryer B-290

5.4.1 Sprejové sušení meloxicamu

Meloxicam je léčivo 2. třídy BCS (biofarmaceutického klasifikačního systému), které má malou rozpustnost, ale vysokou permeabilitu. Právě sprejovým sušením můžeme rozpustnost meloxicamu zlepšovat a tím dosáhnout dřívějšího nástupu účinku. [4] Zvýšení rozpustnosti meloxicamu můžeme ovlivnit použitím vhodného nosiče léčiv, který je rozpustný ve vodě [35], zmenšením velikosti částic mletím [36] a přípravou nanokrystalických nebo amorfních forem účinné látky [4]. Sprejově sušený materiál má využití pro více způsobů, například u suchých

práškových inhalátorů, pro intranasální podání nebo pro zlepšení rozpustnosti tablet a tobolek pro perorální podání. [2]

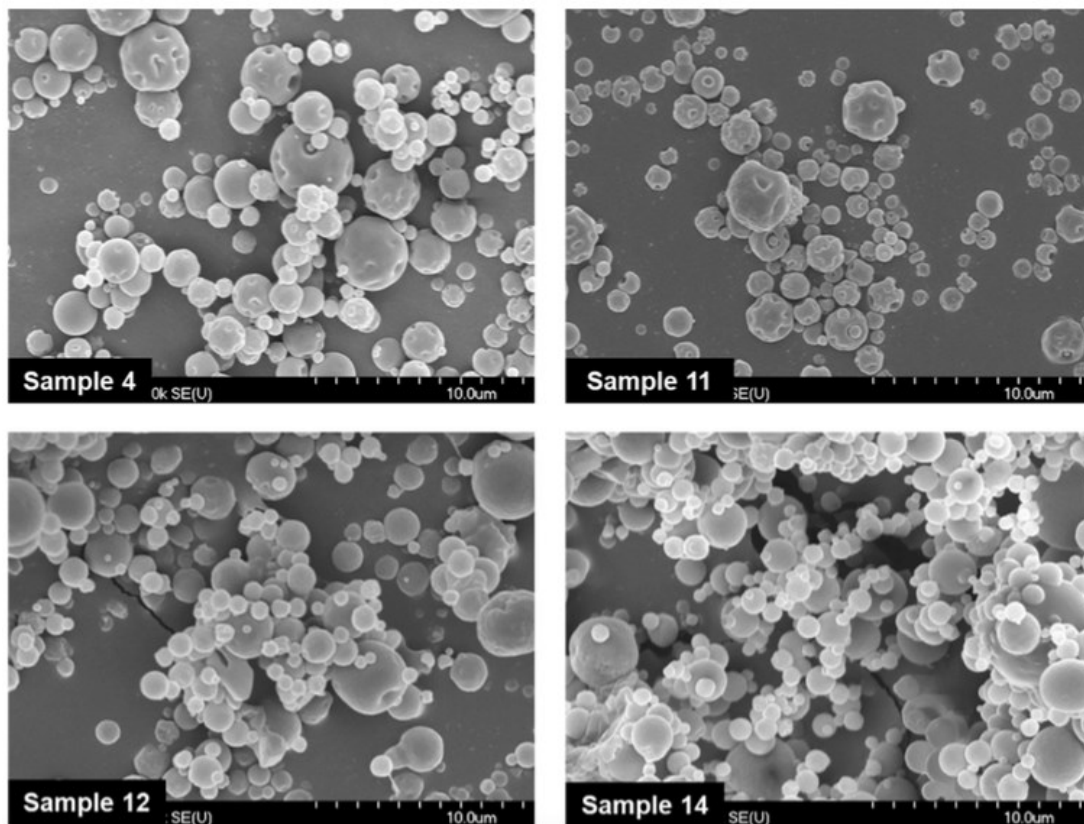
Ve studii El-Badry [37] byl meloxikam sprejově sušen s Gelucire® 50/13. Gelucire® je pomocná látka, která je složena z esterů mastných kyselin, z polyethylenglykolových (PEG) esterů a volného polyethylenglykolu. Jeho teplota tání je při cca 50 °C, proto byl přidán také Aerosil® 200, aby nedocházelo k tání ve sběrné nádobě. Rozpustnost sprejově sušeného meloxikamu byla stanovena ve fosfátovém pufru pH 7,4 při 37 °C. Rozpustnost sprejově sušené směsi byla 3,85krát větší než u obyčejné fyzikální směsi meloxikamu s Gelucire® a zvýšené rozpouštění bylo také prokázáno v umělé žaludeční šťávě. Při provedení rentgenové krystalografie (XRD) a diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC) bylo zjištěno, že s rostoucím množstvím Gelucire® postupně klesala krystalinita u sprejově sušeného léčiva. Dále se srovnávala protizánětlivá aktivita, která byla provedena metodou edému tlapy potkana pomocí karagenanu. Sprejově sušený meloxikam s Gelucire® vykazoval vyšší protizánětlivou aktivitu oproti jeho fyzikální směsi.

Využitím sprejově sušeného meloxikamu pro inhalační podání se zabývali Pomázi a kol. [35] Cílem bylo připravit částice meloxikamu, které by mohly být využity pro lokální terapii plic. Pro inhalaci je důležitým parametrem velikost částic, jejich distribuce a rychlost rozpouštění. Jako nosič se použil β -D-Mannitol, pro zlepšení rychlosti rozpouštění byl použit polyvinylpyrrolidon K-25 (PVP) a polysorbát 80 (PS80). Další součástí mikrosuspenze byl polyvinylalkohol (PVA) a aminokyselina L-leucin (Leu). Sprejové sušení probíhalo při teplotě 130 °C. K nejvyšším ztrátám meloxikamu (MX) došlo při použití suspenze meloxikamu a mannitolu (M) bez dalších přísad, což způsobila hlavně vysoká přilnavost meloxikamu ke skleněným stěnám sušící komory. Produkty s polysorbátem 80 způsobovaly agregaci částic a tím měly špatné inhalační vlastnosti. Polymery PVA a PVP měly dobrý efekt na agregaci jednotlivých částic a přítomnost Leu zlepšila dýchatelnou frakci meloxikamu. Na základě získaných výsledků tak byly jako vhodné kombinace pro inhalační podání vyhodnoceny sprejově sušené mikrosuspenze MX-M-PVA-Leu a MX-M-PVP-Leu.

Další studii, která se věnovala lokální plicní terapii, provedl Chvatal a kol. [38] Využil se opět meloxicam k léčbě zánětu u cystické fibrózy nebo chronické obstrukční poruchy. Cílem studie bylo porovnat účinnost velkých porézních částic (LPP) s neporézními částicemi bez nosiče, kterým je např. laktóza. Vynechání nosiče snížilo vnitřní soudržnost. Pro sprejové sušení neporézních částic byly připraveny roztoky meloxicamu, meloxicamu + leucinu, meloxicamu + leucinu + hyaluronátu sodného. Hyaluronát sodný má dobré mukoadhezivní vlastnosti, které jsou vhodné pro cílenou léčbu, a využívá se také pro zvýšení aerosilizace účinné látky. Pro porézní částice se přidaly různé koncentrace porogenního činidla bikarbonátu amonného, díky kterému získáváme velké porézní částice. Bikarbonát amonný se odpařuje rychleji než disperzní fáze a ve vnitřních částech zůstávají otvory. Při aerodynamickém hodnocení velkých porézních částic byla jak hodnota frakce jemných částic, tak emitovaná frakce vyšší než u neporézních částic. Porézní částice mají také nižší hustotu stlačení, která vede k lepšímu ukládání v plicích. Díky dobrým aerosolizačním vlastnostem mohou velké porézní částice nabídnout lokální léčbu zánětlivých onemocnění plic.

Další studie zpracovaná od Varga a kol. [39] se věnuje zvýšení biologické dostupnosti léčiva meloxicamu ve směsi s chitosanem (kationtový polymer, který je schopný zvýšit permeaci léčiva). Tato kombinace by měla být určena k intranasálnímu podání. Nosní sliznice může být dobrý alternativní způsob pro aplikaci léčiv díky své vysoké vaskularizaci epitelu. Také se při této aplikaci obchází první průchod játry (first-pass effect). Práškové formy se z nosní dutiny vylučují pomaleji, proto je jejich použití výhodnější. Sprejově se nejprve sušil samotný 1% roztok chitosanu za použití 1% kyseliny octové. Následovalo sprejové sušení směsi meloxicamu s dimethylsulfoxidem (DMSO) v roztoku chitosanu s různým množstvím tripolyfosforečnanu. Pro sprejové sušení byla nastavena vstupní teplota 90 °C a u výsledného produktu byly dále hodnoceny různé vlastnosti. Velikost částic obsahující léčivo byla větší než částic bez léčiva, ale stále vhodná pro intranasální aplikaci. Pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM) byla pozorována morfologie mikročástic. Samotný meloxicam vytvářel téměř sférické částice, zatímco částice bez léčiva měly propadlou strukturu (Obrázek 6). Při disoluční studii se množství rozpuštěného meloxicamu snižovalo se zvyšováním koncentrace

tripolyfosforečnanu. Lécivo se však zpočátku uvolňovalo rychle a poté následovalo zpomalení uvolňování léčiva.



Obrázek 6: SEM vzorků 4 a 11 bez léčiva, vzorek 12 a 14 s obsahem meloxicamu [39]

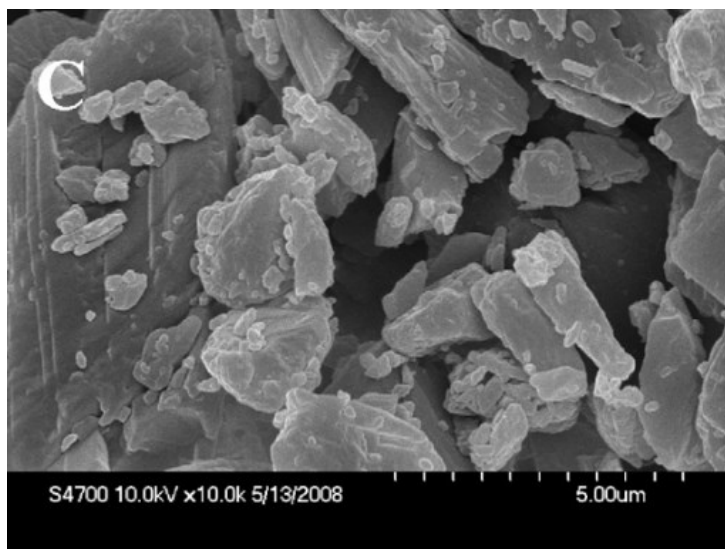
Ve studii, kterou provedli El-Maradny a kol. [40] probíhalo sprejové sušení ternárního a binárního komplexu s meloxicamem. Ternární komplex byl tvořen meloxicamem s hydroxypropyl- β -cyklodextrinem (HP β CD) a k nim se jako hydrofilní polymer přidal 0,1% polyvinylpyrrolidon (PVP) nebo 0,1% bazická aminokyselina L-arginin. Cyklodextriny zlepšují rozpustnost špatně rozpustných léčiv, ale jejich používání je omezeno vysokou molekulovou hmotností a také vysokými náklady, proto se v této studii využily komplexy s dalšími látkami. Binární komplex byl tvořen meloxicamem a HP β CD. Vytvořené komplexy byly dispergované ve 400 ml vody a sprejově sušeny při 120 °C. Ternární komplex s L-argininem byl následně lisován do tablet. Bylo k němu přidáno 5 % kroskarmelosy, 1 % stearanu hořečnatého

a 10 % sprejově sušené laktózy. Stejným způsobem byla pro porovnání vytvořena i tableta s meloxicamem. Disoluce probíhala ve fosfátovém pufru pH 7,4 při 37 °C. Lepší rozpustnost vykazoval ternární komplex. Přítomnost PVP a L-argininu měla vliv na zvýšení rozpustnosti. Směs s L-argininem měla rychlejší uvolňování léčiva a díky tomu by pacientovi mohla přinést dobré výsledky v rychlém ulevení od bolesti.

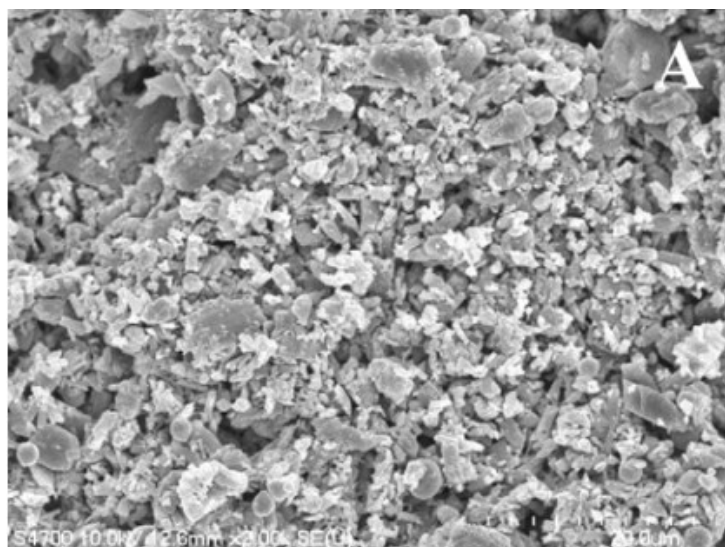
Cílem práce Ambrus a kol. [41] bylo prozkoumat možnost přípravy nanosuspenze meloxicamu za účelem dosažení jeho rychlého rozpuštění. Nanosuspenze je submikronová koloidní disperze pevných částic léčiva v kapalně fázi. Nanosuspenze mohou zvýšit amorfní frakci v částicích nebo dokonce vytvořit zcela amorfní částice. U meloxicamu je pro rychlý nástup účinku léčiva důležité rychlé rozpouštění. Nanosuspenze zde byla připravena metodou emulze-difúze za použití organického rozpouštědla ethylacetátu nebo benzylalkoholu, ve kterých je meloxicam dobře rozpustný za použití vysokotlaké homogenizace nebo sonikace. První vzorek byl vytvořen rozpuštěním meloxicamu v ethylacetátu a následně byl nalit do roztoku Tween 80. Následovala vysokotlaká homogenizace, zředění vodou a ihned byla v nanosuspenzi rozpuštěna trehalóza a vzorek byl sprejově sušen při teplotě 160 °C. Také byl vytvořen vzorek, kde byla místo sprejového sušení použita lyofilizace. Při zkoušce disoluce nanosuspenzí meloxicamu s fosfátovým pufrům pH 7,4 bylo zjištěno, že už v prvních 10 minutách se téměř 100 % léčiva rozpustilo. Zvýšená rychlost rozpouštění nanosuspenze je způsobena zmenšením částic a ve srovnání s nesušeným meloxicamem byla rychlost rozpouštění daleko větší.

Cílem práce Pomázi a kol. [4] bylo dosáhnout ideální velikosti krystalů, dobrého smáčení a rychlého uvolnění meloxicamu. Pro zvýšení rychlosti uvolňování léčiva se využívá zmenšení částic, použití nosičů léčiv, příprava nanokrystalických nebo amorfních forem účinné látky. K zajištění dobré distribuce účinné látky se používají různé nosiče, např. mikrokrytalická celulóza, mannitol, trehalóza, cyklodextrin. Pro tuto studii byl zvolen mannitol, jenž disponuje vysokou rozpustností ve vodě a stabilitou. Mikrosuspenze, která byla následně sprejově sušena, byla složena z meloxicamu, mannitolu, polysorbátu 80 a polyvinylpyrrolidonu K-25. Samotný meloxicam a mannitol byly připraveny jako kontrolní vzorky. Sprejové sušení

polymerního roztoku obsahující rozpuštěné léčivo vedlo k tvorbě mikrosfér, ve kterých může být léčivo rozptýleno jako mikrokrystal. V této studii vedlo sprejové sušení ke vzniku krystalických mikrokompozitů mannitolu, které obsahují meloxicamové mikrokrystaly. Přítomnost mannitolu s přísadami umožnila rychlé uvolňování meloxicamu. Sprejové sušení je vhodné pro zajištění jednotné velikosti částic a zabránění jejich agregace.



