

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

*Katedra farmaceutické technologie*

**STUDIUM VLIVU TERBINAFINU  
NA TEPLITU SKELNÉHO PŘECHODU  
POLYESTEROVÝCH MATRIC**

**Rigorózní práce**

*Hradec Králové 2014*

*Mgr. Markéta Kráčalíková*

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

Mgr. Markéta Kráčalíková

# 1 OBSAH

<b>1</b>	<b>OBSAH</b> .....	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>ABSTRAKT</b> .....	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>ABSTRACT</b> .....	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>ZADÁNÍ</b> .....	<b>6</b>
<b>5</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>7</b>
<b>6</b>	<b>SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ</b> .....	<b>8</b>
<b>7</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>9</b>
7.1	ROZPUSTNOST LÉČIV.....	9
7.2	BIOFARMACEUTICKÝ KLASIFIKAČNÍ SYSTÉM LÉČIV.....	10
7.2.1	Stanovení rozpustnosti látky.....	10
7.2.2	Stanovení propustnosti.....	11
7.2.3	Třídy BCS systému.....	11
7.2.4	Využití BCS systému.....	14
7.3	LIPINSKÉHO „PRAVIDLO TŘÍ PĚTEK“.....	17
7.4	TERBINAFIN.....	19
<b>8</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>21</b>
8.1	POUŽITÉ PŘÍSTROJE.....	21
8.2	POUŽITÉ SUROVINY.....	21
8.3	PŘÍPRAVA BAZE TERBINAFINU.....	22
8.4	PŘÍPRAVA POLYESTEROVÝCH MATRIC.....	22
8.5	PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO MĚŘENÍ TEPLoty SKELNÉHO PŘECHODU.....	22
8.6	MĚŘENÍ TEPLoty SKELNÉHO PŘECHODU.....	23
8.7	VYHODNOCENÍ MĚŘENÍ.....	23
<b>9</b>	<b>VÝSLEDKY</b> .....	<b>24</b>
9.1	VYHODNOCENÍ TEPLot SKELNÉHO PŘECHODU.....	24
9.2	POROVNÁNÍ TEPLot SKELNÉHO PŘECHODU POLYESTEROVÝCH MATRIC.....	34
<b>10</b>	<b>DISKUZE</b> .....	<b>36</b>
10.1	VLIV KONCENTRACE LÉČIVA NA TEPLotu SKELNÉHO PŘECHODU.....	36
<b>11</b>	<b>ZÁVĚRY</b> .....	<b>41</b>
<b>12</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>42</b>

## 2 ABSTRAKT

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Farmaceutické technologie

Akademický rok: 2013/14

Jméno a příjmení: **Mgr. Markéta Kráčalíková**

Název rigorózní práce: **Studium vlivu terbinafinu na teplotu skelného přechodu polyesterových matric**

Konzultantka: PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.

Rigorózní práce se zabývá studiem vlivu koncentrace terbinafinu na teplotu skelného přechodu polyesterových matric. V práci byly použity lineární polyester kyseliny D,L-mléčné a glykolové (PLGA) a větvený polyester tripentaerythritolem (3T), které byly syntetizovány na katedře Farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové. Použitým léčivem byla база terbinafinu. Pro inkorporaci léčiva do polyesterových nosičů byla zvolena metoda rozpouštění ve vhodném rozpouštědle. Použitým rozpouštědlem byl ethylmethylneton. Teoretická část je zaměřena na rozpustnost léčiv, popis, využití a klasifikaci tříd BCS systému, Lipinského pravidlo tří pětěk a vlastnosti, účinek a využití terbinafinu. V experimentální části byla měřena teplota skelného přechodu polyesterových matric s různou koncentrací terbinafinu, připravených rozpouštěním polymeru a léčiva v ethylmethylnetonu a jejich sušením ve vakuové sušárně po dobu 1 dne a 3 dnů. Z výsledků vyplývá, že inkorporací terbinafinu base do polyesterové matrice dochází ke snížení teploty skelného přechodu v závislosti na koncentraci léčiva.

Klíčová slova: polyestery, terbinafin, teplota skelného přechodu, rozpustnost léčiv, biologická dostupnost.

### 3 ABSTRACT

CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmaceutical technology

Academic year: 2013/14

Name of student:

**Mgr. Markéta Kráčalíková**

Title of rigorous thesis:

**The study of the influence of terbinafine on glass transition temperature of polyester matrices**

Consultant: PharmDr. Eva Šnejdrová, Ph.D.

This rigorous thesis deals with the study of the influence of terbinafine concentration on the glass transition temperature of polyester matrices. In this thesis were used linear polyester of D,L-lactic and glycolic acid (PLGA) and the polyester branched with tripentaerythritol (3T), which were synthesized in the Department of Pharmaceutical Technology Faculty of Pharmacy in Hradec Králové. It was used drug of terbinafine base. For incorporation of the drug into the polyester carrier it was chosen the method of dissolving in a suitable solvent. The solvent was ethylmethylketone. The theoretical part is focused on the solubility of drugs, description and use of classes BCS classification system, Lipinski rules of three five and characteristics, effects and use of terbinafine. In the experimental part the glass transition temperature of the polyester matrices with different terbinafine concentrations prepared by dissolving of polymer and drug in ethylmethylketone and their drying in a vacuum drier for 1 and 3 days was measured. The results show that incorporation of terbinafine base into the polyester matrices cause the glass transition temperature decrease in dependence of drug concentration.

Keywords: polyesters, terbinafine, glass transition temperature, solubility of a drug, bioavailability.

## 4 ZADÁNÍ

Zadáním rigorózní práce bylo studium vlivu koncentrace terbinafinu inkorporovaného metodou rozpouštění do polyesterových matric na teplotu skelného přechodu. Zadání je formulováno v následujících bodech:

1. Připravit matrice metodou rozpouštění polymerů ve vhodném rozpouštědle.
2. Použít lineární polyester PLGA a polyester větvený tripentaerythritolem 3T.
3. Pro rozpuštění polymerů použít rozpouštědlo ethylmethylnketon, které bude odstraněno sušením ve vakuové sušárně po dobu 1 dne a 3 dnů.
4. Do matric připravených z jednotlivých polymerů inkorporovat bazi terbinafinu v koncentracích 10%, 15%, 25% a 30%.
5. Provést termickou analýzu s cílem určit teplotu skelného přechodu jednotlivých polymerů, baze terbinafinu a připravených matric složených z polymerů a terbinafinu o různých koncentracích.

## 5 ÚVOD

Předložená rigorózní práce tematicky a metodologicky navazuje na moji diplomovou práci<sup>1</sup> a je zaměřena na vliv koncentrace terbinafinu na termické vlastnosti polyesterových matric. Polymery jsou v současnosti již běžně používány jako nosiče léčiv s cíleným transportem do příslušného orgánu. Mezi další využití polymerů ve farmacii a medicíně patří například obaly, potahování tablet, vstřebatelný šicí materiál nebo našly uplatnění v náhradních tkáních.

V práci byly studovány polymerní nosiče PLGA a 3T, což jsou kopolymery kyseliny mléčné a glykolové, lineární nebo větvený tripentaerythritolem. Oba polymery byly syntetizovány na katedře Farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové. Do nich byla inkorporována léčivá látka terbinafin v různých koncentracích.

Cílem práce bylo nalézt maximální koncentraci, kterou by bylo možno inkorporovat do polyesterových nosičů bez významného ovlivnění jejich fyzikálně-chemických vlastností a dosáhnout tak očekávaného terapeutického účinku.

## 6 SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

3T	polyester PLGA větvený 3% tripentaerythritolem v reakční směsi
API	aktivní farmaceutická složka
BCS	biofarmaceutický klasifikační systém léčiv
DSC	diferenciální skenovací kalorimetrie
FDA	Ústav pro kontrolu potravin a léčiv ve Spojených státech amerických
GIT	gastrointestinální trakt
LF	léková forma
LL	léčivá látka
LP	léčivý přípravek
PLGA	kopolymery kyseliny D, L-mléčné a kyseliny glykolové
T <sub>g</sub>	teplota skelného přechodu [°C]
TRB	terbinafin
WHO	Světová zdravotnická organizace



## 7 TEORETICKÁ ČÁST

### 7.1 Rozpustnost léčiv

Léčivé látky (LL) podávané v různých lékových formách (LF) by měly být dobře a rychle rozpustné ve vodě a mít dobrou permeabilitu přes biologické membrány. Nově syntetizovaná léčiva jsou však velmi často těžce rozpustná ve vodním prostředí. Špatná rozpustnost činí problém při zajištění přijatelné biodostupnosti LL v organismu. Více než 40% léčivých látek patří mezi těžce rozpustné substance.<sup>2</sup> Proces rozpouštění nejčastěji sleduje závislost koncentrace v roztoku na čase, ale většinou závisí i na jiných proměnných, které zahrnují teplotu, velikost částic, pH, disoluční médium a stupeň krystalinity.

Český lékopis 2009 rozděluje léčivé látky na základě jejich rozpustnosti dle fyzikálně-chemického hlediska.

Tab. 1: Klasifikace rozpustnosti léčiv<sup>3</sup>

Klasifikace	Objem rozpouštědla v ml na rozpuštění 1g látky
velmi snadno rozpustné	< 1
snadno rozpustné	1-10
dobře rozpustné	10-30
mírně rozpustné	30-100
těžce rozpustné	100-1000
velmi těžce rozpustné	1000-10000
prakticky nerozpustné	>10000

Rozpustnost LL není jediným měřítkem pro biodostupnost léčiva v organismu. Z farmakologického hlediska se musí zohlednit terapeutická dávka, protože některá léčiva stačí podávat v menším množství, např. hormony. U jiných léčiv, např. některých antibiotik, je nezbytné podávat větší množství. Proto se může stát, že malé množství těžce rozpustné látky se v žaludku rozpustí úplně a dosáhne požadované terapeutické hladiny v těle, zatímco větší množství lépe rozpustnější látky se nerozpustí v potřebném množství.<sup>4</sup>

## 7.2 Biofarmaceutický klasifikační systém léčiv

Biofarmaceutický klasifikační systém léčiv (BCS systém) rozděluje léčivé látky na základě jejich rozpustnosti ve vodě a propustnosti přes membrány. Byl navržen v polovině devadesátých let minulého století G. L. Amidonem. BCS systém byl vyvinut s podporou FDA k usnadnění racionálních a vědecky podložených předpisů při posuzování kvality a vlastností léčiv.<sup>5</sup> BCS systém našel mezinárodní uplatnění v průmyslu, ve vědě a výzkumu.<sup>6</sup>

Pro výrobce léčiv je nejčastější volbou perorální podání léku. V gastrointestinálním traktu je ale většinou při této cestě podání omezena absorpce a biologická dostupnost. Tato omezení jsou ještě výraznější při zavedení proteinových a peptidových léčiv a sloučenin.