Obrázek 7: SEM sprejově sušeného meloxicamu [4]



Obrázek 8: SEM sprejově sušené mikrosuspense mannitolu a meloxicamu [4]

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Použité suroviny

- Meloxicam – poskytnutý společností Zentiva, č. šarže není k dispozici, Zentiva, Česká republika
- Chitosan – č. šarže JB-CH190301, JBiChem, Čína
- Laurylsíran sodný – č. šarže 0013370720, Dr. Kulich Pharma, s. r. o.
- Čištěná voda
- Methanol – č. šarže 2010-2505, Lab-Scan analytical science
- Tobolky želatinové velikost 0
- Fosforečnanový pufr o pH 6,8

Příprava: Dihydrogenfosforečnan draselný (KH_2PO_4 , Dr. Kulich Pharma, s.r.o.) 6,8 g byl rozpuštěn ve 250 ml vody a doplněn do 1000 ml

6.2 Použité přístroje

- Sprejová sušárna Büchi Mini Spray Dryer B-290 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Švýcarsko)
- Magnetická míchačka Lavat MM4 (LAVAT a.s., Česká republika)
- Analytické váhy A&D HR-120 EC (A&D Company, Limited, Japonsko)
- Mikroskop Olympus BX 51, PC s programem analySIS auto 5,1 (Olympus Soft Imaging Solutions GmbH)
- Laboratorní síta 0,16 mm, 0,08 mm (STAST, Československo)
- Strojek pro plnění tobolek (HEROS, Česká republika)
- Lis T1-FRO 50 Zwick/Roell (Zwick GmbH & Co., Německo)
- Filtr ze skleněných mikrovláken GF/D, 25mm (GE Healthcare, USA)
- Sinker 8/23 AT 7
- Mísicí zařízení Turbula T2F (WAB-GROUP, Německo)
- Disoluční systém Sotax AT7 Smart, Autosampler Sotax CH-4123 (Sotax AG, Švýcarsko)

- UV/VIS Spektrofotometr Analytik Jena Specord 205 (Analytik Jena, Německo)
- Váhy CAHN 26 (Cahn instruments Inc, USA)
- Hliníkové kelímky Netzsch 100 DSC (Netzsch-Geratebau GmH, Selb, Německo)
- Ruční lis pro víčkování hliníkových kelímků (Netzsch-Geratebau GmH, Selb, Německo)
- DSC 200 F3 Netzsch Maia (Netzsch-Geratebau GmH, Selb, Německo)
- Ultrazvuková čisticí lázeň Witeg WUC-A01H
- Skenovací elektronový mikroskop Phenom Pro (Phenom-World B. V., Nizozemsko)

6.3 Metody přípravy

6.3.1 Sprejové sušení

Pro sprejové sušení byl nejprve připraven roztok 6 g laurylsíranu sodného a 20, 30, 40, 50 mg meloxicamu ve 200 ml vody. Jednotlivé vzorky se připravovaly o den dříve a nechaly se míchat na magnetické míchačce. Před sušením se do kádinky s roztokem přidalo 10 g chitosanu. Složení jednotlivých vzorků je uvedeno v Tabulce 1. Sprejová sušárna se nastavila na požadované parametry (Tabulka 2) a spustilo se nahřívání sprejové sušárny. Po nahřátí se spustila pumpa a došlo k nasátí suspenze. Při sušení byla kádinka položena na magnetické míchačce, aby nedocházelo k usazování chitosanu. Suspenze se začala tryskou rozptylovat do sušicí komory. Během sušení se výsledný produkt zachytával do sběrné nádoby.

Tabulka 1: Složení vzorků pro sušení

Označení vzorku	Množství meloxicamu (mg)	Množství laurylsíranu sodného (g)	Množství chitosanu (g)
M20	20	6	10
M30	30	6	10
M40	40	6	10
M50	50	6	10

Tabulka 2: Parametry sušení

Parametry procesu	Experimentální podmínky
Průměr trysky	1,4 mm
Průtok vzduchu	30 mm ~ 439,11 L/h
Účinnost aspirátoru	100 %
Vstupní teplota	170–210 °C
Výstupní teplota	83–130 °C
Výkon pumpy	5 %
Frekvence čištění trysek	5

6.3.2 Optická mikroskopie

Po sprejovém sušení jednotlivých vzorků se malé množství produktu odebralo a přes laboratorní síto 0,08 mm (omezení vzniku shluků) byl produkt nanesen na podložní sklíčko. Podložní sklíčko se vzorkem se položilo na posuvný stůl mikroskopu Olympus BX 51. Počítačovým programem AnalySIS auto 5,1 byly jednotlivé částice pozorovány a následně vytvořeny jejich snímky. Parametry pro mikroskopické měření jsou uvedeny v Tabulce 3.

Tabulka 3: Parametry optického mikroskopu

Zvětšení	10×
Rozlišení kamery	1360×1024 px
Rozlišení fotoaparátu	1360×1024 px
Velikost jednoho pixelu	0,2164 μm

6.3.3 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

Pro zachycení skutečného tvaru částic vzorku byla použita SEM s elektronovým mikroskopem Phenom Pro s detektorem zpětně odražených elektronů s nastavením v Tabulce 4. Pro zobrazení povrchu částic se využívá právě tok elektronů, který je od povrchu odrážen a tím dochází k jeho zobrazení. Vzorek se uchytil na hliníkový terčík pomocí oboustranné uhlíkové lepicí pásky. Následně se pro předejití deformace vzorku zvýšila povrchová vodivost přidáním 10 nm vrstvy zlata, aby se odvedl přebytečný náboj. Pořízení snímků proběhlo na Povodí Labe v Hradci Králové za pomoci Mgr. Terezy Vařilové.

Tabulka 4: Parametry skenovacího elektronového mikroskopu

Zvětšení	500× a 2000×
Urychlovač napětí	5 kV

6.3.4 Diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC)

Před zahájením měření DSC bylo potřeba přenést sprejově sušený produkt do hliníkového kelímku. Práce s hliníkovým kelímkem probíhala pomocí pinzety. Nejprve se zvažil hliníkový kelímek i s víčkem a poté do něho bylo naváženo 5–10 mg vzorku. Do víčka se udělal malý otvor a opět byl celý hliníkový kelímek i s víčkem a vzorkem zvážen. Pokud rozdíl mezi hmotností kelímku se vzorkem a hmotností samotného kelímku odpovídal požadované hmotnosti, mohl být vzorek pevně uzavřen pomocí ručního lisu. Následně byl vzorek vložen do DSC přístroje. Referenčním vzorkem byl prázdný kelímek. Po nastavení potřebných parametrů (Tabulka 5) a vložení našeho vzorku a referenčního vzorku bylo spuštěno měření.

Tabulka 5: Parametry teplotního programu DSC

Použitý teplotní program	Fáze programu	Teplota	Rychlost teplotních změn
	Start	20 °C	-
	Chlazení	-20 °C	10 °C/min
	Izoterma	-20 °C	5 min
	Ohřev	280 °C	4 °C/min
	Chlazení	-20 °C	10 °C/min
	Izoterma	-20 °C	2 min
	Ohřev	280 °C	4 °C/min

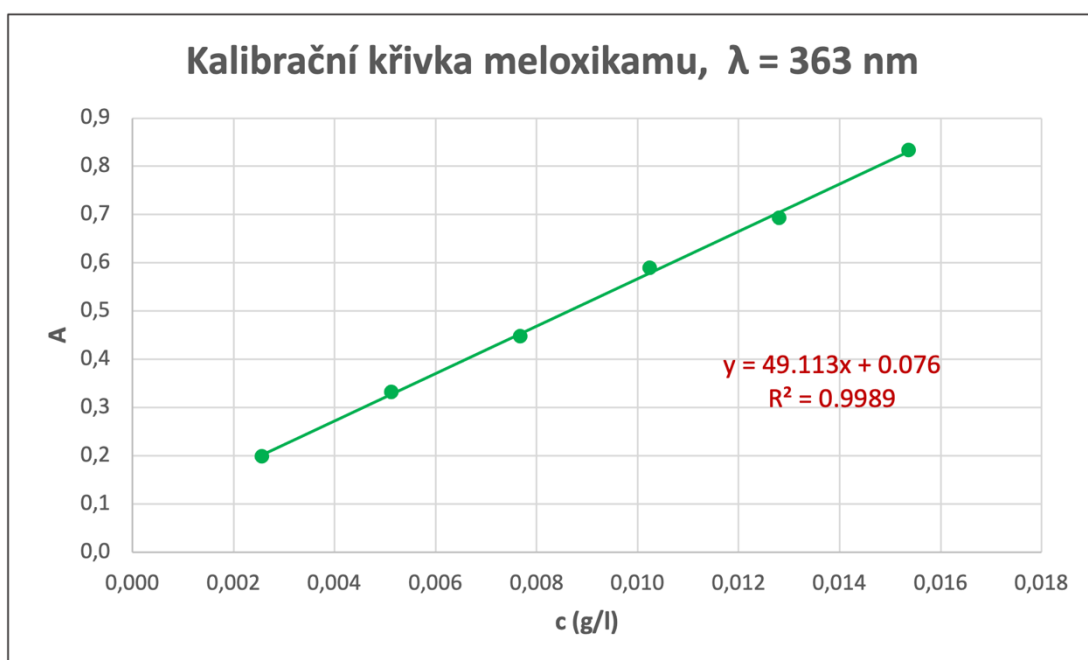
Do programu DSC 200 byly zadány údaje, jako je hmotnost vzorku, hmotnost prázdného kelímku, hmotnost referenčního vzorku, měření s korekcí nebo bez korekce, teplotní program a název vzorku. Podle nastavení parametrů teplotního programu docházelo ke změnám vzorku, které byly zaznamenávány do termogramu. Na termogramu byly jednotlivé teplotní změny zobrazeny jako píky, které jsou charakterizovány plochou a teplotami. Měření sprejově sušených vzorků proběhlo dvakrát a se dvěma ohřevy. Poprvé proběhlo měření ihned po usušení vzorků (M1) a podruhé se měřily po 6 měsících (M2). Měření se provedlo i u samotných látek meloxicamu, chitosanu a laurylsíranu sodného. Po ukončení měření byl v počítačovém programu vyhodnocen termogram pro každý vzorek.

6.3.5 Disoluce a spektrofotometrie

Před zahájením disoluce a spektrofotometrie byly nejprve vylisovány tablety o hmotnosti 500 mg lisovací silou 4 kN. Pro porovnání uvolněného léčiva z nesusené směsi byly připraveny také 500mg tablety ze směsi obsahujících vždy 10 g chitosanu a 20, 30, 40 nebo 50 mg meloxicamu. Směsi byly nejdříve míseny po dobu 5 minut rychlostí 34 ot./min. na Turbule a poté z nich byly vylisovány tablety. Od každého z těchto vzorků byly vytvořeny 3 tablety. Připravovaly se i tři 100mg želatinové tobolky samotného meloxicamu. Želatinová tobolka byla plněna meloxicamem do tobolek o velikosti 0 pomocí strojku pro plnění tobolek.

Pro zkoušku disoluce byl použit přístroj s pádly a uzavřeným systémem s automatickým odběrem vzorků a následným doplněním disolučního média. Nádoby disolučního systému byly naplněny 500 ml fosforečnanového pufru a teplota systému byla nastavena na 37 °C. Pro doplnění objemu disolučního média, který byl odebrán při odběru vzorku, sloužila kádinka s pufrům uložená vedle přístroje. Až po nahlátí přístroje byly tablety umístěné v sinkerech vloženy do disolučního média. Odběr 12 vzorků probíhal pomocí autosampleru a každých 10 minut bylo odebráno 5 ml vzorku. Celkový čas disoluční zkoušky byl 2 hodiny. Jednotlivé vzorky byly převedeny do kyvet a vloženy do spektrofotometru, kde byla nastavena vlnová délka 363 nm. Hodnoty absorbance byly následně použity pro výpočet koncentrace pomocí kalibrační křivky (Obrázek 9). Po výpočtu koncentrace byly následně doplněny další hodnoty týkající se uvolnění léčiva (Tabulka 6).

Pro zjištění množství léčiva v připravených vzorcích bylo 100 mg sušeného vzorku převedeno do 10 ml methanolu. Vzniklá suspenze byla umístěna na 15 minut do ultrazvukové lázně. Následně byla suspenze zfiltrovaná a bylo odebráno 200 μ l vzorku léčiva a zředěno 1,8 ml pufru. Znovu se naměřila absorbance a z ní byla vypočtena koncentrace.



Obrázek 9: Kalibrační křivka meloxicamu

Tabulka 6: Vzorce pro výpočet veličin z disoluce

Symbol	Jednotka	Název	Vzorec
c	mg/ml	Koncentrace	$c = \frac{(A - 0,076)}{49,113}$
m_{vessel}	mg	Množství vzorku uvolněného léčiva v nádobě	$m_{vessel} = c \cdot V$
m_{sample}	mg	Množství léčiva ve vzorku	$m_{sample} = c \cdot V_{sample}$
$m_{c.sam.}$	mg	Kumulované množství léčiva odebrané ve vzorcích	$m_{c.sam.} = \sum m_{sample}$
m_{corr}	mg	Korigované množství uvolněného léčiva	$m_{corr} = m_{vessel} + \sum m_{sample}$
m_{rel}	%	Množství uvolněného léčiva vzhledem k deklarované dávce	$m_{rel} = \frac{m_{corr}}{deklar. dávka} \cdot 100$

7 DISKUZE A VÝSLEDKY

V této diplomové práci byla sprejově sušena suspenze chitosanu s 20, 30, 40 nebo 50 mg meloxicamu rozpuštěného společně s laurylsíranem sodným. Sprejové sušení probíhalo ve sprejové sušárně Büchi Mini Spray Dryer B-290 při teplotách 170 °C, 190 °C a 210 °C, kdy vznikly vysušené práškové částice, které byly následně zkoumány a hodnoceny.

Metodou optické mikroskopie a skenovací elektronové mikroskopie byl hodnocen především vzhled a tvar částic, který můžeme ovlivnit pomocí nastavených parametrů při sušení nebo změnou koncentrací rozpuštěného léčiva.

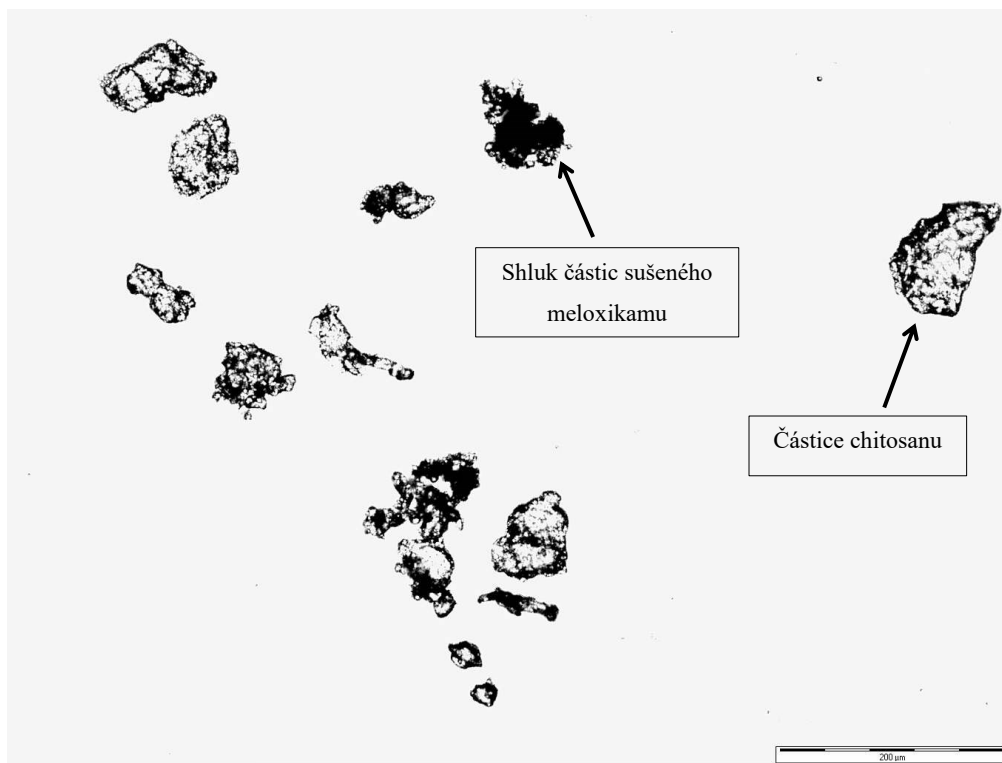
Tepelné vlastnosti částic byly hodnoceny pomocí diferenciální skenovací kalorimetrie, kdy výsledkem byla kalorimetrická křivka, ve které se mohla porovnat plocha a výška jednotlivých píků. Z vysušených i nesušených vzorků byly vytvořeny 500mg tablety, u samotného meloxicamu to byly 100mg tobolky, u kterých byla hodnocena rychlost a množství uvolněného léčiva pomocí disoluce a následné spektrofotometrie.

7.1 Hodnocení vzhledu částic

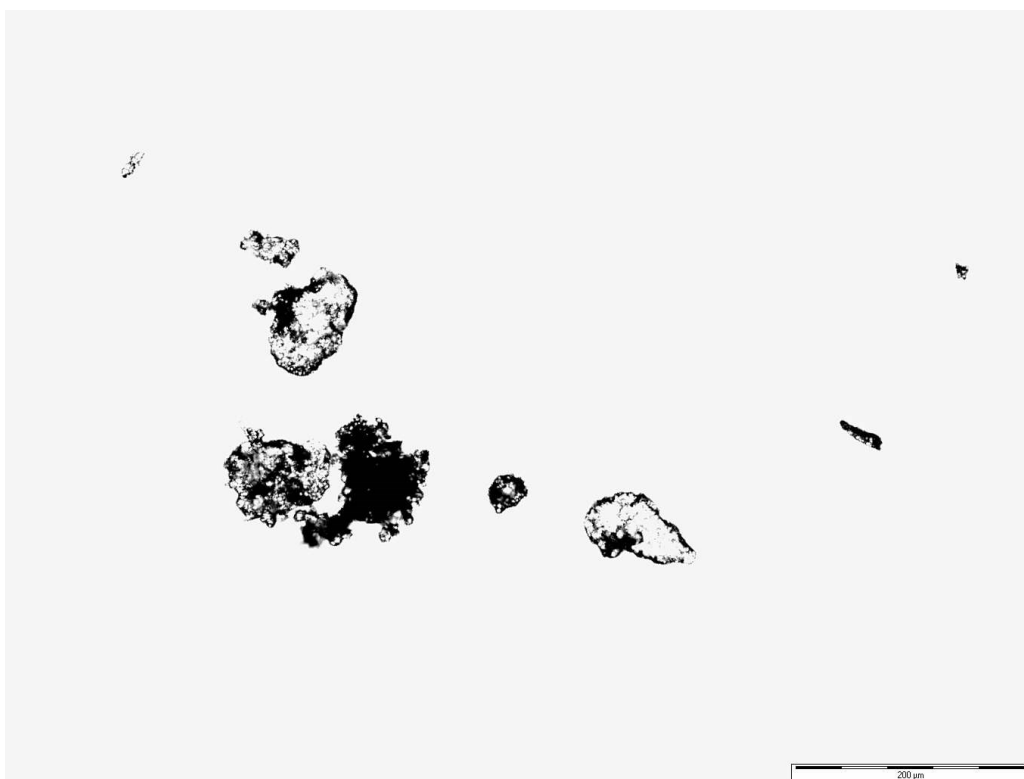
Optická mikroskopie a skenovací elektronová mikroskopie byla použita pro hodnocení vzhledu sušených částic vzorků a samostatného chitosanu a meloxicamu. Sledoval se vliv různých vstupních teplot 170 °C, 190 °C a 210 °C a změny koncentrací připravených suspenzí. Snímky sprejově sušených vzorků jsou znázorněny na obrázcích 10–21 a 26–27, meloxicam na obrázcích 23 a 24 a chitosan na obrázcích 22 a 25. Na snímcích z optického mikroskopu můžeme pozorovat především nepravidelný tvar částic. Po vyhodnocení je patrné, že částice sprejově sušených vzorků tvoří shluky z jednotlivých primárních částic. Kromě shluků jsou zde patrné částice samotného chitosanu, které i po sprejovém sušení zůstaly ve formě původních destiček (např. Obrázek 10 a 22). Na některých obrázcích jsou viditelné malé částice sušeného meloxicamu na povrchu větších částic chitosanu (např. Obrázek 12, 13). Při porovnání jednotlivých vzorků nejsou ale patrné žádné výrazné rozdíly a na vzhled částic nemá teplota sušení ani změna koncentrace zásadní vliv.

Na obrázcích 26 a 27 jsou znázorněny snímky vzorku M20 sušeného při 210 °C, který byl vybrán jako příklad pro SEM. Je vidět, že některé vzniklé částice jsou duté a jejich tvar je nepravidelný. Toto může být způsobeno tím, že během sprejového sušení vznikala díky tenzidu pěna, která po vysušení vytvořila duté částice. Nepravidelnost tvaru pak může být způsobena hlavně částicemi chitosanu, které mají tvar destiček (Obrázek 25) a při jejich spojení nedochází k tvorbě sférických částic. Oproti tomu byly částice ve studii Pomázi a kol. [4] a El-Badry [37] více sférické. Stejně tak ale byla v této práci část připravených částic dutá nebo pórovitá.

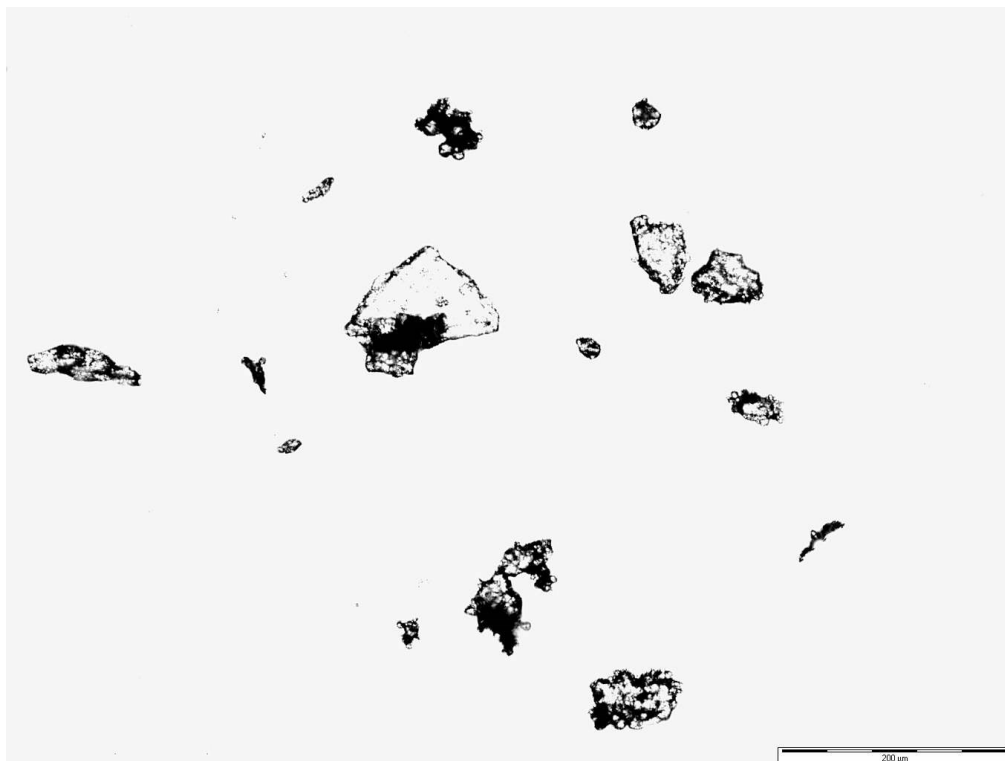
V této práci se nehodnotila velikost částic, ale právě zde by se mohly projevit rozdíly mezi jednotlivými vzorky, protože Pomázi a kol. [4] hodnotili vliv sprejového sušení na velikost částic meloxicamu, které byly výrazně zmenšené oproti surovému meloxicamu. I na SEM snímcích bylo zjištěno, že samotné krystaly meloxicamu mají hranolovitý tvar a sprejové sušení vedlo pouze ke změně velikosti oproti surovému meloxicamu. Na Obrázku 24 jsou u samotného meloxicamu patrné hranolovitě vypadající částice nahromaděné ve shlucích, zatímco u sprejově sušeného vzorku jsou částice více sférické a došlo tak i k částečné změně vzhledu těchto částic.



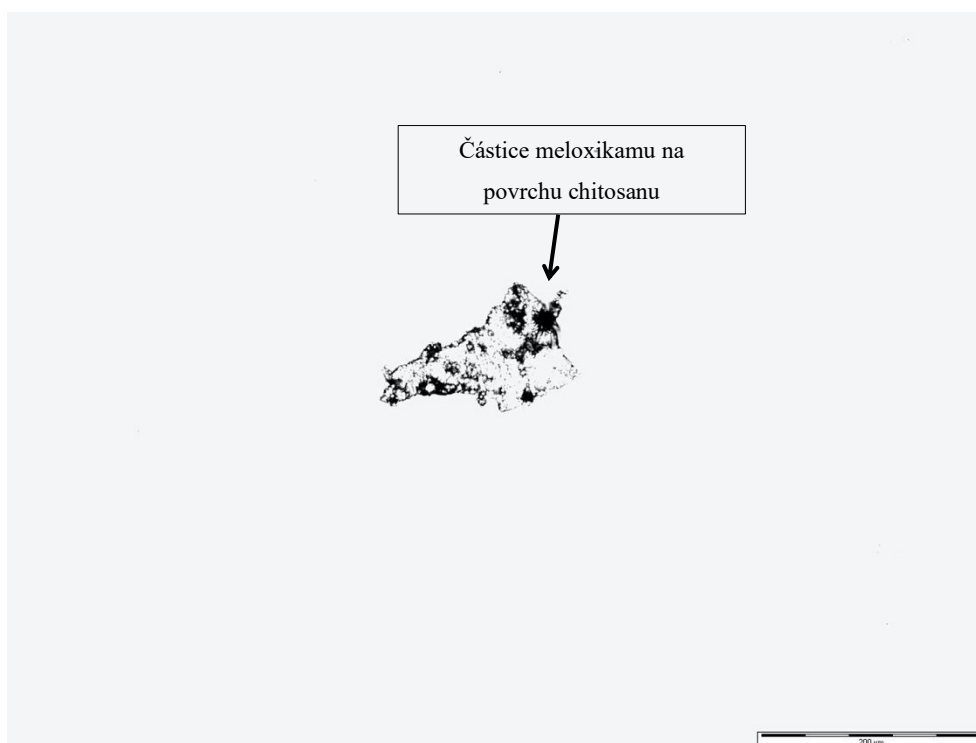
Obrázek 10: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 20 mg meloxicamu při vstupní teplotě 210 °C



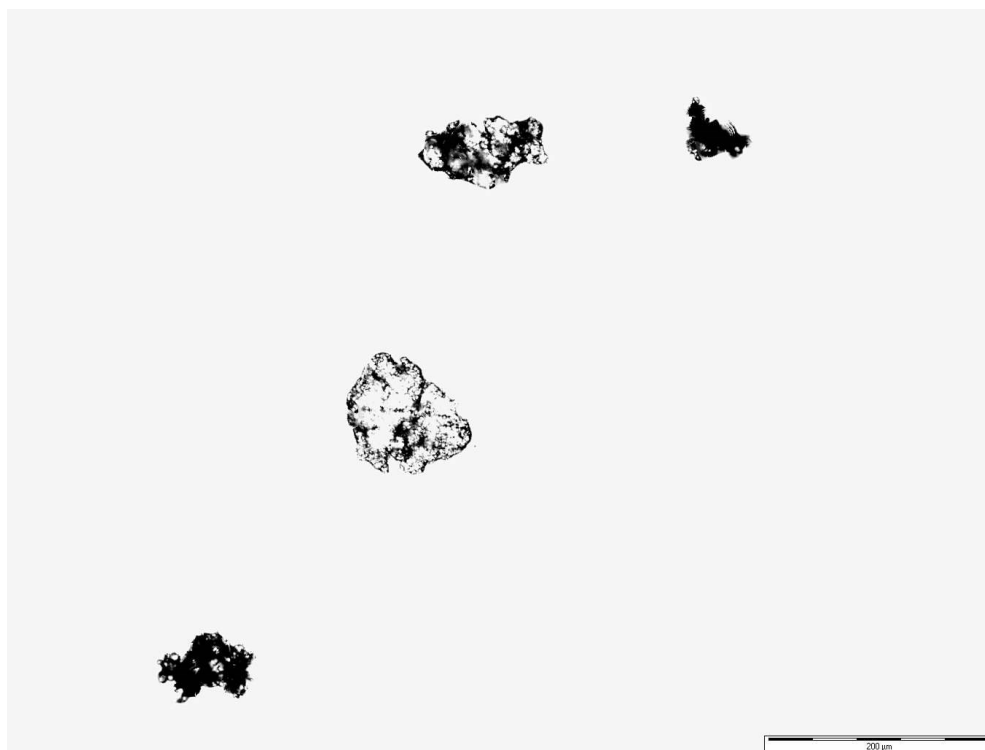
Obrázek 11: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 20 mg meloxicamu při vstupní teplotě 190 °C



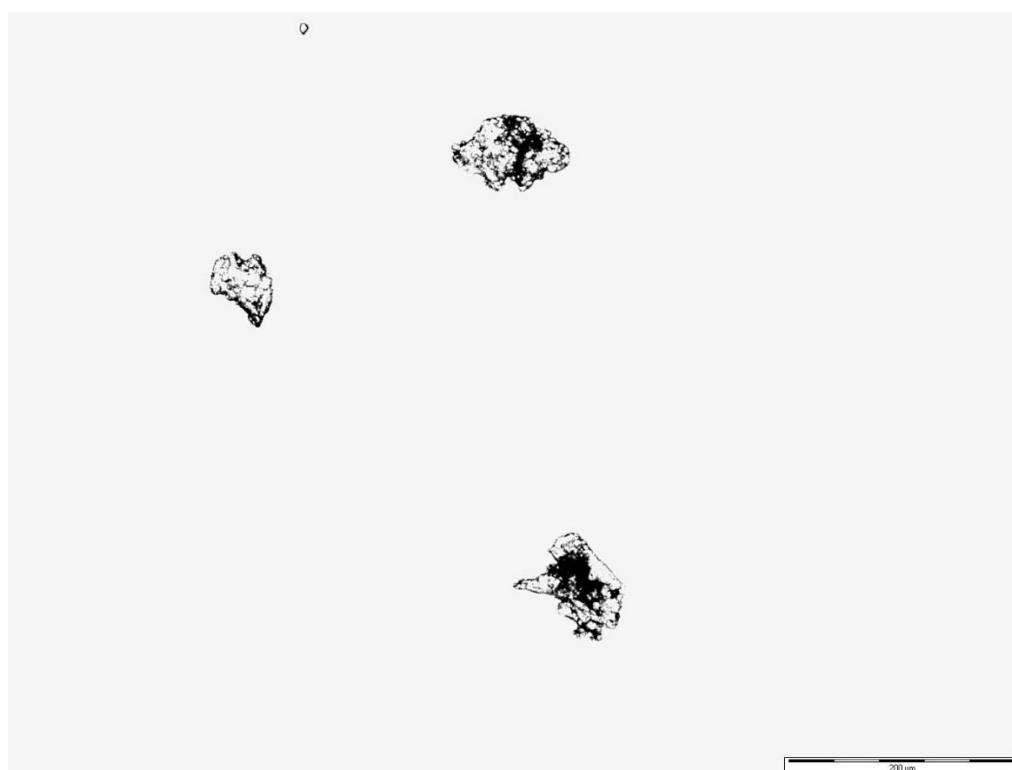
Obrázek 12: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 20 mg meloxicamu při vstupní teplotě 170 °C



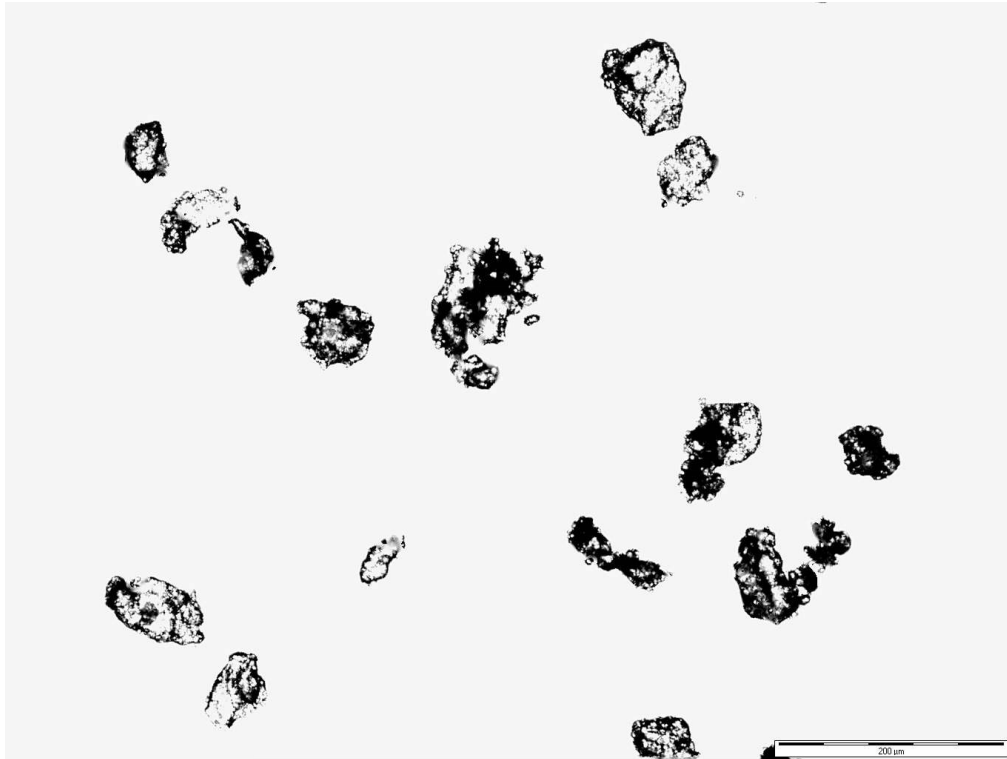
Obrázek 13: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 30 mg meloxicamu při vstupní teplotě 210 °C