Po perorální aplikaci se léčivo uvolní z LF a rozpouští se v tělní tekutině. Limitem tohoto kroku je rozpustnost léčiva. Poté roztok přechází přes membrány buněk sliznice zažívacího traktu. Limitem tohoto kroku je propustnost. Dále se léčivo vstřebává do krevního oběhu. Proto perorální absorpce a biologická dostupnost je určena rozpustností a propustností.<sup>7</sup>

### 7.2.1 Stanovení rozpustnosti látky

Rozpustnost látky je množství látky, které přejde do roztoku, aby se ustanovila rovnováha mezi roztokem a přebytkem, tzn. nerozpuštěným podílem látky, při dané teplotě a tlaku.<sup>8</sup>

Léčivá látka se považuje za velmi dobře rozpustnou, jestliže se její nejvyšší léčebná dávka rozpustí v 250 ml nebo méně vodného média při určitém pH. Odhad 250 ml vody byl odvozen od předpokládaného objemu tekutin v dutině břišní v době podání léčiva. Většinou se jedná o 1 sklenici vody, kterou pacient zapije daný lék. Rozpustnost LL se stanoví dle FDA při teplotním rozmezí  $37 \pm 1$  °C ve vodném prostředí pH od 1 do 7,5. WHO zvolila rozmezí hodnot pH od 1,2 do 6,8.<sup>8</sup> Hodnota pH v gastrointestinálním traktu se ve stavu na lačno značně liší: v žaludku je pH okolo 1,4-2,1, v duodenu asi 9,4, v jejunu 4-6. V praxi se nejčastěji jako médium pro určení rozpuštění používají roztok HCl pH 1,2, acetátový pufr pH 4,5 a fosfátový pufr pH 6,8.

pH prostředí by mělo být voleno podle vlastností LL, většinou vychází z jejich ionizačních vlastností. Výsledná hodnota pH se vypočítá jako průměr tří opakovaných stanovení rozpustnosti v různých hodnotách pH před a po přidání LL.

Podle FDA je přípravek považován za rychle se rozpouštějící, jestliže se nejméně 85% léčiva z daného léčivého přípravku rozpustí během 30 minut při použití přístroje USP I při 100 ot/min nebo při použití přístroje USP II při 50 ot/min v objemu 900 ml nebo méně v každém z předepsaných disolučních médií, které představují simulovanou střevní tekutinu bez enzymů.

WHO považuje LP za vysoce rozpustný, jestliže se rozpustí nejméně 85% z daného LP za 15 minut za použití lopatkového zařízení při 75 ot/min nebo v přístroji s košíčky při 100 ot/min v objemu 900 ml média nebo menším.<sup>8</sup>

### 7.2.2 Stanovení propustnosti

Stanovení propustnosti se většinou provádí těmito metodami:

- a) Farmakokinetické studie na lidských jedincích, včetně studie hmotnostní bilance a absolutní biologické dostupnosti nebo střevní propustnosti.
- b) *In vivo* nebo *in situ* střevní perfúze na vhodném zvířecím modelu.
- c) *In vitro* metoda propustnosti za použití vyříznuté střevní tkáně.
- d) Testování na monovrstvách vhodných epitelových buněk, např. *Caco-2* buňky.<sup>8</sup>

Podle FDA je látka považována za vysoce propustnou, jestliže je míra absorpce podané látky 90% a více. Jiné vědecké publikace a WHO považují za vysoce propustnou látku už při hodnotě 85% absorbované látky.

### 7.2.3 Třídy BCS systému

BCS systém hodnotí léčiva podle tří hlavních faktorů: rozpouštění, rozpustnost a střevní propustnost, které mají vliv na perorální absorpci léčiv z pevných lékových forem. Tyto faktory bere v úvahu podle pokynů WHO.

BCS systém rozděluje látky do 4 tříd:

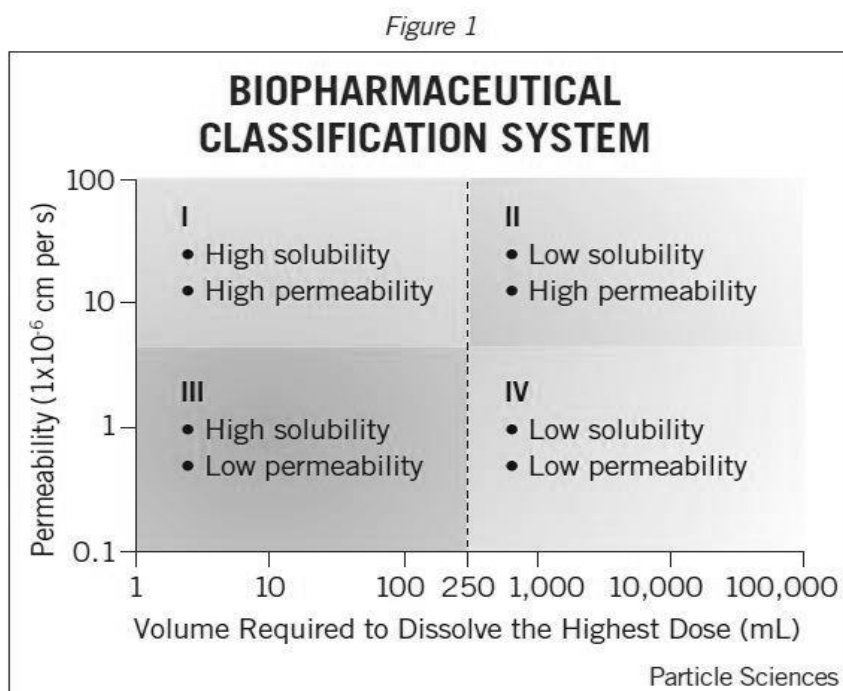
Třída I: vysoká rozpustnost-vysoká propustnost

Třída II: nízká rozpustnost-vysoká propustnost

Třída III: vysoká rozpustnost-nízká propustnost

Třída IV: nízká rozpustnost-nízká propustnost

Obr. 1: Grafické znázornění BCS systému rozdělení látek do 4 tříd<sup>9</sup>



Léčiva I. třídy se chovají jako perorální roztoky, které se rychle rozpouštějí a mají rychlou biologickou dostupnost. Pokud to dovolí farmakokinetické a farmakodynamické parametry, jsou vhodnými kandidáty pro řízené uvolňování léčiv. Důležitým parametrem u léčiv I. třídy je rozpustnost, kterou ovlivňuje vyprazdňování žaludku.

Léčiva II. třídy mají variabilní biologickou dostupnost a musí být upravena různými fyzikálními, chemickými a fyzikálně-chemickými metodami zvýšení rychlosti rozpouštění, aby se dosáhlo požadovaného terapeutického efektu. Důležitou úlohu hrají pomocné látky, které mohou významně ovlivnit biologickou dostupnost léčiva. Stejně jako léčiva I. třídy, mohou být použita na vývoj systémů s řízeným uvolňováním léčiv.

III. třída léčiv se vyznačuje nízkou biologickou dostupností a zvýšenou rozpustností. Absorpce je omezená rychlostí permeace přes střevní stěnu. Biologická dostupnost není závislá na uvolňování léčivé látky z lékové formy. Tato třída není vhodná pro řízené uvolňování léčiv.

Léčiva IV. třídy vykazují nízkou a variabilní biologickou dostupnost, která je charakterizována mnoha faktory, jako je např. střevní propustnost, rychlost rozpouštění, vyprazdňování žaludku atd. Jsou vhodná pro perorální lékové formy.<sup>10</sup>

Většina v praxi používaných léčiv patří do I. třídy a dále následuje třída II. Zcela nevhodná je IV. třída.

Obr. 2: Příklady léčiv typické pro jednotlivé třídy BCS systému<sup>11</sup>

		propustnost	
		vysoká	nízká
rozpustnost	vysoká	<b>třída I.</b>	<b>třída III.</b>
		velmi vhodné	problematické
		Propranolol, Metoprolol	Acyclovir, Captopril
		Diltiazem, Verapamil	Elenaprilat, Neomycin B
		Vitamíny rozpustné ve vodě	
	nízká	<b>třída II.</b>	<b>třída IV.</b>
		vhodné	nevhodné
		Nifedipin, Nicardipin	Chlorothiazid
Felodipin, Ketoconazol		Furosemid, Tobramycin	
	Mefenamová kyselina	Cefuroxim	

Termín *biowaver* se používá u regulačního procesu schvalování léčiv, kdy aplikace léčivého přípravku je schválena na základě důkazů o rovnocennosti LP jiným způsobem než prostřednictvím *in vivo* testování ekvivalence. *Biowavers* umožňuje upuštění od provádění finančně a časově náročných bioekvivalenčních experimentů a studií na biologickou dostupnost LP. Týká se především léčiv zařazených do I. třídy BCS systému. *Biowavers* založené na BCS systému platí pro LP s neřízeným uvolňování obsahující jednu nebo více aktivních farmaceutických složek (API), které jsou označeny podle programu WHO předběžného výběru léků za způsobilé. Předložené údaje by měly zajistit podobnost vybraného farmaceutického produktu na základě srovnání příslušných produktů.<sup>12</sup>

BCS kritéria pro *Biowavers* podle FDA:<sup>13</sup>

1. LL by měla být vysoce rozpustná a vysoce propustná (třída I.).
2. *Biowavers* se týká léčivých přípravků s neřízeným uvolňováním.

3. Disoluce LL z LP by měla být do 30 minut ve 3 doporučených médiích větší než 85%.
4. Tento lék by neměl mít nízký terapeutický index.
5. Pomocné látky použité v LP by měly mít stejné složení jako pomocné látky v přípravku schváleném FDA. Množství pomocných látek v přípravku by mělo být v souladu s jeho zamýšlenou funkcí.
6. Léčivo by mělo být stabilní v gastrointestinálním traktu.

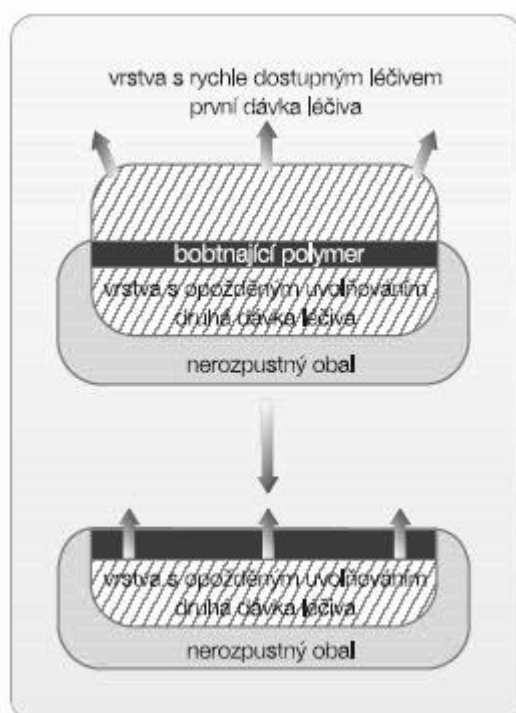
#### **7.2.4 Využití BCS systému**

Většina léčiv již používaných v praxi se řadí do I. třídy klasifikace BCS systému a používají se pro systémy s řízeným uvolňováním, kam patří.

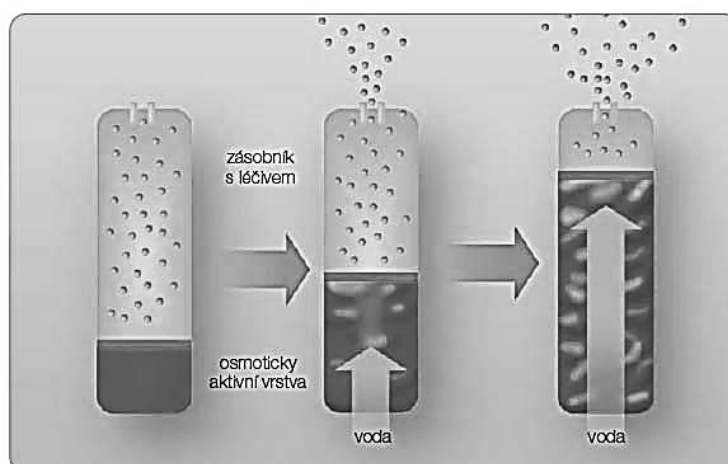
LP založené na systému mikropumpy jsou vhodné pro léčivé látky, které vyžadují delší dobu absorpce v tenkém střevě. Jsou složeny z mikročástic v rozmezí 200-400  $\mu\text{m}$  a mají bioadhezivní povrch. Multiporézní systém MODAS je založen na pozvolně se rozpadajícím obalu, který při styku s tekutinou v zažívacím traktu vytvoří polopropustnou membránu, přes kterou postupně proudí LL. V systému SCOT je uvolňování tablet založeno na osmotických principech a využívá různá osmotická modulační činidla, která poskytnou uvolňování léčiva podle kinetiky 0. řádu.