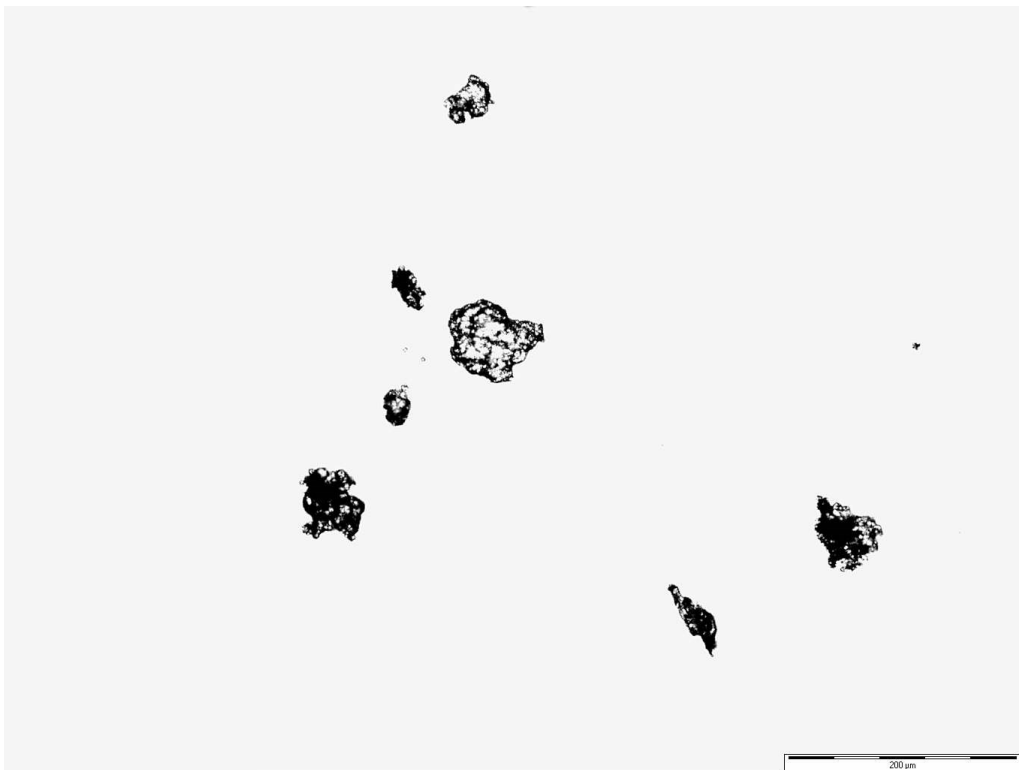
Obrázek 14: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 30 mg meloxicamu při vstupní teplotě 190 °C



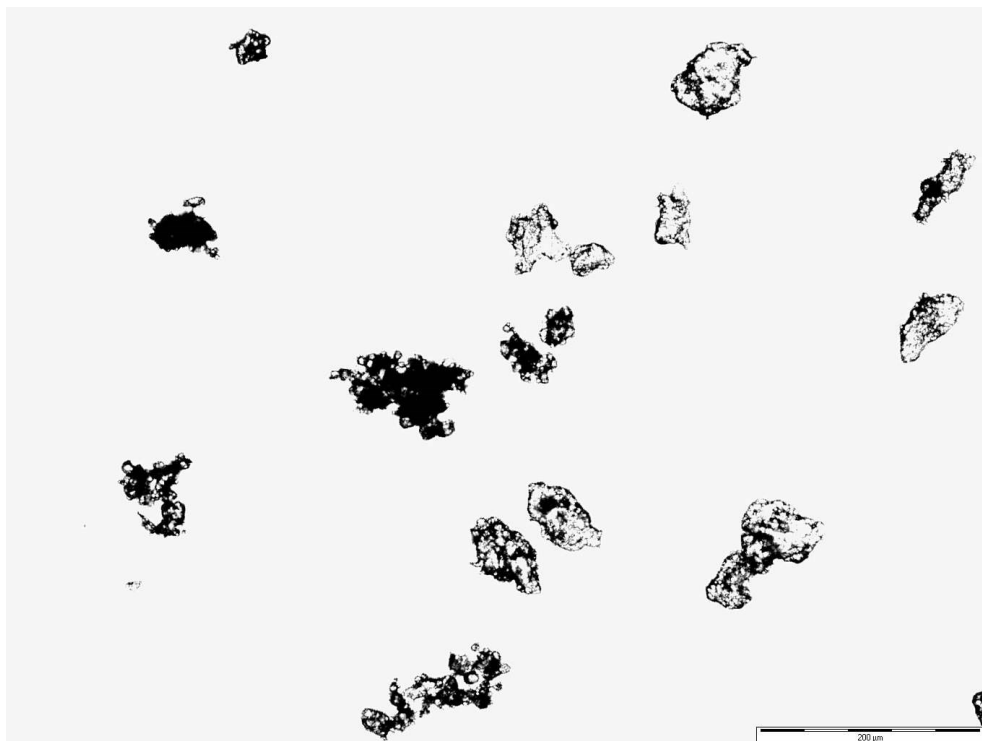
Obrázek 15: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 30 mg meloxicamu při vstupní teplotě 170 °C



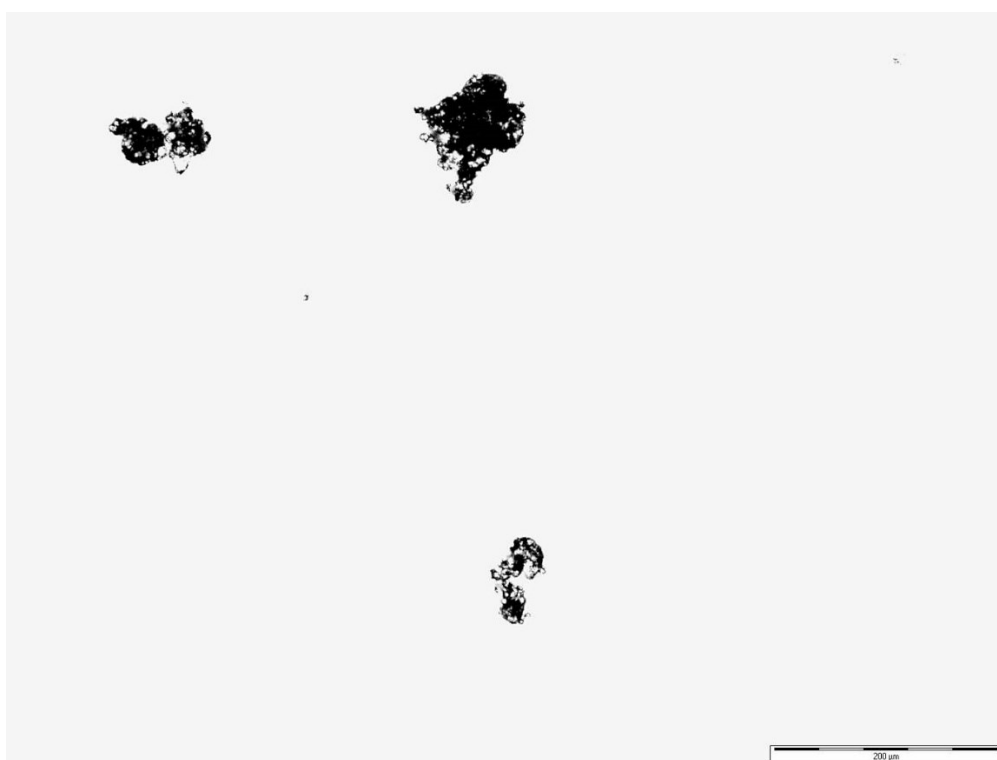
Obrázek 16: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 40 mg meloxicamu při vstupní teplotě 210 °C



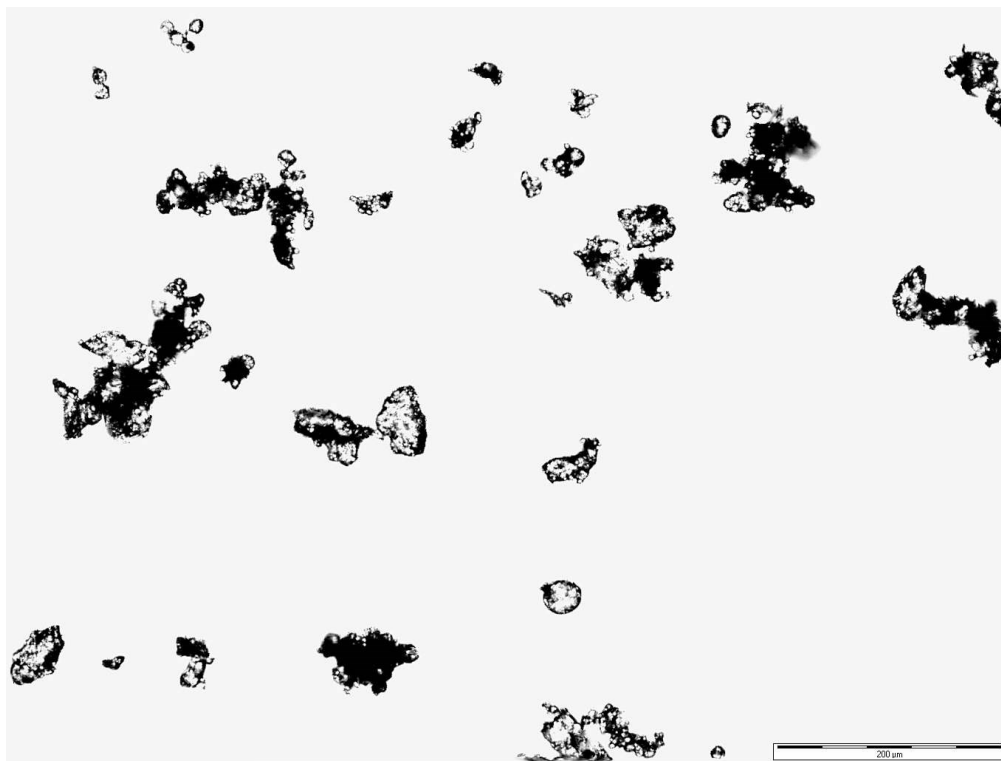
Obrázek 17: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 40 mg meloxicamu při vstupní teplotě 190 °C



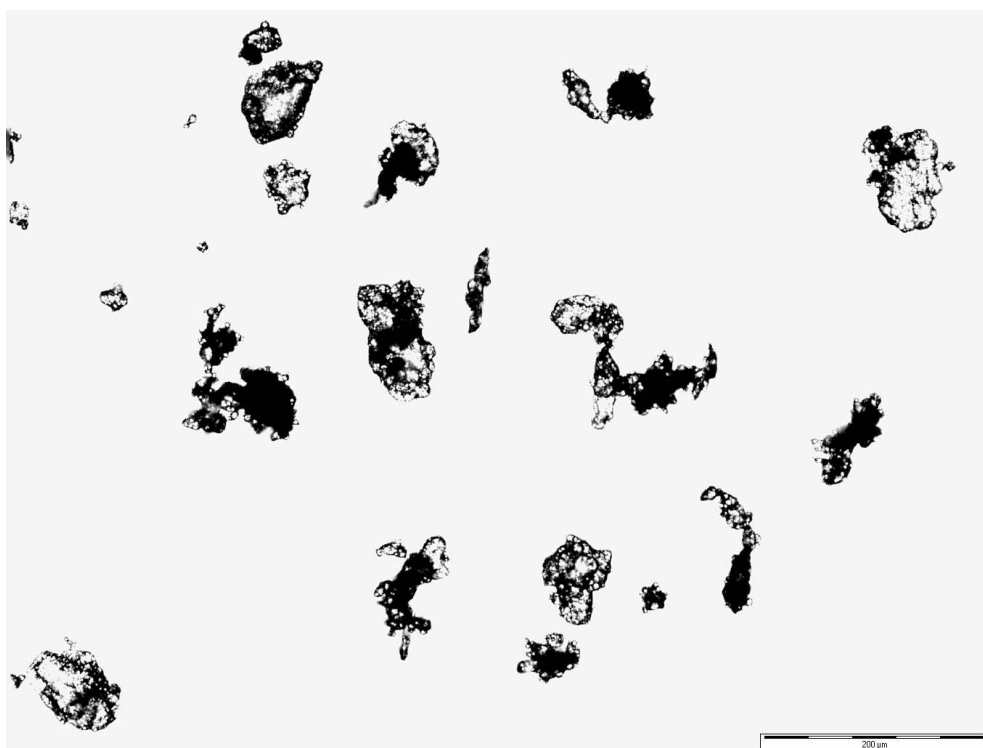
Obrázek 18: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 40 mg meloxicamu při vstupní teplotě 170 °C



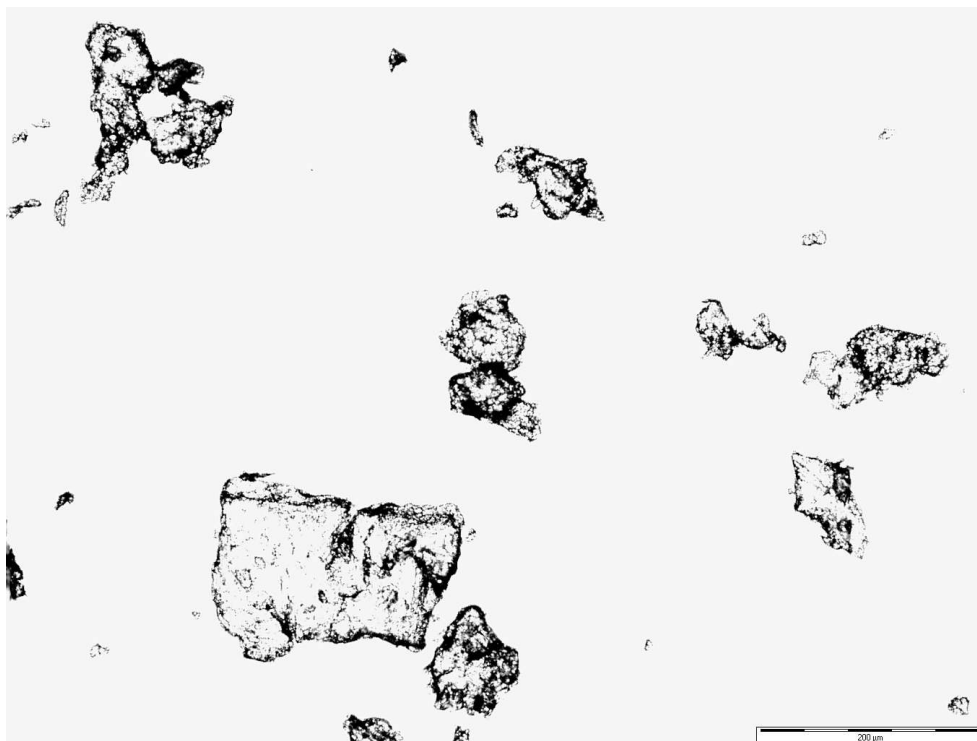
Obrázek 19: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 50 mg meloxicamu při vstupní teplotě 210 °C