Do I. třídy klasifikace BCS systému patří i mikrosféry. Hydrogelové matrice systému DPHS mají počáteční rychlost uvolnění rovnu kinetice 0. řádu s následným rychlým uvolněním léčiva. Systém DUREDAS využívá dvouvrstvé tabletovací technologie, která poskytuje dvojitou rychlost uvolňování léčiva v jedné LF. Granulovaný modulační hydrogelový systém GMHS obsahuje hydrogel spolu s vzájemným polymerem a léčivem, které vytvořily granule a ty jsou poté stlačeny do tablety. Ochranný systém IPDAS pro střevní absorpci léčiva byl vyvinut pro zvýšení gastrointestinální snášenlivosti potenciálně dráždivého nebo ulcerogenního léčiva. Systém multipor se skládá z jádra tablety aktivního léčiva a hydrofobního polymerního obalu a systém pharazone obsahuje mikročástice, které se skládají z polymerů a léčivé látky v rozsahu velikostí od 5 do 125  $\mu\text{m}$ . Pulzující systém PPDS využívá pelety potažené polymerem specifickým pro řízené uvolňování léčiva. Stabilizovaný systém SPDS je určen pro pelety, které se skládají z nestabilních LL obsažených v jádru tablety a ochranné polymerní vnější vrstvy. U systému SMHS je použit hydrogel na bázi aplikačního systému, který poskytuje trvalé uvolňování bez použití speciálních povlaků nebo struktury.<sup>14</sup>

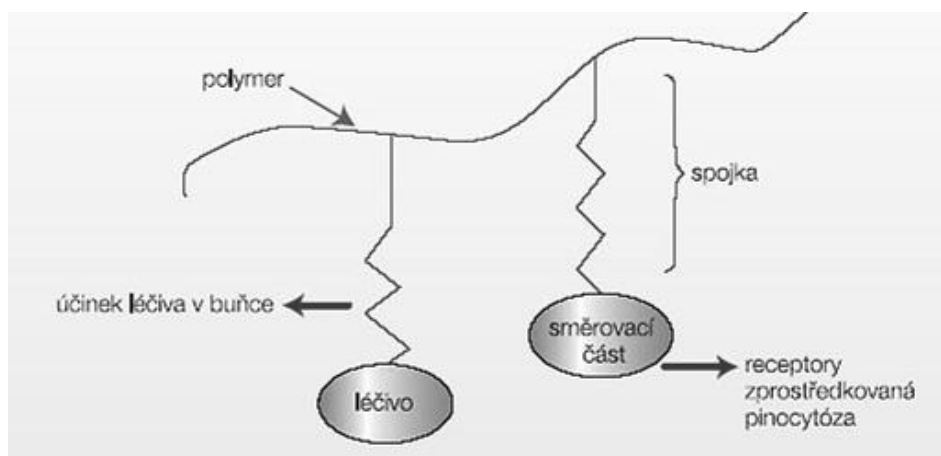
Obr. 3: Matricový systém zajišťující pulzní uvolňování a účinek léčiva<sup>15</sup>



Obr. 4: Uvolňování léčiva řízené osmózou. Systém obsahuje tři části. Zásobník s léčivem je v nepropustném obalu s otvorem. Část, která obsahuje osmoticky aktivní látku, je potažena semipermeabilní membránou. Přepážka, která odděluje obě části a současně působí jako píst. V organismu se přes membránu dostává voda, která rozpouští osmoticky aktivní látku a vzniklý tlak posunuje píst a uvolňuje léčivou látku přes otvor ven.<sup>16</sup>



Obr. 5: Schéma polymerního léčiva pro targeting. Směrovací části usměrňují částice k určitému typu buněk a receptory zprostředkovaná pinocytóza způsobí účinek léčiva pouze v zasažené buňce.<sup>17</sup>



Do II. třídy klasifikace BCS systému patří léčiva, která mají omezenou rozpustnost nebo rychlost rozpouštění, a je tím výrazně ovlivněna absorpce a biologická dostupnost. K přípravě LP v rámci této třídy patří klasické mikromletí, stabilizace vysokoenergetických stavů, dále zahrnuje povrchově aktivní látky, formulace jako emulzí nebo mikroemulzních systémů, pevných disperzí a použití komplexotvorného činidla. Za nadějně jsou považovány nanočásticové systémy, jako jsou nanoemulze, nanosuspenze nebo nanokrystaly.

Mezi příklady lékových forem léčiv II. třídy patří softgel, zer-os-tablet a triglas. Softgel je měkká želatinová kapsle, která je formulována tak, že obsahuje vysokou koncentraci hydrofobního léčiva v roztoku hydrofilní nebo lipofilní kapaliny. Zer-os-tablet je osmotický systém vyvinutý speciálně pro lipofilní látky. Tableta má jádro tvořené hydrofobní LL spolu s gelem, který tvoří standardní pomocné látky a ty po kontaktu s vodou vytvoří gel vhodné viskozity. Vytvořená suspenze hydrofobního léčiva je následně vytlačena ven z pórů gelu. Systém triglas je založen na formulaci léčiva s vhodnými aditivami za vzniku pevného roztoku léčiva.

V III. třídě klasifikace BCS systému se nejčastěji ovlivňuje pomocí vhodných pomocných látek místo uvolňování léčivé látky nebo míra biologické ekvivalence a pomocí začlenění funkčních látek do lékové formy se upravuje metabolická aktivita enzymových systémů.



Léčivé přípravky v rámci této třídy zahrnují perorálně podávané antigeny a žaludeční retenční systém. Systém perorálně podávaných antigenů se zaměřuje na dva přístupy průchodu přes střevní epiteliální tkáň. Jedná se o výrobu mikronů a nanočástic v definovaném rozmezí velikosti, které obsahují antigeny dispergované v biologicky odbouratelných polymerních matricích, a výrobu lipozomů-polymerizované liposomální vezikuly. V lipozomech jsou antigeny v uzavřené stabilní membráně.

Žaludeční retenční systém obsahuje léčivé přípravky složené z polymerních jednotek, které zůstávají v žaludku delší dobu, pokud jsou přijímány společně s jídlem, a zajistí tak nepřetržité uvolňování léčivé látky. Sloučeniny jako L-dopa nebo ciprofloxacin vykazují úzké absorpční spektrum v horní části střeva.<sup>14</sup>

Léčiva IV. třídy BCS systému jsou spíše výjimkou a zpravidla se nevyvíjejí. Příkladem je Taxol, který se podává v injekční formě. Požadavky na podání léčiv IV. třídy může být dosaženo kombinací technologií II. a III. třídy.

### **7.3 Lipinského „pravidlo tří pětěk“**

Proces vývoje léků je velmi nákladný a zdlouhavý. BCS systém poskytuje možnost zasahovat do struktury léčiva a ovlivňovat fyzikálně-chemické vlastnosti, aby byla zvýšena biologická dostupnost léčiva. Je důležité optimalizovat dávku léčiv a farmakokinetiku přímo v počátečních fázích vývoje léčiv a u nevyhovujících formulací nepokračovat ve výzkumu.

Pro empirické posouzení vstřebatelnosti LL navrhl Lipinsky „pravidlo tří pětěk“, které je použito pro screening sloučenin, které by mohly mít špatný absorpční profil.

„Pravidlo tří pětěk“ uvádí, že špatná absorpce nebo permeace je pravděpodobná, pokud:

- molekulová hmotnost je větší než 500,
- dekadický logaritmus rozdělovacího koeficientu v systému oktán-1-ol/voda je větší než 5,
- molekula má 5 a více vodíkových donorů,
- molekula má více než 10 vodíkových akceptorů.<sup>18</sup>

Zejména u léčivých látek z IV. třídy BCS systému je důležité zvýšit rozpustnost, aby byla dosažena vhodná biologická dostupnost. Zvýšení biologické dostupnosti těžce rozpustné LL při zachování její biologicky aktivní struktury lze docílit chemicky,

fyzikálně nebo biologicky. Většinou se tyto procesy dělí na úpravu samostatné LL nebo úpravu LF.<sup>4</sup>

Mezi chemické metody zvýšení rozpustnosti LL patří příprava soli, kdy většina LL je ve formě kationtu a menší část ve formě aniontu. Soli jsou iontové sloučeniny, které se rozpouštějí v polárních rozpouštědlech lépe než neiontové látky. Další metodou je příprava hydrátů, která je omezená možností dehydratace LL, nebo příprava glykosylovaných derivátů, ve které se naváže biologicky odštěpitelná cukerná složka na molekulu obtížně rozpustné LL a tím vznikne rozpustnější sloučenina, která lépe prochází stěnou tenkého střeva. Chemické metody zvýšení rozpustnosti doplňuje příprava kokystalů a proléčiv. Proléčiva jsou složeny z neaktivních LL, které se přemění na biologicky účinné metabolity až po předchozí biotransformaci v organismu.

Mezi fyzikální metody zvýšení rozpustnosti LL patří příprava krystalického polymorfu nebo amorfů. Jednotlivé polymorfy se mohou lišit svými vlastnostmi a mají různý profil rozpustnosti. Obecně platí, že amorfní forma je lépe rozpustná než forma krystalická. Amorfy jsou ale většinou nestabilní, a proto by měly být v LP stabilizovány.<sup>4</sup> Další metodou je řízená krystalizace, kdy můžeme získat optimální tvar, velikost a distribuci krystalů. Speciální metody zvýšení rozpustnosti LL jsou lyofilizace a sušení, které produkují lépe dispergovatelné formy, a mikronizace LL, která se provádí v suchém, zmrazeném nebo mokřém stavu.

Nejčastější metody zvýšení rozpustnosti těžce rozpustných LL úpravou lékové formy speciálními technologiemi jsou zprostředkované rozpouštění, při kterém přísadou vhodné pomocné látky lze převést pevné látky do roztoku. Mezi takové pomocné látky patří tenzidy, hydrotropní přísady a kosolventy.<sup>19</sup> Další metodou je tvorba komplexů s vhodnou látkou. Při styku komplexu s tělesnou tekutinou se komplex rozpadá. Nejčastěji se používají inkluzní komplexy s cheláty.

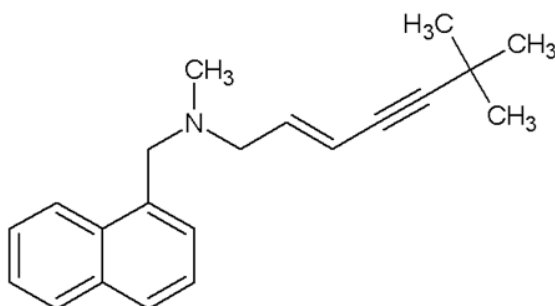
Změnou pH se u léčiv mění charakter slabých kyselin, zásad a jejich solí. Tyto látky se v gastrointestinálním traktu vlivem rozličného pH uvolňují nerovnoměrně. Modifikátory pH vedou ke zvýšení rozpustnosti a zajišťují konstantní uvolňování LL v jednotlivých částech GIT. Efektivita modifikátoru stoupá s jeho rostoucí disociační konstantou a klesá se zvyšující se rozpustností.<sup>20</sup>

K dalším technologiím patří příprava tuhých disperzí, užití interaktivní práškové směsi a mikrogranulace. Principem užití interaktivní práškové směsi je dlouhodobé mísení

směsi malého množství LL s pomocnými látkami, které jsou řádově většího rozměru. Tato metoda se používá při formulaci tablet nebo při přípravě antiastmatik k inhalační aplikaci. Interaktivní práškové směsi a mikrogranulace umožňují rychlejší rozpuštění účinné látky z pevné LF tím, že zvyšují povrch LL. Nejčastěji se lisují do tablet nebo plní do tvrdých želatinových tobolek.

## 7.4 Terbinafin

Obr. 6: Strukturální vzorec terbinafinu<sup>21</sup>



Chemický název: [(2E)-6,6-dimethylheptyl-2-en-4-yn-1-yl](methyl)(naftalen-1-yl)methyl)-amin

Sumární vzorec: C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>N

Molekulová hmotnost: 291,43 g/mol

Vazba na proteiny: > 99%

Metabolismus: játra

Poločas rozpadu: 36 hodin

Terbinafin (TRB) se používá v léčbě mykotických onemocnění, především onychomykózy, tinea capitis vyvolané dermatofyty, tinea corporis, tinea cruris a tinea pedis. Jedná se o allylaminový derivát a jeho vliv na houby je výhradně fungicidní, pouze proti *Candida albicans* je fungistatický. Mechanismus účinku spočívá v inhibici skvalenepoxidázy, což vede k nedostatku ergosterolu a hromadění skvalenu v buňkách, které pak hynou. Používá se perorálně i topicky. Rovněž byla u něho prokázána antibakteriální aktivita proti gramnegativním a grampozitivním bakteriím.

TRB je velmi lipofilní, a proto se koncentruje ve vysokých koncentracích v nejvrchnějších vrstvách epidermis pokožky, mazu, vlasů a nehtů a přetrvává v těchto orgánech po dobu několika týdnů až měsíců. Jelikož je těžce rozpustný ve vodě, musí se zvýšit jeho rozpustnost a biologická dostupnost.<sup>22</sup>

Existuje mnoho metod, jak zlepšit biologickou dostupnost a rozpustnost ve vodě špatně rozpustných látek. Metody zahrnují povrchově aktivní látky, mikronizaci a vytvoření pevné disperze, která se vztahuje k rozstříkovaní jedné nebo více účinných látek v inertní nosič nebo matici v pevném stavu připravenou metodou tání, rozpouštěním ve vhodném rozpouštědle nebo metodou, která zahrnuje oba postupy.<sup>23</sup>

Často se TRB používá ve formě komerčně přijatelných kapalných přípravků hlavně u perorální formy především u dětí, aby se zvýšila biologická dostupnost a zamaskovala se nepříjemná hořká chuť. TRB se v perorální formě vyskytuje často ve formě emulzí, často v emulzi voda v oleji.<sup>24</sup>

Na povrchové mykózy nebo pásový opar se používá ve formě 1% krému, roztoku nebo spreje a je známý nejčastěji pod obchodní značkou Lamisil. Perorálně se podává pro mykózy uložené hluboko pod povrchem nehtů, aby se dosáhlo požadované hladiny koncentrace TRB v místě infekce. Pro mykózy na nehtech prstů se užívá jednou denně po dobu 6 týdnů a u mykóz na nehtech u nohou se podává jednou denně po dobu 12 týdnů. Léčba terbinafinem je dlouhodobá. Vážný nežádoucí účinek, který se může objevit při užívání tablet TRB, je hepatotoxicita, a proto by měli být prováděny u pacientů jaterní testy. Další nežádoucí účinky jsou gastrointestinální potíže, bolesti hlavy, závratě, oslabení imunitního systému, ztráta chuti k jídlu, vyrážka, kopřivka a další.

## **8 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

### **8.1 Použité přístroje**

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

Digitální analytické váhy CAHN 26, Cahn instruments, USA

Digitální pH metr HANNA HI 221 (Fisher Scientific)

DSC 200 F3 Maia, NETZSCH

Vícemístná míchačka TELESYSTEM HP 12 P, VARIOMAG, USA

Vakuová sušárna, BINDER

### **8.2 Použité suroviny**

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

Čištěná voda (Faf UK HK)

Ethylmethylketon (KULICH PHARMA, HK)

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

Terbinafin hydrochlorid (Zentiva)

### **8.3 Příprava baze terbinafinu**

Na analytických vahách bylo naváženo 12,0 g terbinafinu hydrochloridu. V odměrném válci bylo odměřeno 3 000 ml čištěné vody, která byla zahřívána na teplotu asi 80 °C, aby se urychlilo rozpuštění terbinafinu hydrochloridu. Kádinka se umístila pod míchadlo a kapalina byla míchána do rozpuštění léčiva. Následovala filtrace, aby bylo zabráněno přítomnosti zbylých chloridových iontů. Byl přikapáván amoniak pro dosažení pH 7,0 a hodnota pH průběžně kontrolována digitálním pH-metrem. Kádinka byla opět umístěna pod míchadlo. Z roztoku byla vysrážena baze TRB. Tekutina byla dekantována a baze TRB byla sušena ve vakuové sušárně.

### **8.4 Příprava polyesterových matric**

Matrice byly připraveny z polyesterových nosičů 3T nebo PLGA a baze terbinafinu, který byl v matrici zastoupen ve čtyřech různých koncentracích: 10%, 15%, 25% nebo 30%. Celková hmotnost matrice byla 2,00 g.

Bylo použito několik způsobů přípravy. Navážené množství nosiče a léčiva bylo rozpuštěno v 10 ml ethylmethylketonu. Následně byl roztok vylit na antiadhezivní podložku a vzorky byly vloženy do vakuové sušárny, kde byly 1 den a 3 dny sušeny.

Další matrice byly připraveny ze čtyř různých koncentrací TRB a nosičů, které byly rozpuštěny v 10 ml ethylmethylketonu. Po důkladném rozpuštění léčiva a nosiče bylo přidáno 20 ml čištěné vody a vzorky byly vloženy na 1 den do lednice. Poté byly vylity na antiadhezivní podložku a nechaly se 1 den a 3 dny sušit ve vakuové sušárně.

Současně byly připraveny matrice o koncentraci 10% a 15% TRB a nosiči PLGA a 3T o hmotnosti 1,00 g, které byly rozpuštěny v 5 ml ethylmethylketonu. Bylo přidáno 10 ml čištěné vody a ihned byly vylity na antiadhezivní podložku a sušeny 1 den a 3 dny.

Pro dosažení větší přesnosti měření byly připraveny matrice o koncentraci 10%, 15%, 25% a 30% TRB a nosiči 3T a PLGA o hmotnosti 1,00 g, které byly rozpuštěny v 5 ml ethylmethylketonu a vylity na antiadhezivní podložku. Následně byly ponechány k sušení ve vakuové sušárně 1 den a 3 dny.

### **8.5 Příprava vzorků pro měření teploty skelného přechodu**

Nejdříve byl zvážen samotný kelímek s víčkem a váha byla zaznamenána. Vzorek byl naplněn do kelímku, aby nebyla překročena nastavená hmotnost 50,0 mg. Kelímek se vzorkem byl uzavřen, zvážen a výsledná hmotnost byla zjištěna odečtením hmotnosti

prázdného kelímku. Byly naváženy duplicitní vzorky samotných polyesterových nosičů a léčiva, nosičů a léčiva rozpuštěných v ethylmethyketonu vylitých na antiadhezivní podložku a nosičů a léčiva rozpuštěných v ethylmethyketonu, ale před vylitím zředěných čištěnou vodou.

## **8.6 Měření teploty skelného přechodu**

Teplota skelného přechodu byla měřena na přístroji DSC 200 F3 Maia značky NETZSCH. Přístroj byl zapnut minimálně hodinu před měřením a byl proplachován inertním plynem, kterým byl dusík. Navážený vzorek byl vložen do přístroje společně s referenčním vzorkem, kterým byl při měření prázdný kelímek. Vzorky byly vloženy do příslušných držáků, které odpovídaly zkušebnímu a referenčnímu vzorku.

Do softwaru byl zadán název měření, hmotnost prázdného kelímku, hmotnost vzorku, hmotnost referenčního vzorku a průběh ohřevu a chlazení. První ohřev vzorků byl realizován v rozsahu od -20 °C do 90 °C rychlostí 10 °C/min. Při této teplotě 90 °C byly ponechány po dobu 2 minut. Pak byly ochlazeny na teplotu -50 °C a následoval druhý ohřev opět na teplotu 90 °C rychlostí 10 °C/ min. Teplota skelného přechodu ( $T_g$ ) byla zjištěna z druhého ohřevu odečtením v inflexním bodě termogramu.

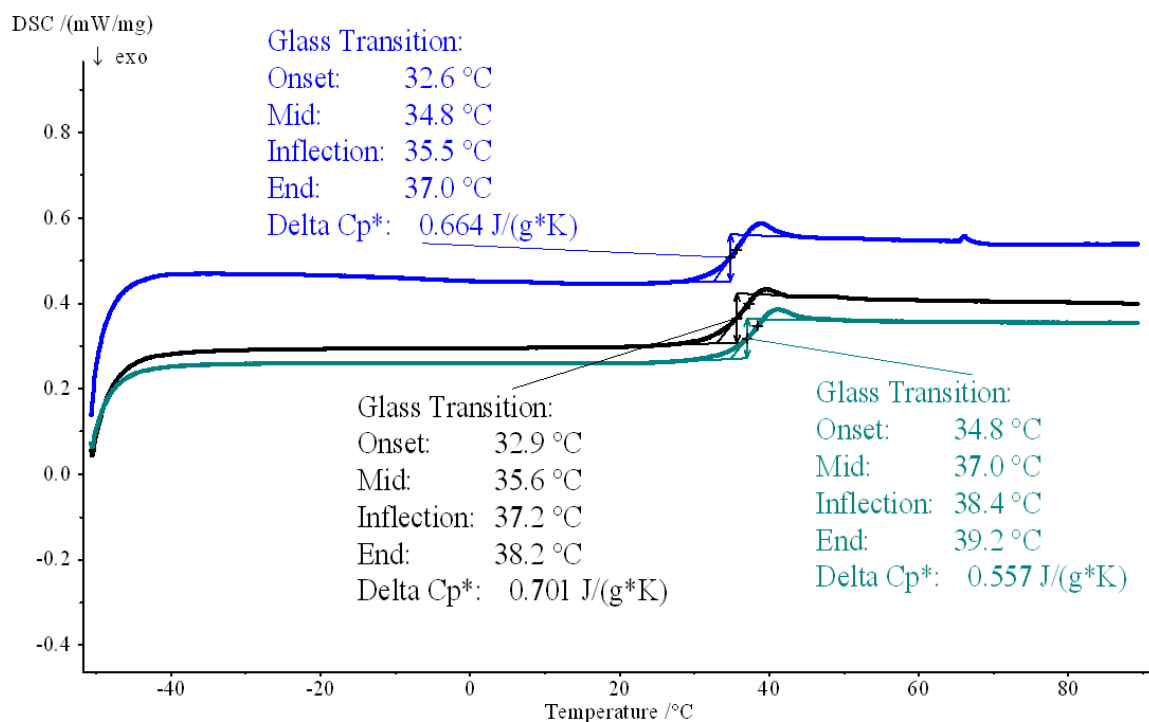
## **8.7 Vyhodnocení měření**

Pro vyhodnocení měření DSC byl použit počítačový program Netzsch Proteus<sup>®</sup> Software, Version 5.2.0. Byly vybrány křivky druhého ohřevu z každého měření a určen příslušný pravý a levý limit tak, aby zaujímal největší lineární rozsah před a za skelným přechodem. Následně byla z nastavených parametrů vygenerována hodnota teploty skelného přechodu.<sup>1</sup>