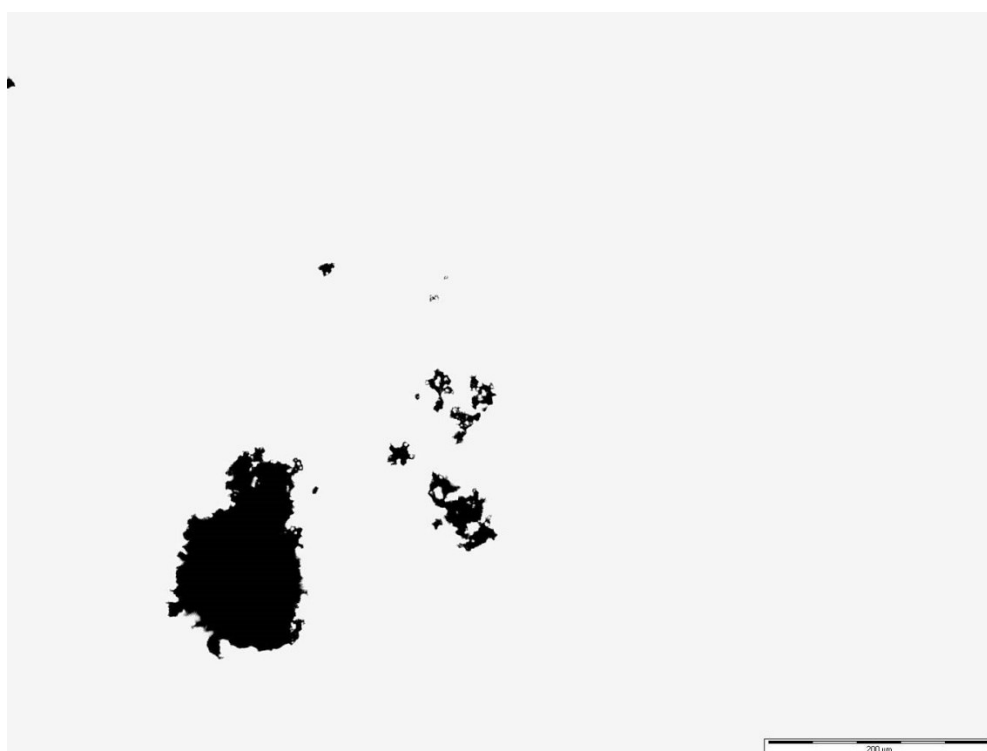
Obrázek 20: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 50 mg meloxicamu při vstupní teplotě 190 °C



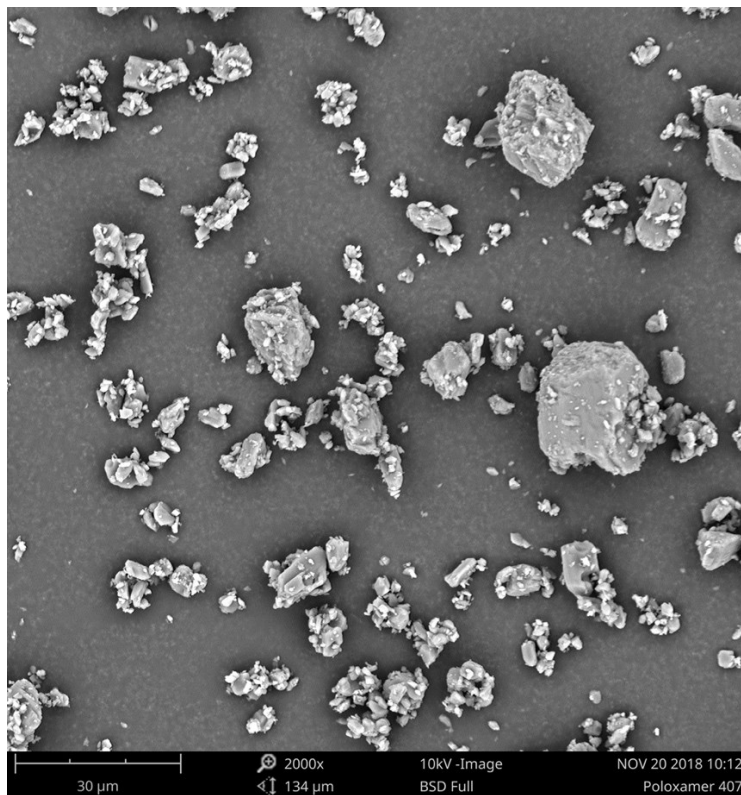
Obrázek 21: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu s 50 mg meloxicamu při vstupní teplotě 170 °C



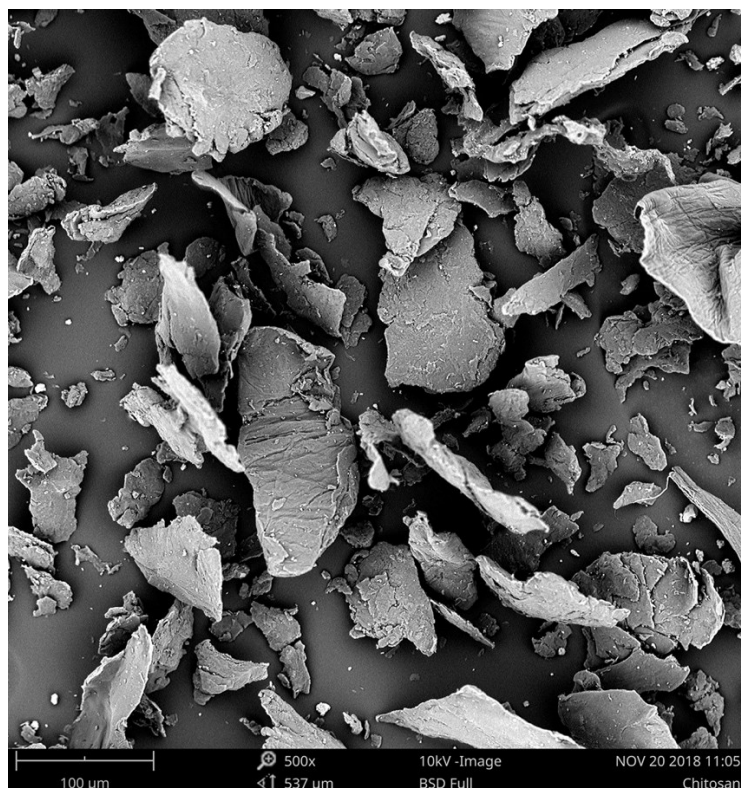
Obrázek 22: Mikročástice chitosanu



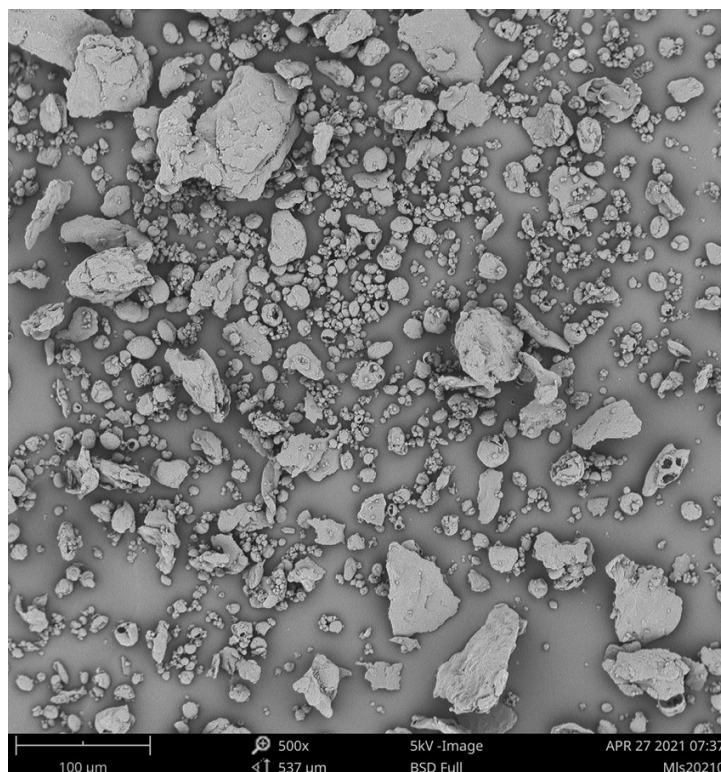
Obrázek 23: Mikročástice meloxicamu



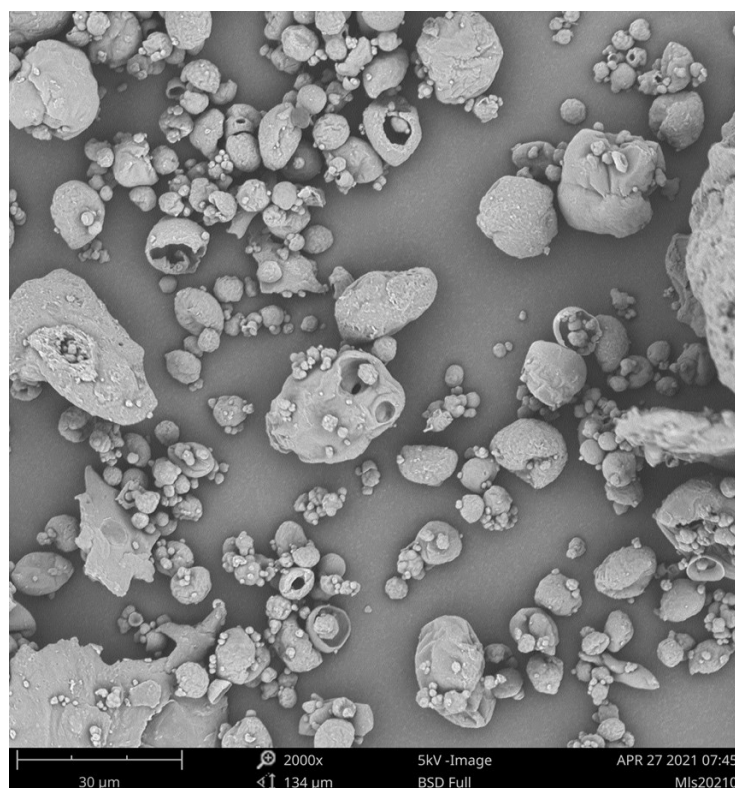
Obrázek 24: SEM snímek meloxicamu, zvětšení 2000×



Obrázek 25: SEM snímek chitosanu, zvětšení 500×



Obrázek 26: SEM snímek sprejově sušené suspenze chitosanu s 20 mg meloxicamu při vstupní teplotě 210 °C, zvětšení 500×



Obrázek 27: SEM snímek sprejově sušené suspenze chitosanu s 20 mg meloxicamu při vstupní teplotě 210 °C, zvětšení 2000×

7.2 Hodnocení rychlosti a množství uvolněného léčiva

Pro porovnání teoretického a reálného množství léčiva ve vzorcích byl vzorek rozpuštěn v methanolu, přefiltrován a následně spektrofotometricky změřen. Výsledné hodnoty (Tabulka 7) se porovnály a vypočítala se procentuální ztráta léčiva. Nejnižší ztráta byla u vzorku M40 sušeného při 210 °C, kdy ztráta léčiva byla pouhých 0,56 %. Podobně nízké ztráty byly u vzorků M30 210 °C a M40 170 °C. Naopak u některých vzorků (např. M20 190 °C a M30 170 °C) byly ztráty velké. Nejvyšší ztráta množství léčiva byla u vzorku M20 190 °C, kdy teoretické množství léčiva bylo 0,6242 mg a změřené množství bylo 0,2251 mg. Tyto vyšší ztráty mohou souviset s problémy během sušení, kdy u těchto vzorků docházelo k většímu zachytávání částic na stěnách sušicí komory. Dalším důvodem mohlo být neúplné rozpuštění léčiva při stanovování jeho koncentrace ve vzorku.

Pro hodnocení rychlosti a množství uvolněného léčiva byla použita hodnota reálné koncentrace léčiva. Z celkového hlediska byla rychlost uvolňování léčiva pro sprejově sušené vzorky vyšší než u samotného meloxikamu a nesušených směsí. U nesušené směsi (Obrázek 32) docházelo k pomalému uvolňování léčiva a i po skončení disoluce nedošlo k úplnému rozpuštění tablety, ale v sinkrech zůstal nabobtnalý zbytek chitosanu. Výjimkou v tomto porovnání je směs s obsahem 40 mg meloxikamu, kde se na začátku (během 20 minut) měření uvolnilo více léčiva než u sprejově sušených směsí, ale další průběh disolučního profilu je pozvolný (Obrázek 30). U samotného meloxikamu byla rychlost uvolnění velmi nízká, protože po 30 minutách se uvolnilo pouze 8 % a po 120 minutách přibližně 20 %. Pokud porovnáme fyzikální směs se samotným meloxikamem, došlo už při prostém smísení léčiva a chitosanu ke zvýšení uvolňování. Nejvýraznější je tento efekt u směsí se 40 mg. Velmi rychlé uvolnění léčiva na počátku zkoušky bylo zaznamenáno u vzorku M20 sušeného při 170 °C (Obrázek 28), kde bylo uvolněno 100 % léčiva po 35 minutách a M30 170 °C (Obrázek 29), u kterého proběhlo uvolnění ještě rychleji. Rychlejší rozpouštění sprejově sušeného meloxikamu bylo potvrzeno také ve studii El-Badry [37] Meloxikam zde vykazoval také vyšší protizánětlivou aktivitu oproti fyzikální směsi.

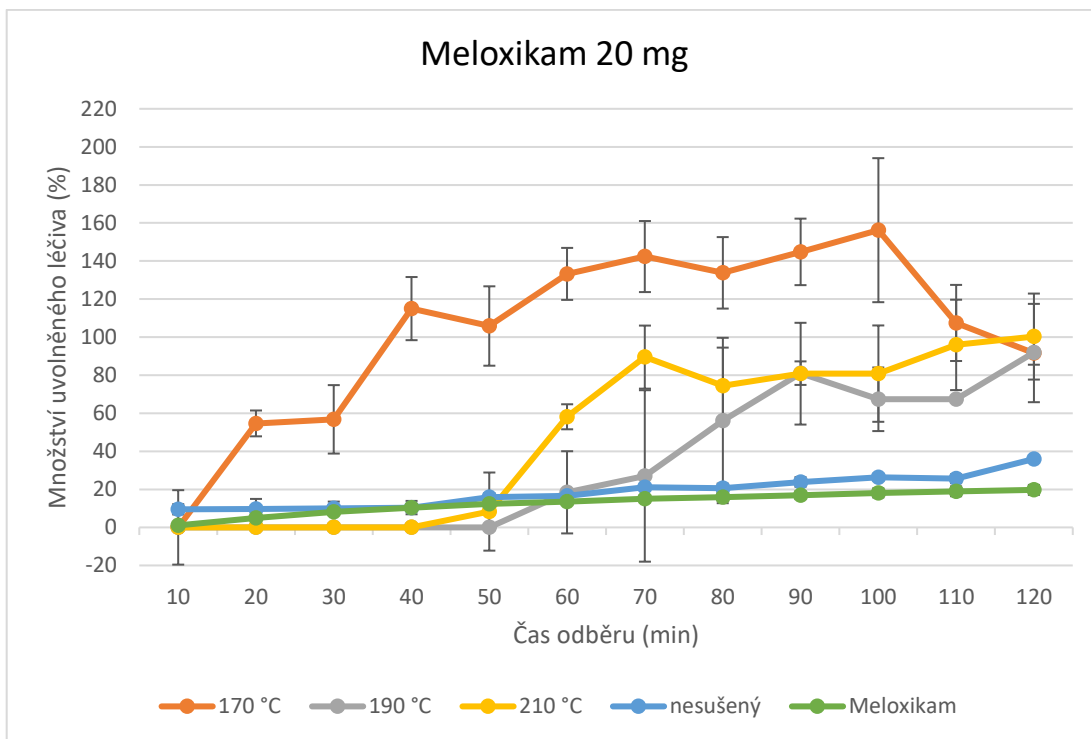
Obecně lze říci, že k nejrychlejšímu uvolnění léčiva docházelo u směsí sušených při 170 °C nezávisle na koncentraci meloxicamu. U teplot 190 °C a 210 °C bylo uvolnění pomalejší a více závislé na obsahu léčiva. U směsí s 20 a 40 mg se v kratší době uvolnilo více léčiva ze směsí sušených při 210 °C, u směsí s 30 mg to bylo naopak více ze směsí sušených při 190 °C.

Protože u většiny vzorků dochází k rychlému uvolnění léčiva v počátečních 30–40 minutách, bylo by pro další hodnocení vhodnější zkrátit intervaly odběru vzorků a tím lépe postihnout začátek uvolňování a celkový čas disoluce by se mohl zkrátit. Nízké nebo nulové hodnoty v počátečních časech disoluční zkoušky u směsí s 20 mg meloxicamu jsou pravděpodobně způsobeny nízkým obsahem léčiva, který byl na hraně detekovatelnosti spektrofotometrického měření.