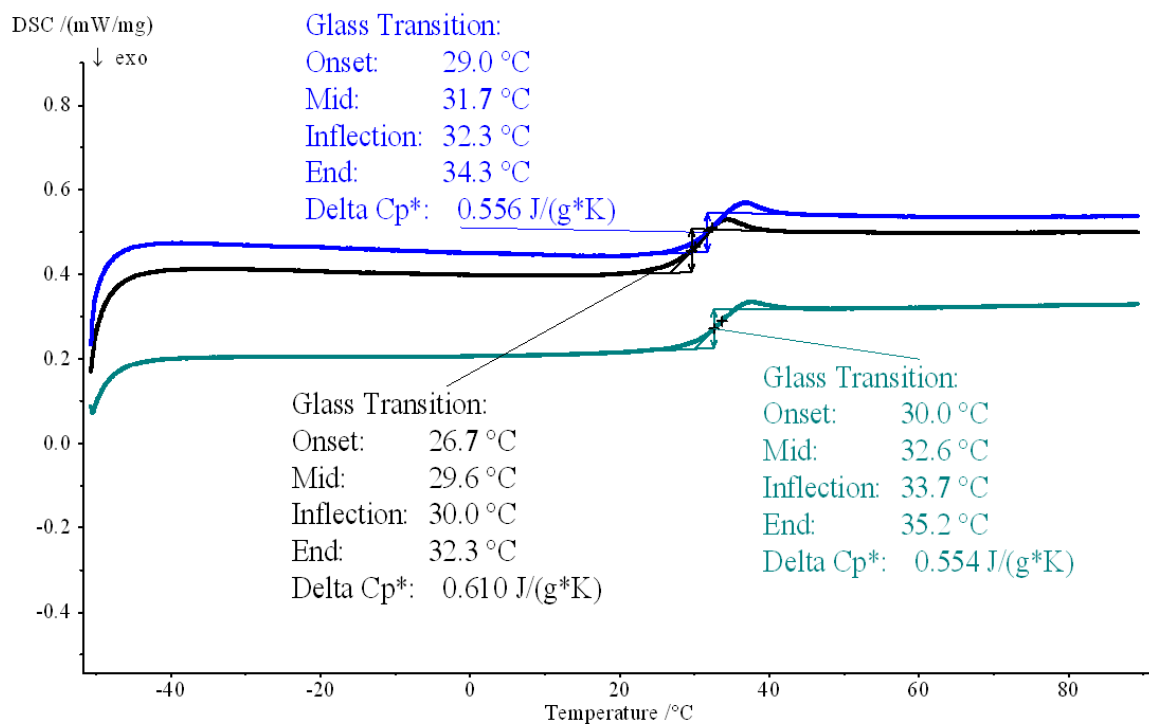
## 9 VÝSLEDKY

### 9.1 Vyhodnocení teplot skelného přechodu

Obr. 7: Teplota skelného přechodu polyesteru PLGA

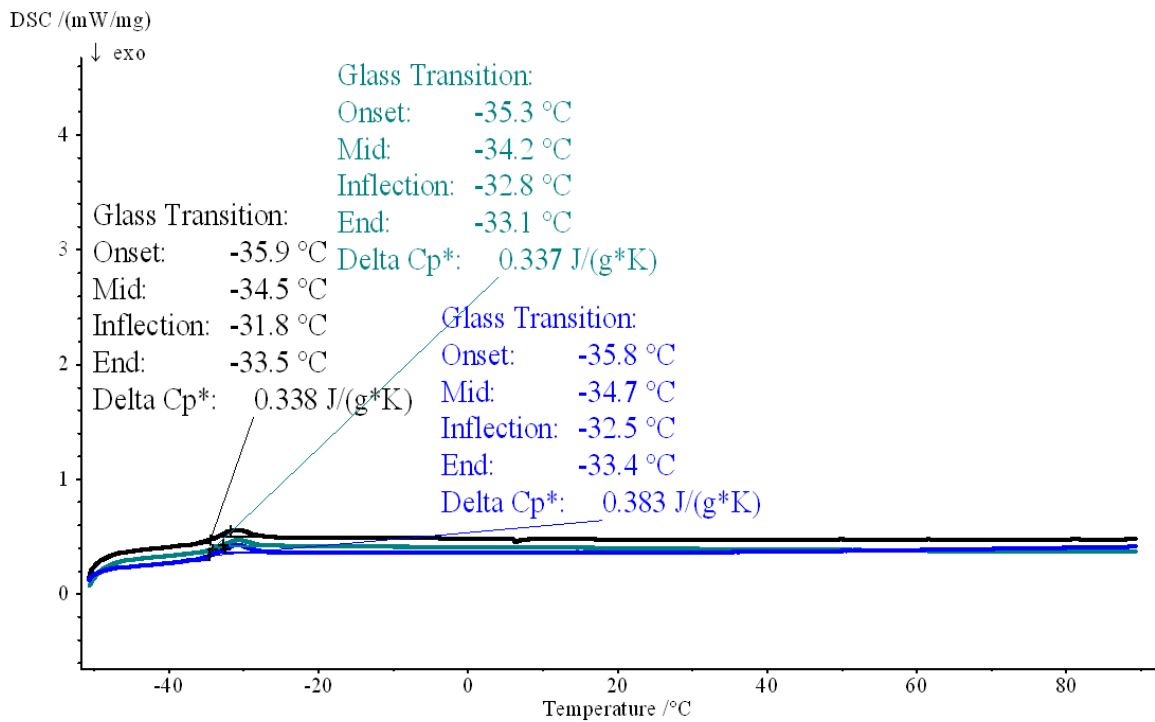


Obr. 8: Teplota skelného přechodu polyesteru 3T

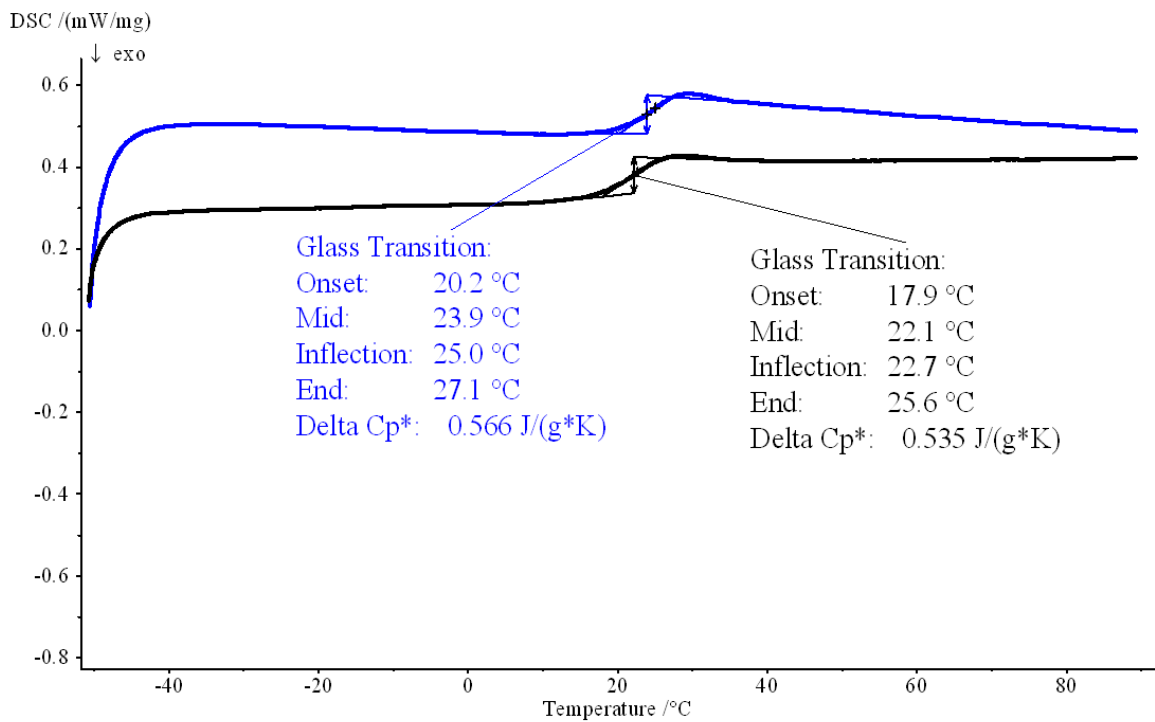




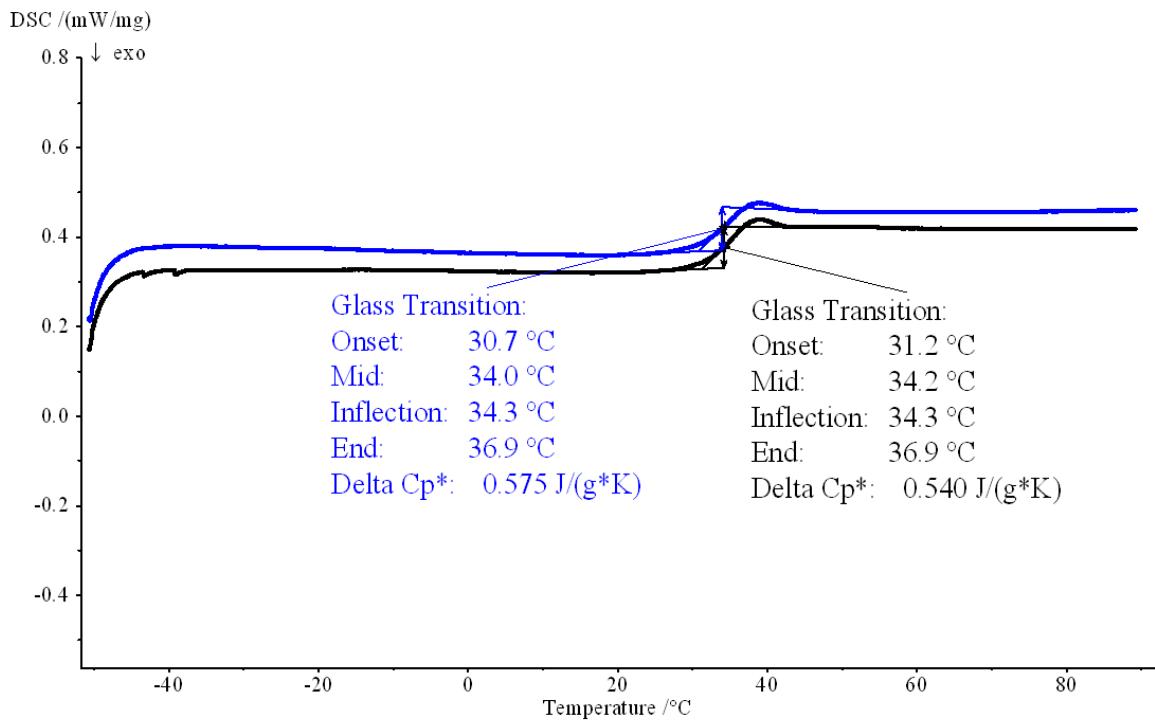
Obr. 9: Teplota skelného přechodu baze terbinafinu



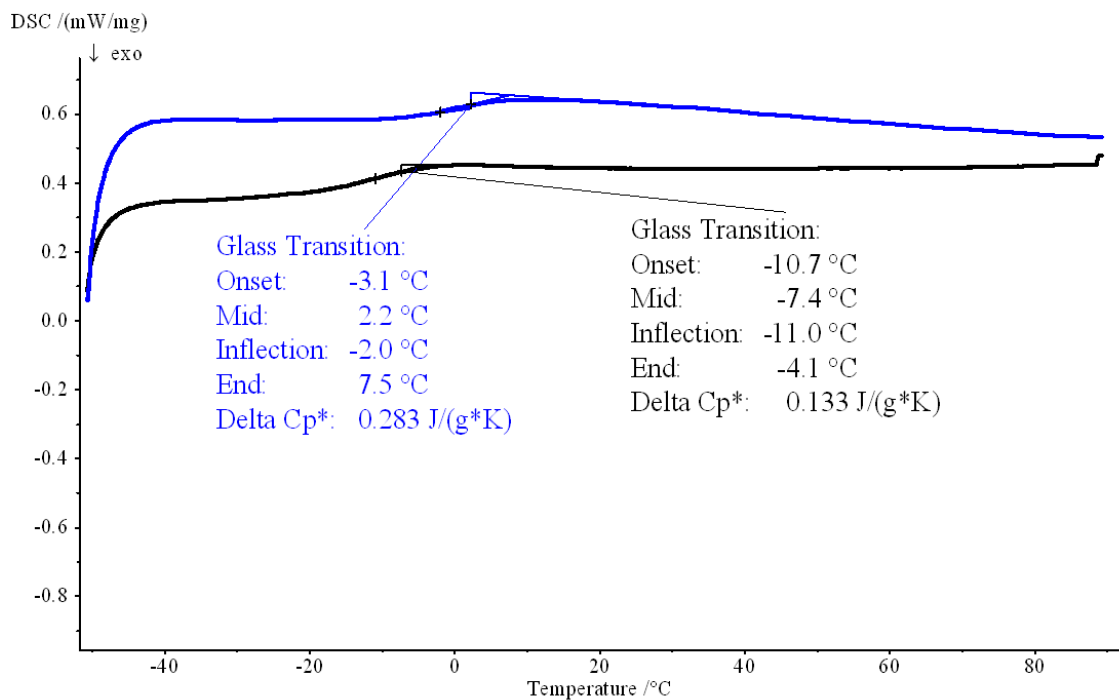
Obr. 10: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru PLGA s 10 % baze terbinafinu po 1 dni sušení



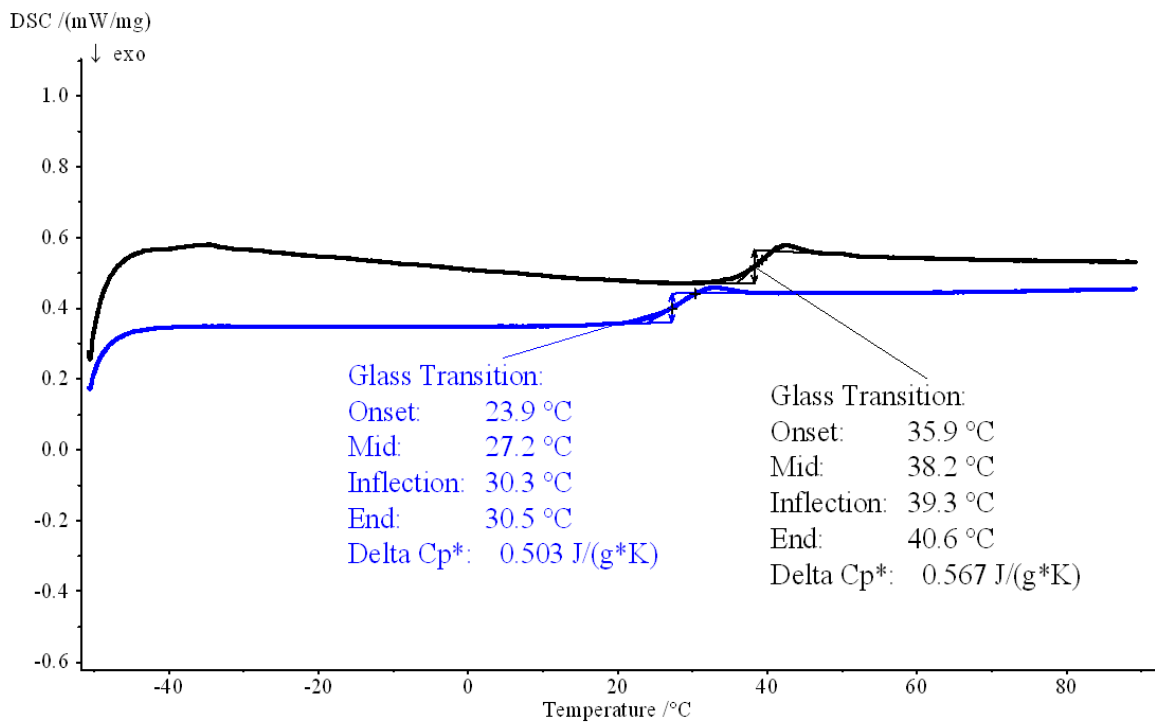
Obr. 11: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru PLGA s 10 % baze terbinafinu po 3 dnech sušení



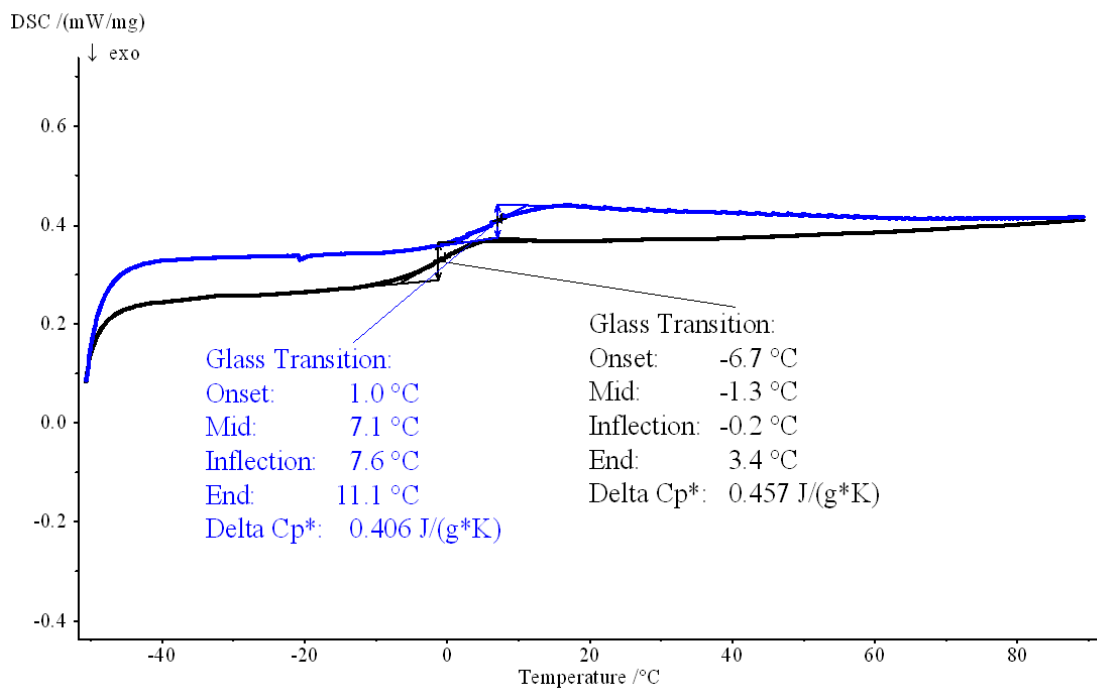
Obr. 12: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru PLGA s 15 % baze terbinafinu po 1 dni sušení



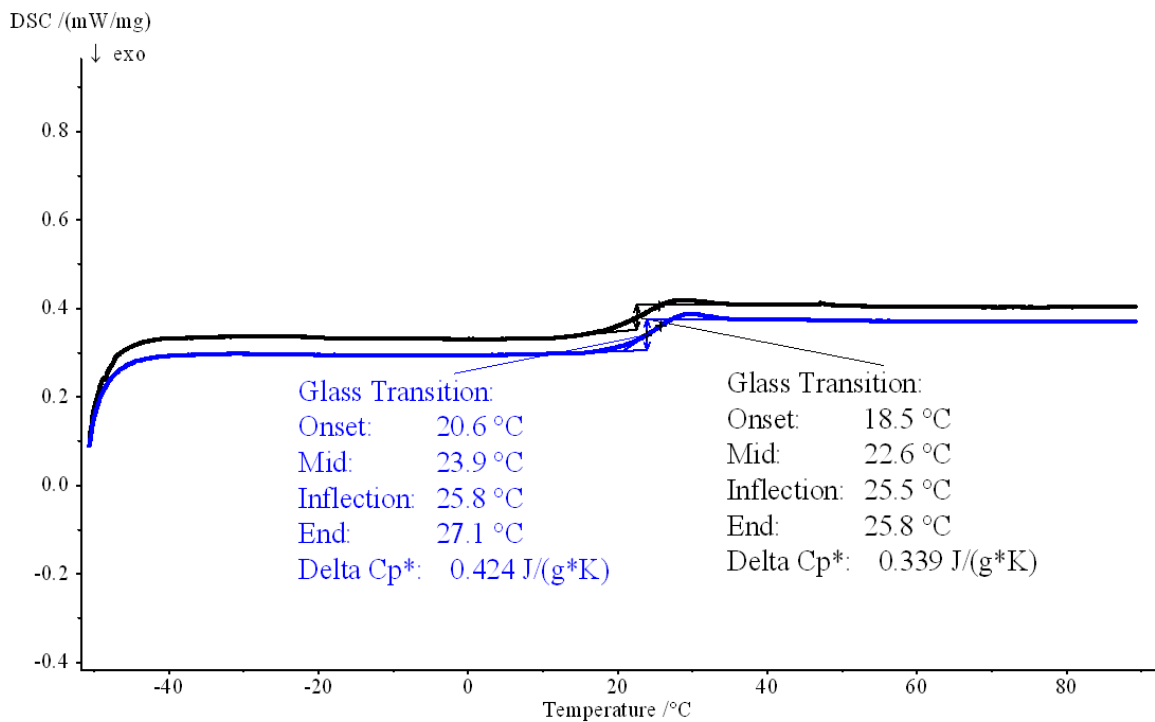
Obr. 13: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru PLGA s 15 % baze terbinafinu po 3 dnech sušení