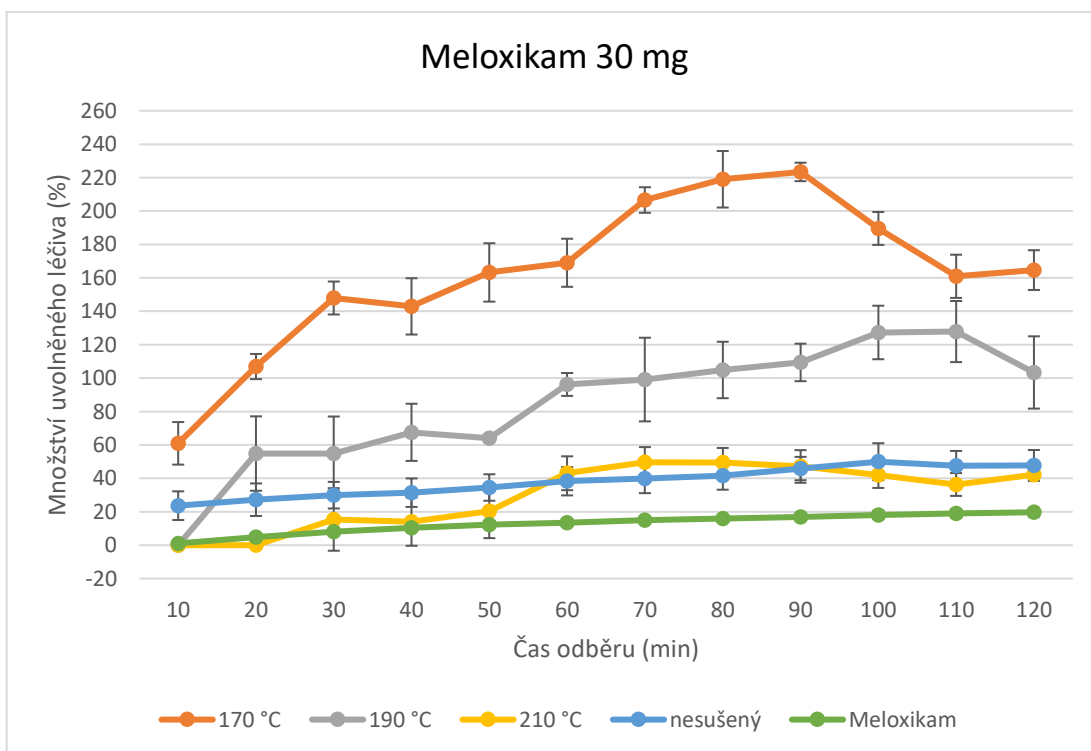
Hodnoty uvolněného léčiva vyšší než 100 % pak mohou být způsobeny nehomogenitou vzorků, kdy pro zjištění koncentrace léčiva mohl být použit vzorek s nižším obsahem, než byly vzorky pro disoluce. Tomu by odpovídaly také ne příliš plynulé disoluční profily jednotlivých vzorků a vyšší směrodatné odchylky. Nehomogenita pak může být způsobena jednak nastavením podmínek sušení, ale také nízkým obsahem léčiva ve směsi.

Tabulka 7: Porovnání teoretického a změřeného množství léčiva

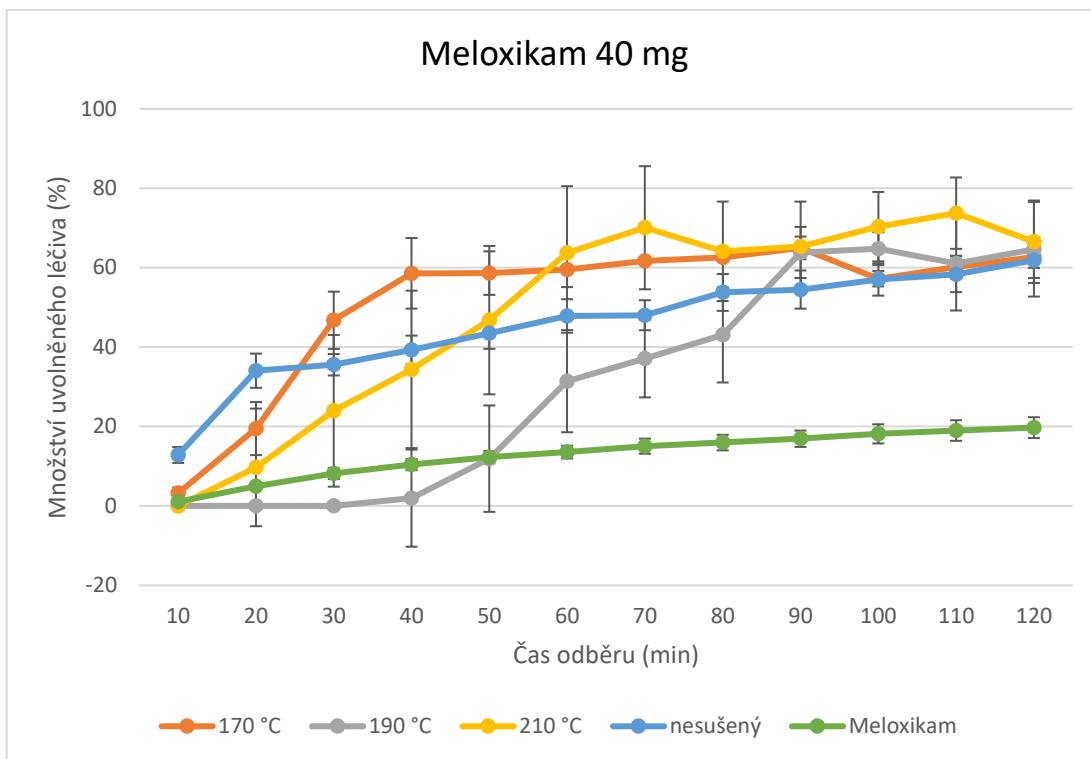
	Teoretické množství léčiva (mg)	Změřené množství léčiva (mg)	Změřené množství léčiva (%)	Ztráta v %
M20 210 °C	0,6242	0,4396324	70,43	29,57
M30 210 °C	0,9357	0,9241274	98,76	1,24
M40 210 °C	1,2469	1,2398844	99,44	0,56
M50 210 °C	1,5576	1,254816	80,56	19,44
M20 190 °C	0,6242	0,2250762	36,06	63,94
M30 190 °C	0,9357	0,6235054	66,63	33,37
M40 190 °C	1,2469	1,1531231	92,48	7,52
M50 190 °C	1,5576	1,3401068	86,03	13,97
M20 170 °C	0,6242	0,5965834	95,57	4,43
M30 170 °C	0,9357	0,4310637	46,07	53,93
M40 170 °C	1,2469	1,2117464	97,18	2,82
M50 170 °C	1,5576	1,3798112	88,58	11,42



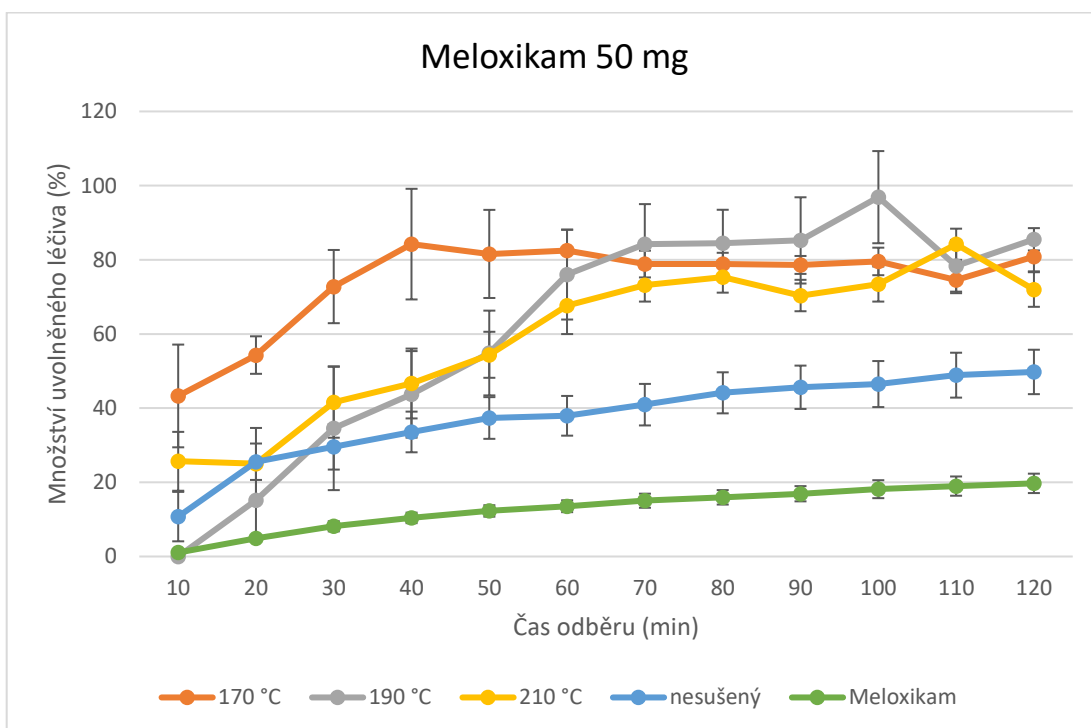
Obrázek 28: Graf vzorku M20 pro porovnání rychlosti a množství uvolněného léčiva



Obrázek 29: Graf vzorku M30 pro porovnání rychlosti a množství uvolněného léčiva



Obrázek 30: Graf vzorku M40 pro porovnání rychlosti a množství uvolněného léčiva



Obrázek 31: Graf vzorku M50 pro porovnání rychlosti a množství uvolněného léčiva



Obrázek 32: Nesušená směs chitosanu a meloxicamu M30 (vlevo) a M20 (vpravo)

7.3 Hodnocení tepelných vlastností pomocí DSC

Tepelné vlastnosti sprejově sušených vzorků byly hodnoceny diferenciální skenovací kalorimetrií a jednotlivé změny při zahřívání jsou zaznamenány na termogramech (Obrázek 36–41) a pro jejich vyhodnocení byly vytvořeny termogramy samostatných látek chitosanu, meloxikamu a laurylsíranu sodného (Obrázek 33–35). Pro porovnání stability byly vzorky znovu měřeny po 6 měsících. Pro ilustraci termogramů sprejově sušených vzorků byly vybrány jako příklad směsi M20 sušená při 170 °C, M30 sušená při 190 °C a M50 sušená při 210 °C. V tabulkách 8 a 9 jsou uvedeny hodnoty pro všechny připravené vzorky.

Jednotlivé píky popisující dehydrataci, teplotu tání, dekompozici a degradační produkty jsou uvedeny v Tabulce 8 a pro měření po 6 měsících v Tabulce 9. Termogram sprejově sušeného vzorku začíná píkem dehydratace laurylsíranu sodného, kdy dochází ke ztrátám vlhkosti. Teplota pro první pík dehydratace se u připravených vzorků pohybuje po prvním měření v rozmezí 12,5–14,7 °C, což je ve většině případů lehce nižší hodnota než u vzorku samotného laurylsíranu sodného, který má první pík dehydratace při teplotě 14,3 °C. Nejedná se ale o významný rozdíl. Jako další následuje pík dehydratace chitosanu, kdy rozmezí teplot z prvního měření je 65–84 °C. V tomto případě došlo k poklesu hodnoty oproti píku dehydratace samotného chitosanu, kde je teplota 98,9 °C. U vzorku M20 190 °C činí rozdíl až 34 °C. Chitosan v termogramech nemá svoji teplotu tání, protože se jedná o amorfní látku, která se na termogramu projeví teplotou skelného přechodu (T_g). Teplota skelného přechodu tady ale nebyla zaznamenána kvůli nízké citlivosti přístroje. Pro její hodnocení by bylo vhodnější použití jiného citlivějšího přístroje DSC nebo využití větší rychlosti ohřevu. [42]

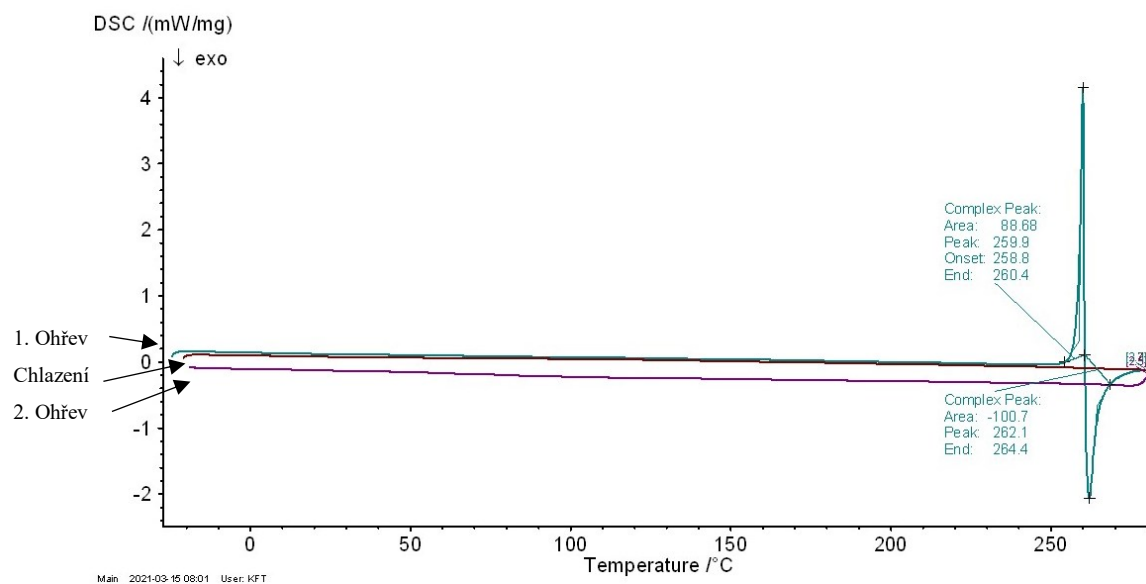
Dále se na termogramu vyskytuje další pík dehydratace laurylsíranu sodného a za ním následuje nejvýraznější pík teploty tání meloxikamu nebo teploty tání laurylsíranu sodného. S větší pravděpodobností se jedná o pík meloxikamu, protože za ním následuje pík dekompozice meloxikamu, ale nelze přesně rozlišit, o který z píků se jedná, protože jejich teploty jsou podobné a na termogramech se překrývají. Možností by bylo vyzkoušet oddělení píku, např. zvýšením rychlosti ohřevu ze

4 K/min na 10 K/min, tím by mohlo dojít k jejich oddělení. Teploty tání meloxicamu z prvního měření se pohybují v rozmezí 194,7–195,4 °C, což je oproti samotnému meloxicamu snížení téměř o 65 °C. Jeho teplota tání je 259,9 °C (Obrázek 33). Pík teploty tání naznačuje, že meloxicam se zde nachází v krystalické formě. Díky nižší teplotě sušení nedošlo během sprejového sušení k jeho roztavení a i když byl v kombinaci s laurylsíranem rozpuštěn, došlo ke krystalizaci. Snížení teploty tání by mohlo být způsobeno právě kombinací meloxicamu a laurylsíranu, kdy po rozpuštění a následném vysušení dojde pravděpodobně ke kombinaci látek na bázi fyzikálních vazeb, což ovlivní výslednou teplotu.

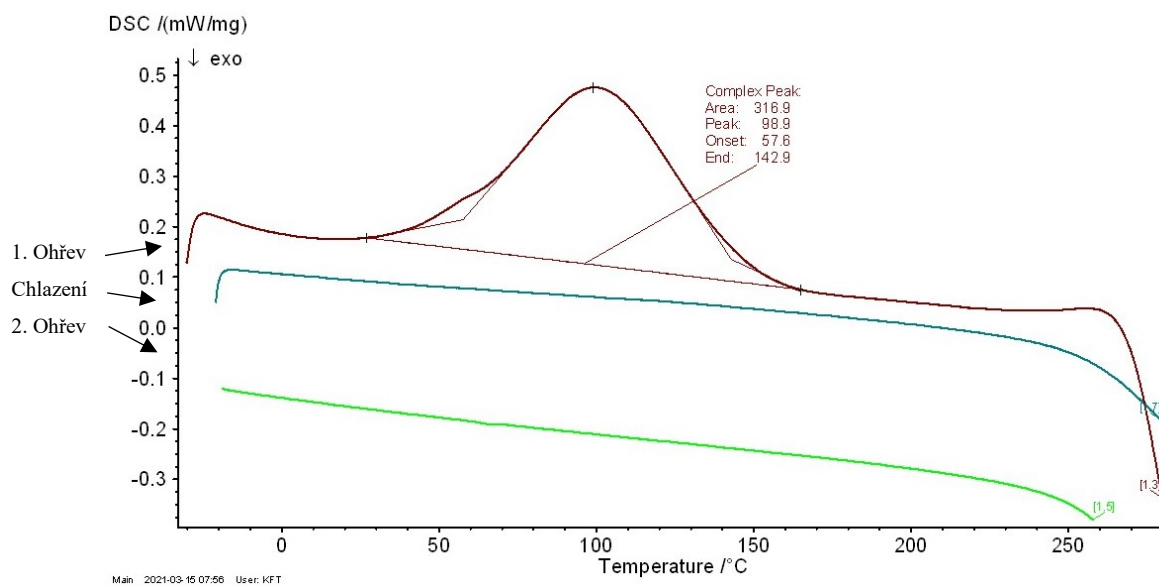
Pokud bychom pík hodnotili jako teplotu tání laurylsíranu sodného, nebyl by rozdíl teplot tak velký, protože jeho teplota tání byla 196 °C (Obrázek 35). Pokles teploty tání meloxicamu po sprejovém sušení byl zaznamenán také ve studii Pomázi a kol. [4], kde se pomocí DSC hodnotila sprejově sušená směs meloxicamu, mannitolu a polysorbátu 80 a teplota tání byla snížena přibližně na 230 °C, což bylo o 25 °C nižší než původní teplota tání meloxicamu.