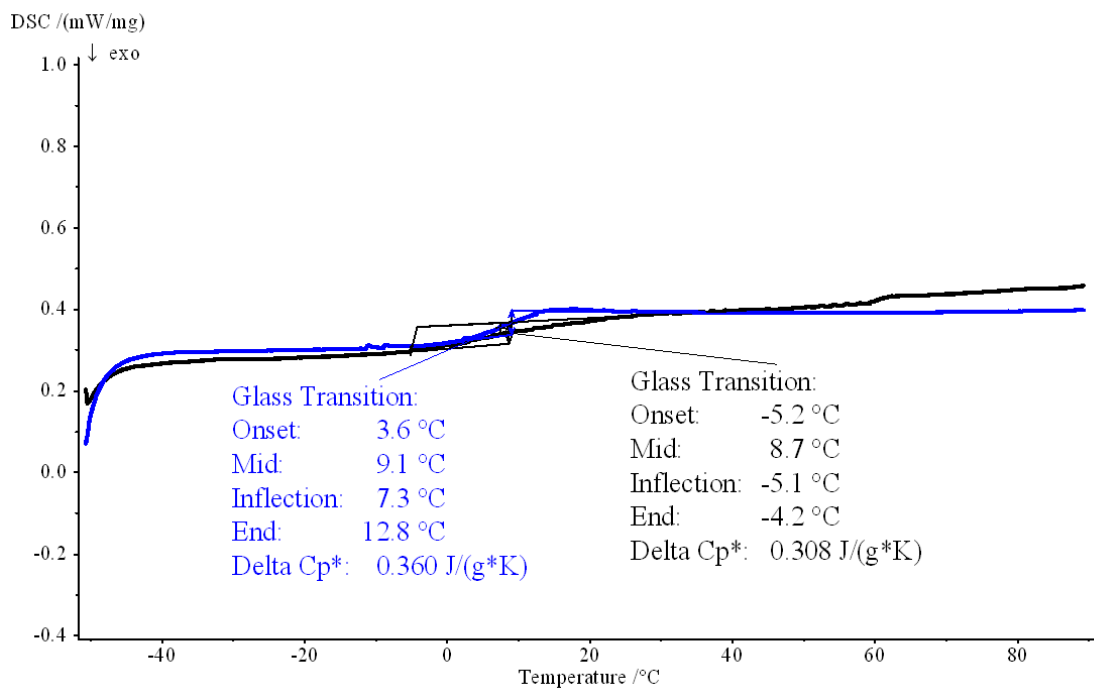
Obr. 14: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru PLGA s 25 % baze terbinafinu po 1 dni sušení



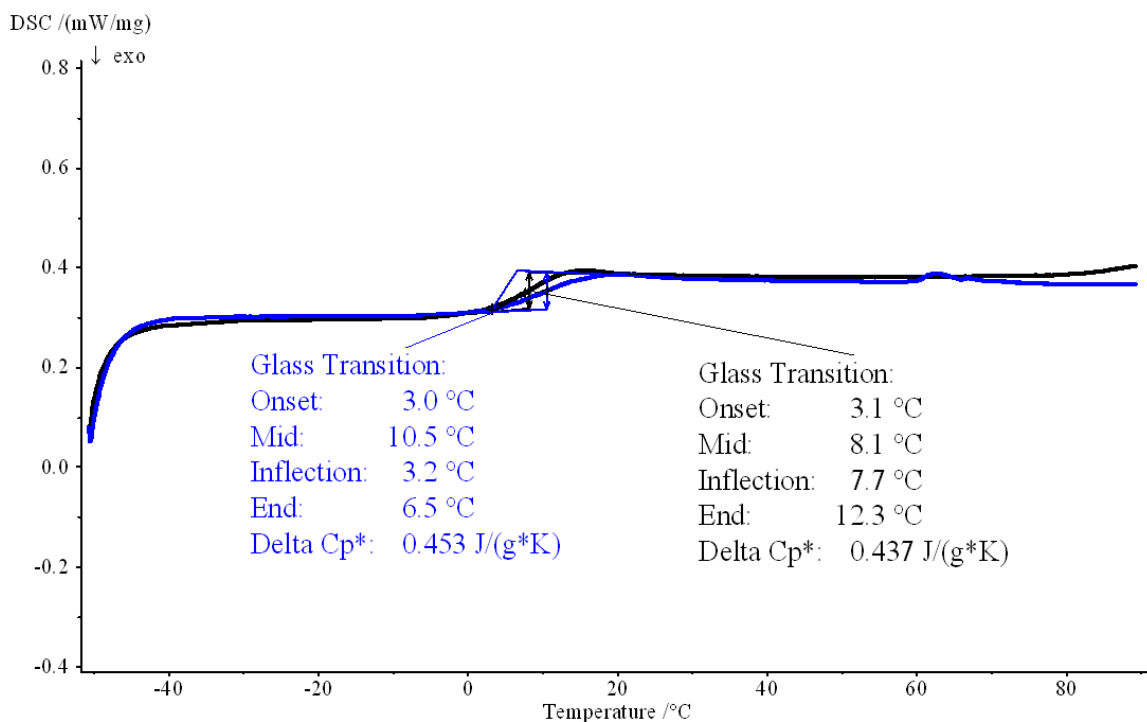
Obr. 15: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru PLGA s 25 % baze terbinafinu po 3 dnech sušení



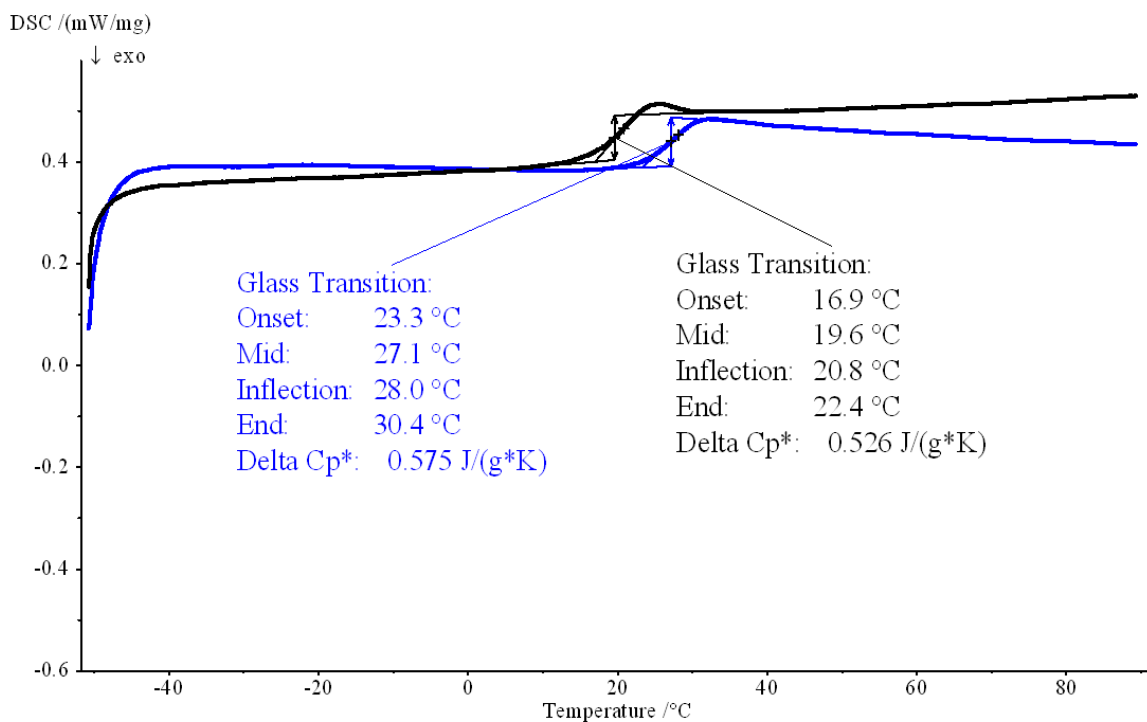
Obr. 16: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru PLGA s 30 % baze terbinafinu po 1 dni sušení



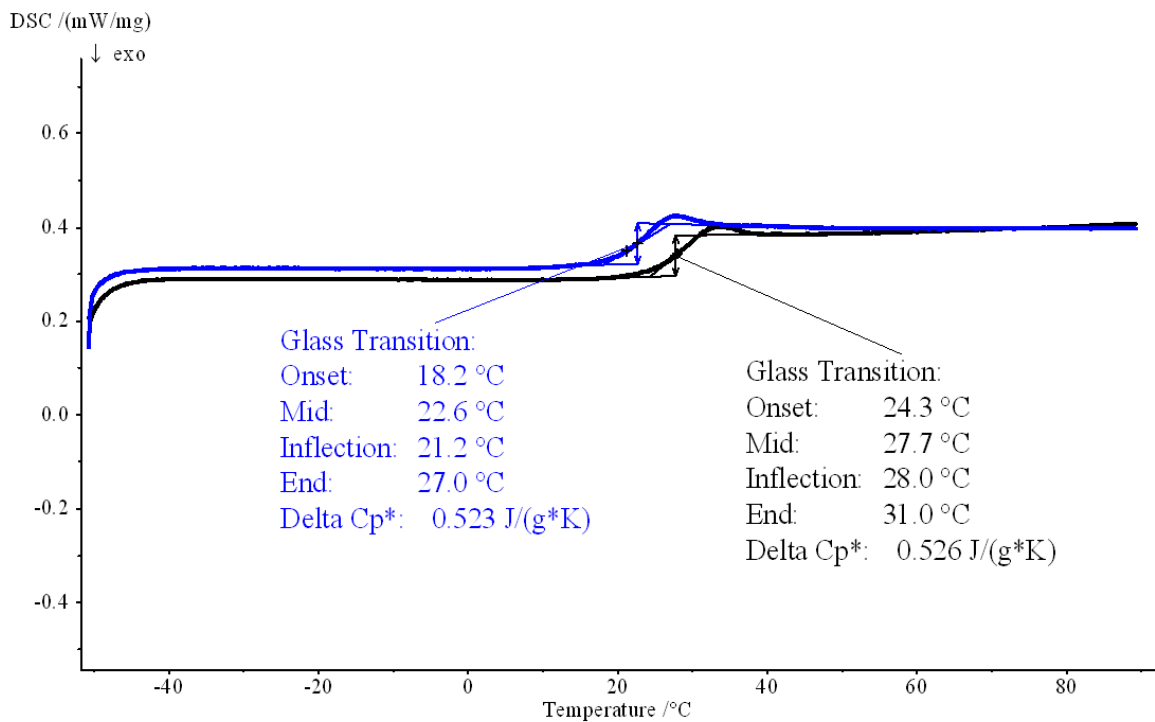
Obr. 17: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru PLGA s 30 % baze terbinafinu po 3 dnech sušení



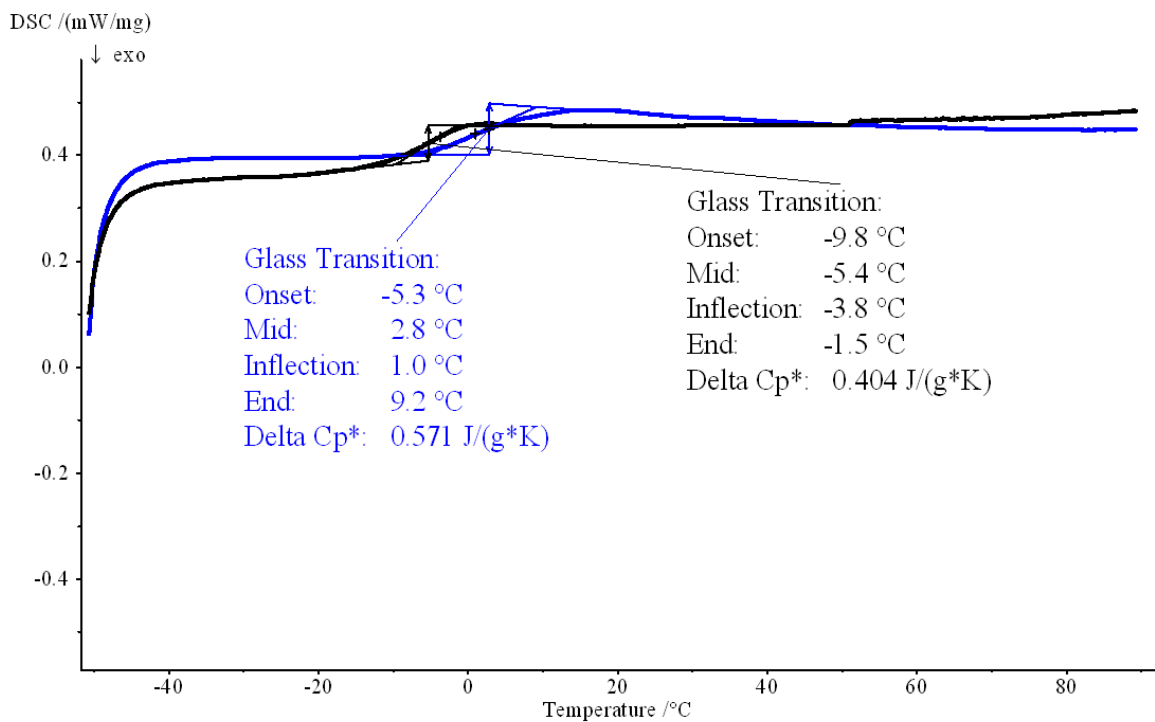
Obr. 18: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru 3T s 10 % baze terbinafinu po 1 dni sušení