U následujícího píku dekompozice meloxicamu byla teplota v rozmezí 219,4–222 °C a u samotného meloxicamu byla teplota dekompozice opět vyšší, a to 264,4 °C. Poslední píky na termogramech jsou degradační produkty laurylsíranu sodného.

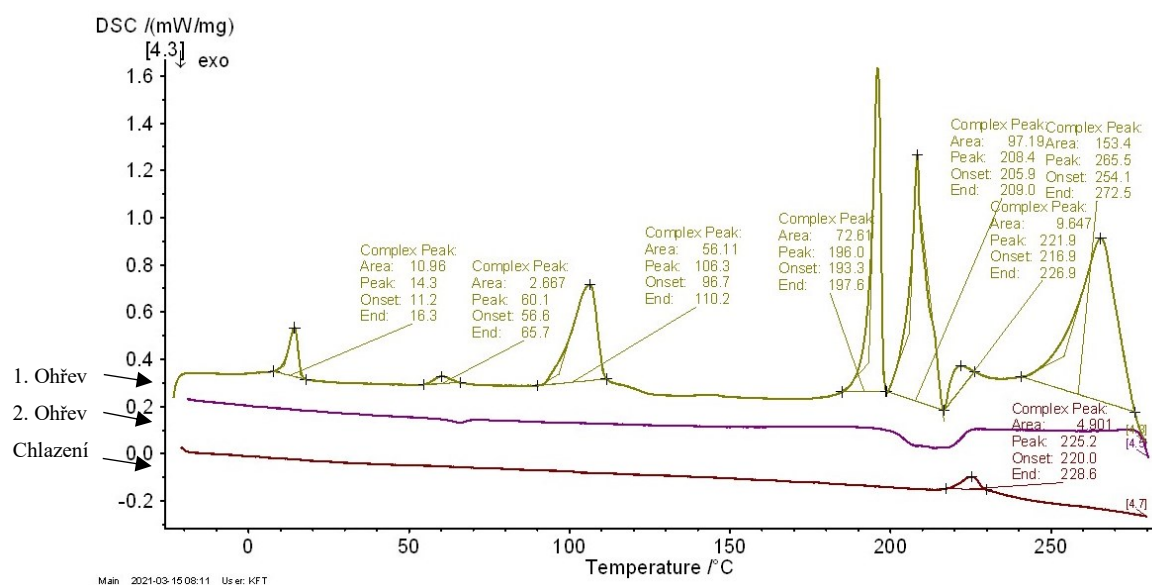
V porovnání prvního měření s hodnotami teplot tání po 6 měsících nebyl zaznamenán žádný výrazný rozdíl. Hodnoty pro všechny píky se liší maximálně v jednotkách °C. To naznačuje, že během skladování nedochází v produktech k výrazným změnám a sušené částice jsou stabilní. Během měření také nebyla zjištěna závislost jednotlivých teplot na koncentraci nebo teplotě sušení.



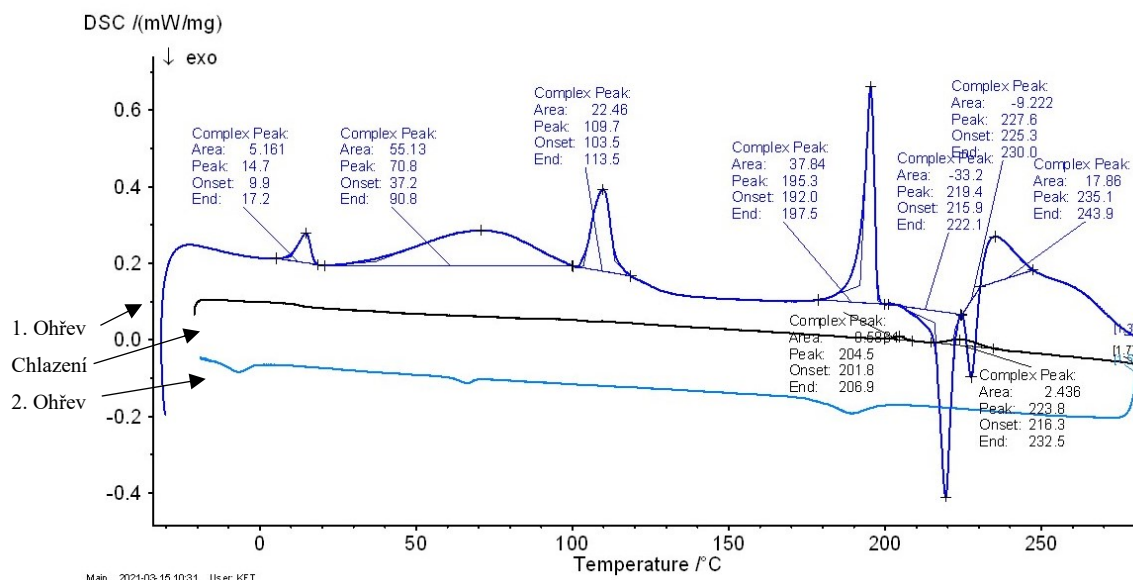
Obrázek 33: Termogram meloxicamu



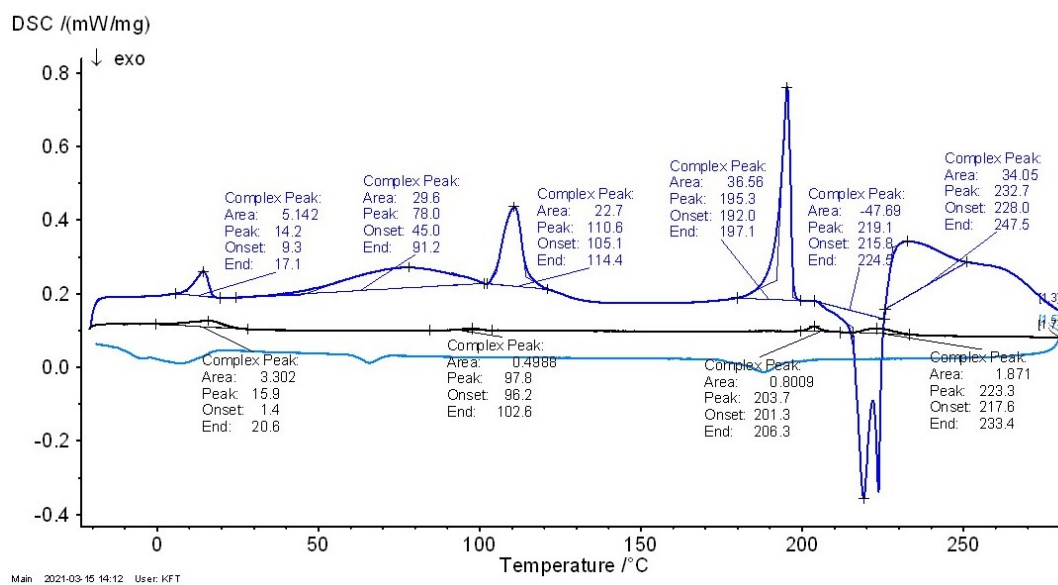
Obrázek 34: Termogram chitosanu



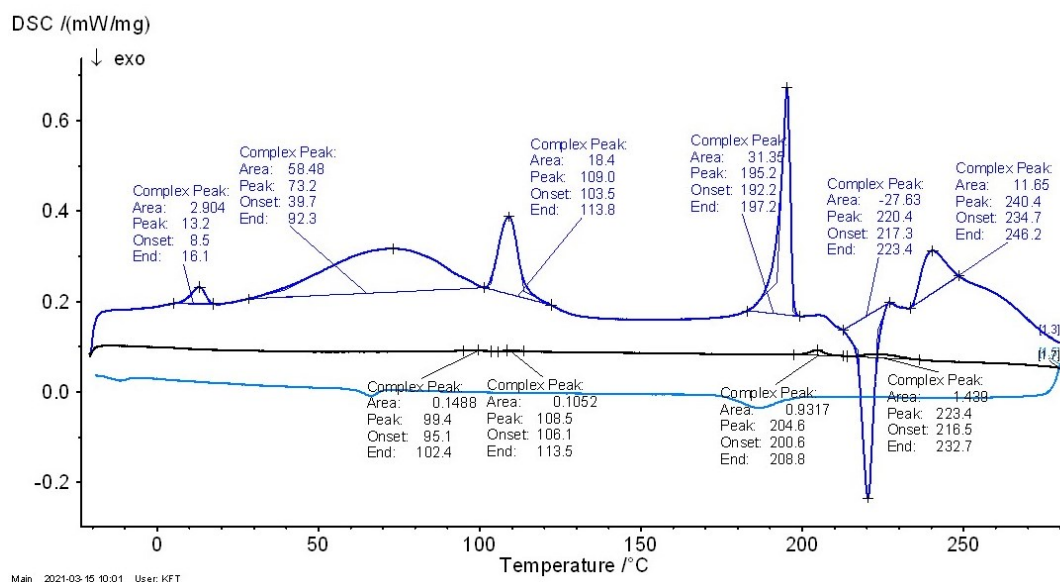
Obrázek 35: Termogram laurylsíranu sodného



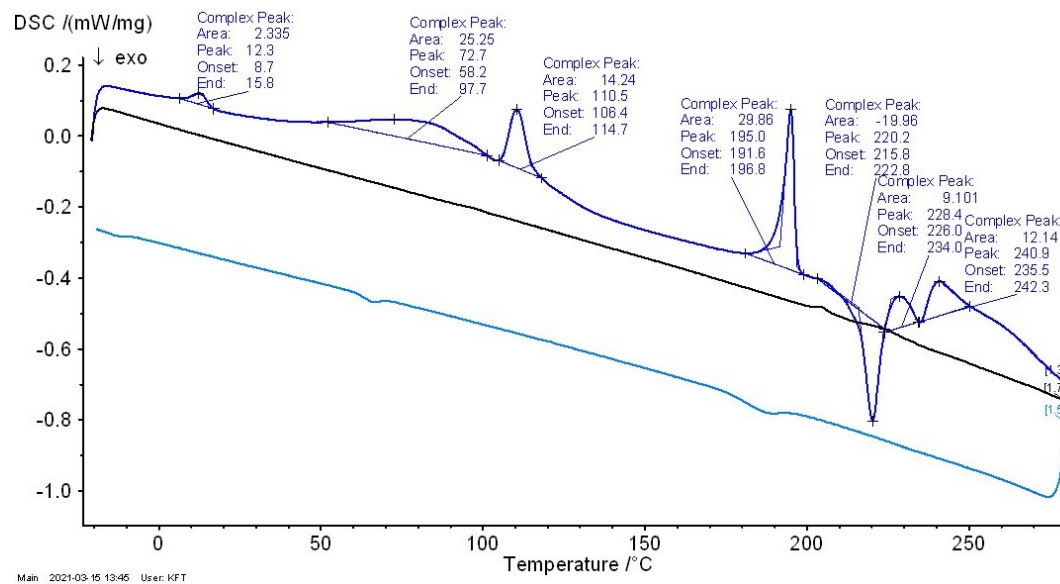
Obrázek 36: Termogram vzorku M20 sušeného při 170 °C



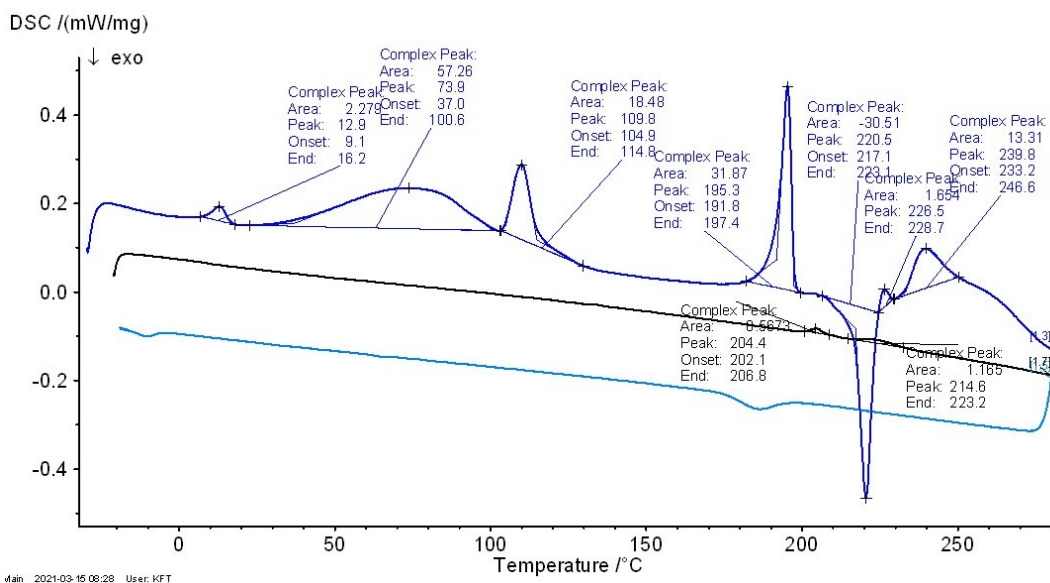
Obrázek 37: Termogram vzorku M20 sušeného při 170 °C po 6 měsících skladování



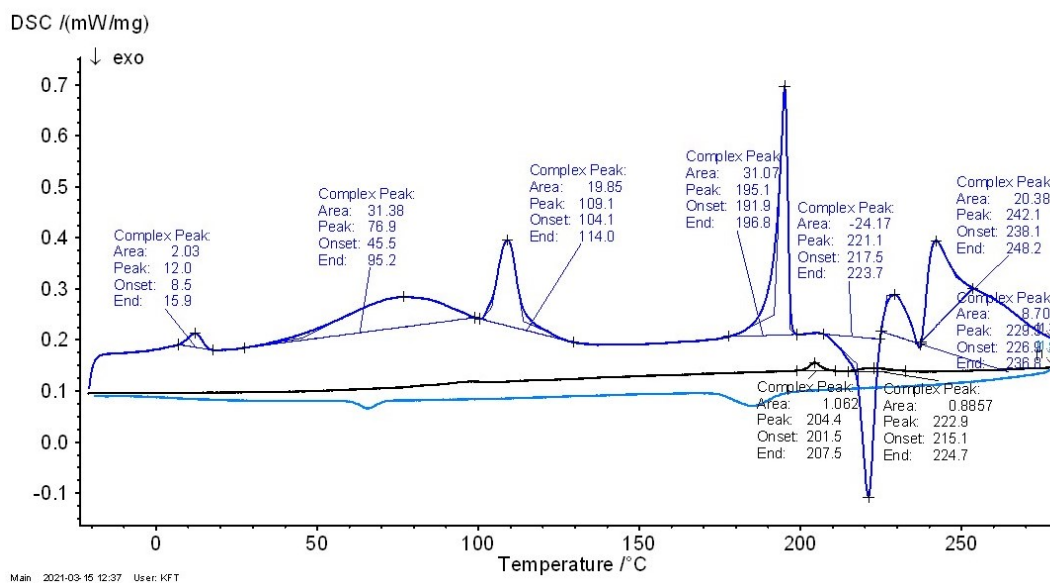
Obrázek 38: Termogram vzorku M30 sušeného při 190 °C



Obrázek 39: Termogram vzorku M30 sušeného při 190 °C po 6 měsících skladování



Obrázek 40: Termogram vzorku M50 sušeného při 210 °C



Obrázek 41: Termogram vzorku M50 sušeného při 210 °C po 6 měsících skladování

Tabulka 8: Maximální teploty pro jednotlivé píky sušené směsi 1. měření

M1	Dehydratace SLS	Dehydratace CH	Dehydratace SLS	TT Mel/TT SLS	Dekompozice Mel
M20, 170	14,7	70,8	109,7	195,3	219,4
M20, 190	12,6	65,0	107,5	195,4	219,5
M20, 210	12,5	71,4	109,0	195,1	220,3
M30, 170	14,5	79,2	111,9	195,4	219,7
M30, 190	13,2	73,2	109,0	195,2	220,4
M30, 210	12,7	74,4	109,2	195,2	221,3
M40, 170	14,5	70,5	112,6	195,4	219,6
M40, 190	12,7	71,8	109,0	195,0	220,2
M40, 210	13,1	84,0	111,0	195,1	219,7
M50, 170	14,4	76,8	112,3	195,3	220,5
M50, 190	13,1	69,8	109,0	194,7	222,0
M50, 210	12,9	73,9	109,8	195,3	220,5

Tabulka 9: Maximální teploty pro jednotlivé píky sušené směsi 2. měření

M2	Dehydratace SLS	Dehydratace CH	Dehydratace SLS	TT Mel/TT SLS	Dekompozice Mel
M20, 170	14,2	78,0	110,6	195,3	219,1
M20, 190	12,2	68,9	107,7	195,2	220,3
M20, 210	13,0	69,3	87,2	195,3	221,6
M30, 170	13,9	78,4	111,1	195,3	219,4
M30, 190	12,3	72,7	110,5	195,0	220,2
M30, 210	12,6	83,2	106,6	195,1	217,5
M40, 170	13,9	78,2	105,2	195,5	220,2
M40, 190	12,5	70,2	105,5	195,2	221,5
M40, 210	12,3	68,2	103,4	194,9	222,4
M50, 170	13,3	70,0	110,2	195,2	220,7
M50, 190	12,4	74,6	108,6	191,9	220,6
M50, 210	12,0	76,9	109,1	195,1	221,1

8 ZÁVĚR

Cílem práce bylo vyhodnotit sprejově sušené suspenze chitosanu s různým obsahem léčiva. V této práci byly vytvořeny suspenze chitosanu s obsahem 20, 30, 40 nebo 50 mg meloxikamu, který byl rozpuštěný s laurylsíranem sodným a jejich sprejové sušení probíhalo při vstupní teplotě 170 °C, 190 °C a 210 °C. Získané částice byly hodnoceny optickou mikroskopií, skenovací elektronovou mikroskopií (SEM) a dále se u nich provedla disoluce s následným spektrofotometrickým vyhodnocením. Pro hodnocení tepelných vlastností vzorků byla použita diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC).

Na snímcích z optického mikroskopu a ze SEM se hodnotil vzhled částic. Bylo patrné, že vzorky tvoří shluky z jednotlivých částic a na některých snímcích byl dobře zachycený meloxikam na povrchu destičkovitého chitosanu. Celkový tvar částic je nepravidelný a při porovnání jednotlivých vzorků bylo vyhodnoceno, že teplota sušení ani změna koncentrace léčiva nemá zásadní vliv na vzhled vzorku. V této práci se nehodnotila velikost částic, ale je možnost, že právě zde by se mohly objevovat rozdíly při sušení různými vstupními teplotami a různě koncentrovanými suspenzemi.

Průběh uvolňování léčiva se hodnotil zkouškou disoluce jak u sprejově sušených vzorků, tak i u nesusušených fyzikálních směsí a samotného meloxikamu. Během disolučních zkoušek došlo ke zvýšení uvolňování léčiva u sprejově sušených vzorků v porovnání se samotným meloxikamem. Nejrychleji se meloxikam uvolnil ze vzorků sušených při teplotě 170 °C, a to nezávisle na koncentraci léčiva. Podobně tomu bylo u nesusené směsi, kdy se léčivo v porovnání se sušeným materiálem uvolňovalo pomaleji. Při porovnání fyzikální směsi a samotného léčiva bylo zjištěno rychlejší uvolnění u fyzikální směsi. Disoluční profily také naznačují nižší homogenitu vzorků, která může být způsobena nízkým obsahem léčiva nebo nastavením procesu sušení. Pro další disoluční zkoušky by bylo vhodné nastavit kratší intervaly mezi jednotlivými odběry vzorků, postihnout tak i počáteční rychlé uvolnění léčiva a také zkrátit čas provádění disoluce na 60 minut.

Na termogramech jednotlivých vzorků se objevovaly píky dehydratace laurylsíranu sodného, dehydratace chitosanu, pík teploty tání meloxicamu nebo laurylsíranu sodného, dekompozice meloxicamu a degradační produkty laurylsíranu sodného. Teplota tání samotného meloxicamu odpovídala 259,9 °C a u sprejově sušených vzorků došlo ke snížení teploty tání na hodnoty okolo 195,2 °C. Tento posun může být způsobený rozpuštěním v laurylsíranu sodném. Snížila se také teplota dehydratace chitosanu. U dalších měření by bylo vhodné zvýšit rychlost ohřevu pro přesnější identifikaci píku teploty tání, tedy zda se jedná o meloxicam nebo laurylsíran sodný. V porovnání s druhým měřením vzorků po 6 měsících nebyly na termogramech patrné výrazné změny.

9 BIBLIOGRAFIE

- [1] ENGELHARDT, G., R. BOGEL, Chr. SCHNITZER a R. UTZMANN. Meloxicam: Influence on Arachidonic Acid Metabolism. Part 1. In vitro findings [online]. 1996 [cit. 2021-2-4]. Dostupné z: doi:10.1016/0006-2952(95)02111-6
- [2] OKÁČOVÁ, Ladislava, David VETCHÝ, Aleš FRANC, Miloslava RABIŠKOVÁ a Bohumil KRATOCHVÍL. Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek jejich modifikací. *Chemické Listy* [online]. 2010, 104, 21-26 [cit. 2021-02-03]. Dostupné z: http://w.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_01_21-26.pdf
- [3] PATEL, R., M. PATEL a A. SUTHAR. Spray drying technology: an overview. *Indian Journal of Science and Technology*. 2009, 2(10), 44-47. ISSN 0974-6846.
- [4] POMÁZI, Anita, Rita AMBRUS, Péter SIPOS a Piroška SZABÓ-RÉVÉSZ. Analysis of co-spray-dried meloxicam–mannitol systems containing crystalline microcomposites. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011, 56(2), 183-190. ISSN 07317085.
- [5] Pubchem [online]. [cit. 2021-03-08]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Meloxicam#section=Solubility>
- [6] LUGER, Peter, Klaus DANECK, Wolfhard ENGEL, Günter TRUMMLITZ a Klaus WAGNER. Structure and physicochemical properties of meloxicam, a new NSAID. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1996, 4(3), 175-187. ISSN 09280987.
- [7] TURCK, D., W. ROTH a U. BUSCH. A review of the clinical pharmacokinetics of meloxicam. *British Journal of Rheumatology*. [online]. 1996, 35(1), 13-16 [cit. 2021-2-8]. Dostupné z: doi:10.1093/rheumatology/35.suppl_1.13
- [8] Wikimedia [online]. [cit. 2021-01-14]. Dostupné z: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Meloxicam.svg>

- [9] DLOUHÁ, Jarmila, Jana HAVLÍKOVÁ a Oldřich MAREK. Léčba chronické bolesti. *Interní medicína pro praxi*. 2002, 578-581. ISSN 1212-7299
- [10] PAVELKA, Karel. Biologická léčba zánětlivých autoimunitních onemocnění v revmatologii, gastroenterologii a dermatologii. *Praha: Grada*, 2014. ISBN 978-80-247-5048-4.
- [11] DRENSKA, Maria, Savina ELITOVA, Velina GRIGOROVA, Emilia NASEVA a Ilko GETOV. Analysis of primary outpatient data for off-label use of medicines in neurology. *Pharmacia*. 2019, 66(4), 165-170. ISSN 2603- 557X.
- [12] EULLER-ZIEGLER, L., P. VELICITAT a E. BLUHMKI. Meloxicam: a review of its pharmacokinetics, efficacy and tolerability following intramuscular administration. *Inflamm*. [online]. 2001, 50, 5–9 [cit. 2021-03-10]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1007/PL00022377>
- [13] SINGH, Rajendra, Swati SAXENA a Sarang JAIN. Formulation and Evaluation of Mouth dissolving tablet containing Non-Steroidal Anti-inflammatory Drug. *Research J. Pharm. and Tech*. [online]. 2021, 14(1), 432-436 [cit. 2021-03-10]. Dostupné z: doi:10.5958/0974-360X.2021.00078.0
- [14] LEE, Cheol a Howard MAIBACH. The sodium lauryl sulfate model: an overview. *Contact Dermatitis*. 1995, 33(1), 1-7. ISSN 01051873.
- [15] LEOTY-OKOMBI, Sabrina, Florence GILLAIZEAU, Sébastien LEUILLET et al. Effect of Sodium Lauryl Sulfate (SLS) Applied as a Patch on Human Skin Physiology and Its Microbiota. *Cosmetics*. 2021, 8(1). ISSN 2079-9284.
- [16] ALLI, Babatunde, Olufemi ERINOSO a Adetokunbo OLAWUYI. Effect of sodium lauryl sulfate on recurrent aphthous stomatitis: A systematic review. 2019, 48(5), 358-364. ISSN 0904-2512.
- [17] ZHAO, Fang, Vyacheslav MALAYEV, Venkatramana RAO a Munir HUSSAIN. Effect of Sodium Lauryl Sulfate in Dissolution Media on Dissolution of Hard Gelatin Capsule Shells. *Pharmaceutical Research*. 2004, 21(1), 144-148. ISSN 0724-8741.

- [18] ALIZADEH, Mohammad, Ali SHAYANFAR a Abolghasem JOUYBAN. Solubilization of drugs using sodium lauryl sulfate: Experimental data and modeling. *Journal of Molecular Liquids*. 2018, 268, 410-414. ISSN 01677322.
- [19] PARK, Sung-Hyun a Hoo-Kyun CHOI. The effects of surfactants on the dissolution profiles of poorly water-soluble acidic drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006, 321(1-2), 35-41. ISSN 03785173.
- [20] LEE, Sa-Won, Moon-Hee KIM a Chong-Kook KIM. Encapsulation of ethanol by spray drying technique: effects of sodium lauryl sulfate. *International Journal of Pharmaceutics* 1999, 187(2), 193-198. ISSN 03785173.
- [21] HANIF, Sadia, Muhammad USMAN, Ajaz HUSSAIN, Nasir RASOOL, Muhammad ZUBAIR a Usman Ali RANA. Solubilization of Benzothiazole (BNZ) by micellar media of Sodium dodecyl sulphate and Cetyl trimethylammonium bromide. *Journal of Molecular Liquids*. 2015, 211, 7-14. ISSN 01677322.
- [22] RANGEL-YAGUI, Carlota O., Helen Wei Ling HSU, Adalberto PESSOA-JR a Leoberto Costa TAVARES. Micellar solubilization of ibuprofen: influence of surfactant head groups on the extent of solubilization. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2005, 41(2). ISSN 1516-9332.
- [23] OKÁČOVÁ, Ladislava, David VETCHÝ, Aleš FRANC a Miloslava RABIŠKOVÁ. Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek technologickými postupy usnadňujícími jejich rozpouštění. *Chemické Listy [online]*. 2011, 150, 34-40 [cit. 2021-01-21]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_01_34-40.pdf
- [24] CARLOTA, O., RANGEL-YAGUI, Adalberto PESSOA a Leoberto COSTA TAVARES. Micellar solubilization of drugs [online]. 2005, 8(2), 147-163 [cit. 2021-01-21]. Dostupné z: [https://sites.ualberta.ca/~csps/JPPS8\(2\)/C.Rangel-Yagui/solubilization.pdf](https://sites.ualberta.ca/~csps/JPPS8(2)/C.Rangel-Yagui/solubilization.pdf)

- [25] BONACUCINA, Giulia, Marco CESPI, Monica MISICI-FALZI a Giovanni PALMIERI. Colloidal soft matter as drug delivery system. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009, 98(1), 1-42. ISSN 00223549.
- [26] KOTLÍK, Petr. Možnosti použití micelárních koloidů a mikroemulzí při restaurování památek. *Chemické Listy*. 2014, 108(12), 1113-1111. ISSN 1213-7103.
- [27] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav. Vyd. 5., přeprac. Praha: *Vysoká škola chemicko-technologická*, 2005. ISBN 80-7080-579-x.
- [28] JAKUBEC, Martin a Jitka ČEJKOVÁ. Emulze: Příprava a stabilizace [online]. [cit. 2021-03-22]. Dostupné z: <https://fchi.vscht.cz/files/uzel/0010367/cwUA.pdf?redirected>
- [29] ALKHAMIS, Khoulood, Hussien ALLABOUN a Wafa'a AL-MOMANI. Study of the solubilization of gliclazide by aqueous micellar solutions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2003, 92(4), 839-846. ISSN 00223549.
- [30] VINAROV, Zahari, Petra DOBREVA a Slavka TCHOLAKOVA. Effect of surfactant molecular structure on Progesterone solubilization. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2018, 43, 44-49. ISSN 17732247.
- [31] ZUGHAIID, Huda, Ben FORBES, Gary P. MARTIN a Nilesh PATEL. Bile salt composition is secondary to bile salt concentration in determining hydrocortisone and progesterone solubility in intestinal mimetic fluids. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012, 422(1-2), 295-301. ISSN 03785173.
- [32] BARRY, B. W. a D.I.D. El EINI. Solubilization of hydrocortisone, dexamethasone, testosterone and progesterone by long-chain polyoxyethylene surfactants. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1976, 28(3), 210-218. ISSN 00223573.

- [33] CAL, Krzysztof a Krzysztof SOLLOHUB. Spray Drying Technique. I: Hardware and Process Parameters. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010, 99(2), 575-586. ISSN 00223549.
- [34] CHAUDHARI, PD., AA. PHATAK a Ujwala DESAI. A Review: Coprocessed Excipients-An Alternative to Novel Chemical Entities. *International journal of pharmaceutical and chemical sciences*. 2012, 1(4). ISSN 2277-5005.
- [35] POMÁZI, Anita, Francesca BUTTINI, Rita AMBRUS, Paolo COLOMBO a Piroška SZABÓ-RÉVÉSZ. Effect of polymers for aerolization properties of mannitol-based microcomposites containing meloxicam. *European Polymer Journal*. 2013, 49(9), 2518-2527. ISSN 00143057.
- [36] BRITAIN, Harry G. Effects of mechanical processing on phase composition. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2002, 91(7), 1573-1580. ISSN 00223549.
- [37] EL-BADRY, Mahmoud. Physicochemical Characterization and Dissolution Properties of Meloxicam-Gelucire 50/13 Binary Systems. *Scientia Pharmaceutica*. 2011, 79(2), 375-386. ISSN 00368709.
- [38] CHVATAL, Anita, Rita AMBRUS, Petra PARTY, Gábor KATONA, Orsolya JÓJÁRT-LACZKOVICH, Piroška SZABÓ-RÉVÉSZ, Elias FATTAL a Nicolas TSAPIS. Formulation and comparison of spray dried non-porous and large porous particles containing meloxicam for pulmonary drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019, 559, 68-75. ISSN 03785173.
- [39] VARGA, Patricia, Rita AMBRUS, Piroška SZABÓ-RÉVÉSZ a Csilla BARTOS. Development of Intranasal Chitosan-Based Drug Delivery Containing Meloxicam. Proceedings of The 1st International Electronic Conference on Pharmaceutics [online]. Basel, Switzerland: MDPI, 2020 [cit. 2021-04-10]. Dostupné z: doi:10.3390/IECP2020-08751
- [40] EL-MARADNY, Hoda, Sana MORTADA, Ola KAMEL a Ahmed HIKAL. Characterization of ternary complexes of meloxicam-HP β CD and PVP or L-arginine prepared by the spray-drying technique. *Acta Pharmaceutica*. 2008, 58(4), 455-466. ISSN 1846-9558.

- [41] AMBRUS, R., P. KOCBEK, J. KRISTL, R. ŠIBANC, R. RAJKÓ a P. SZABÓ-RÉVÉSZ. Investigation of preparation parameters to improve the dissolution of poorly water-soluble meloxicam. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009, 381(2), 153-159. ISSN 03785173.
- [42] BRUSOVÁ, Hana, Lenka SEILEROVÁ, Bohumil KRATOCHVÍL a Lukáš KREJČÍK. Využití metod termické analýzy ve výzkumu a vývoji léčiv. *Chem. Listy* [online]. 2012, 890-895 [cit. 2021-05-08]. Dostupné z: http://www.w.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_10_890-895.pdf
- [43] P-lab. In: P-lab [online]. [cit. 2021-04-12]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/sds>