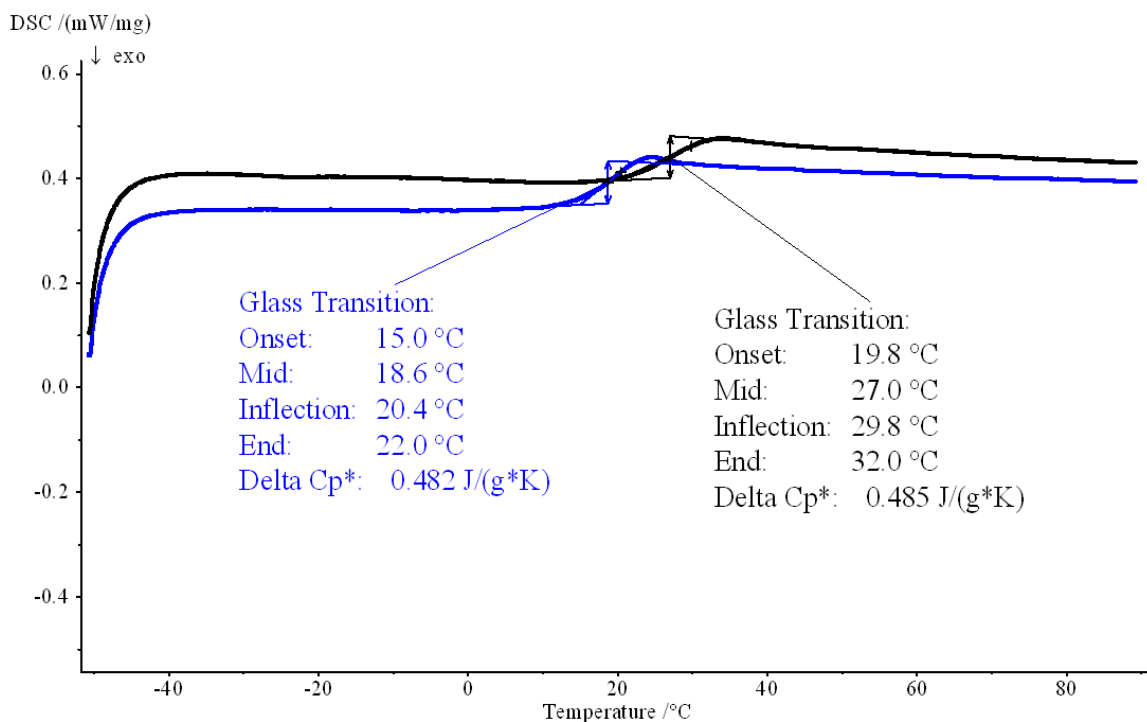
Obr. 19: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru 3T s 10 % baze terbinafinu po 3 dnech sušení



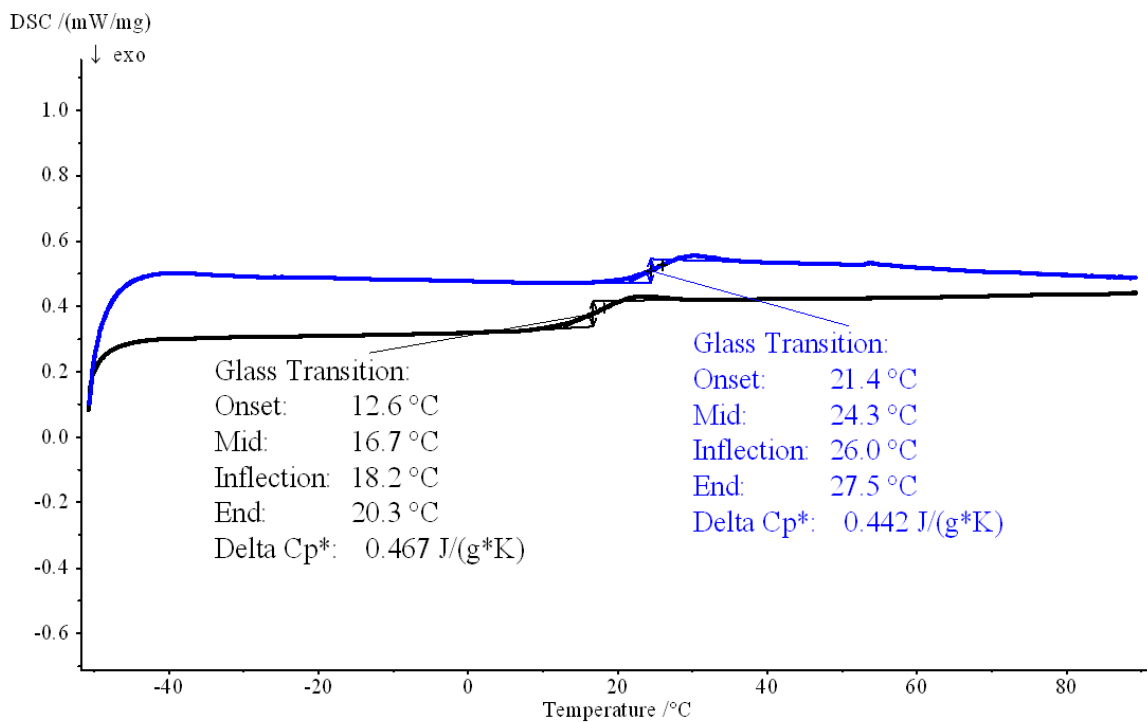
Obr. 20: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru 3T s 15 % baze terbinafinu po 1 dni sušení



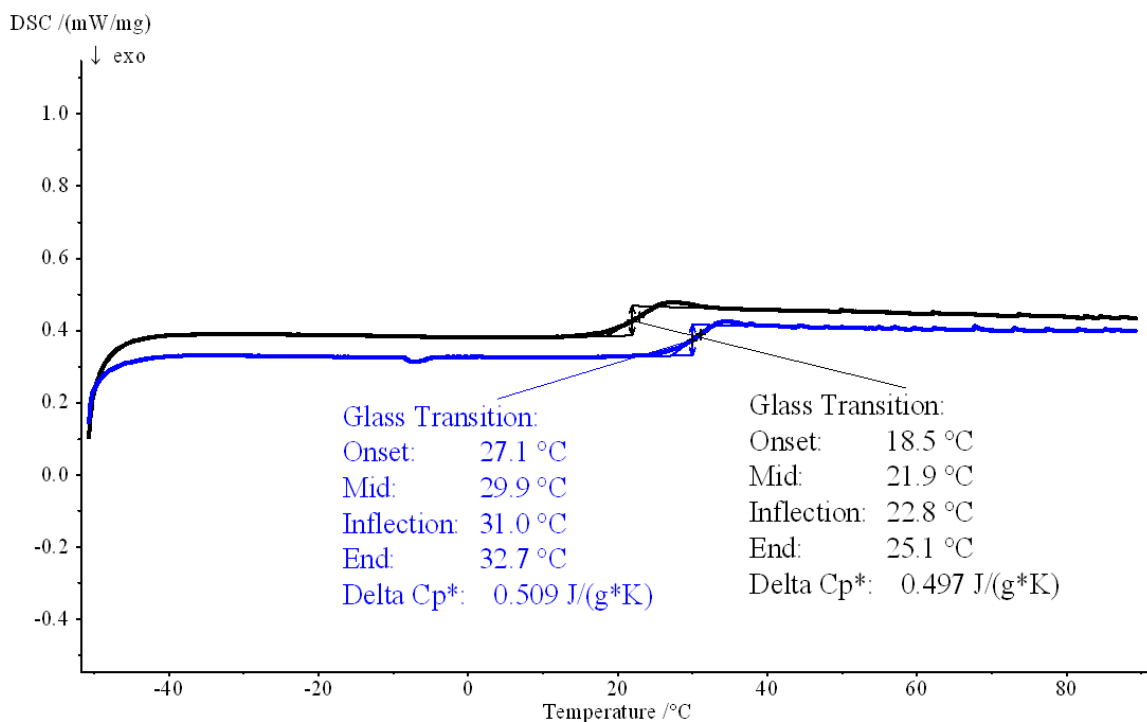
Obr. 21: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru 3T s 15 % baze terbinafinu po 3 dnech sušení



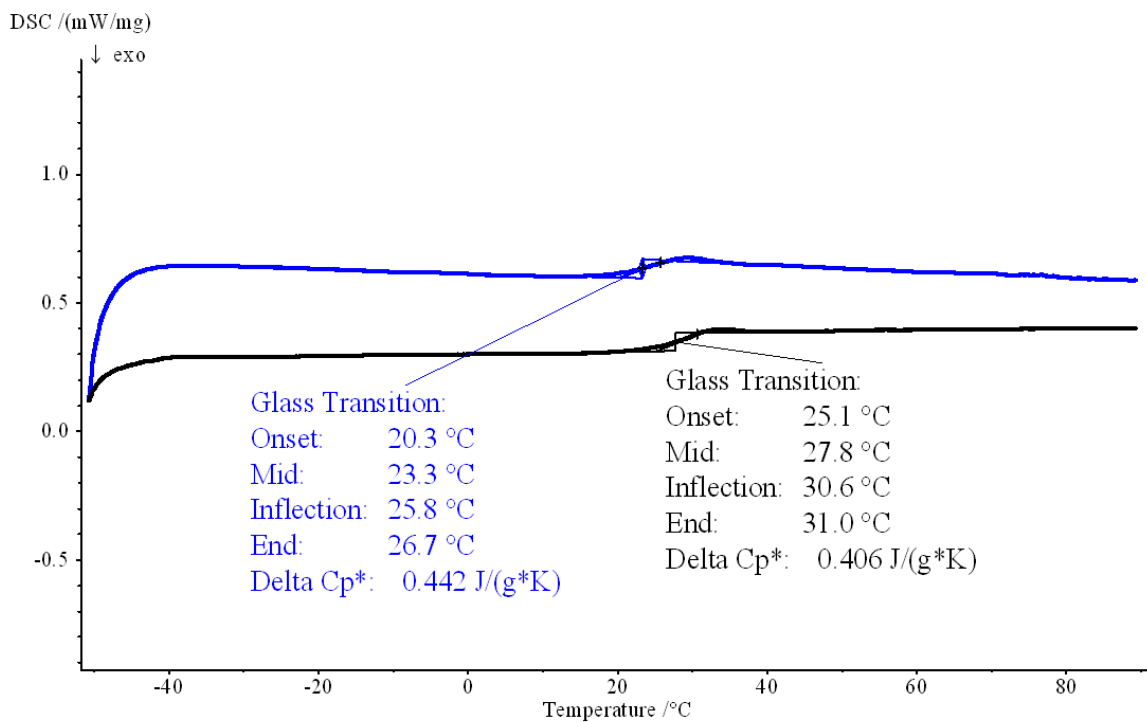
Obr. 22: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru 3T s 25 % baze terbinafinu po 1 dni sušení



Obr. 23: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru 3T s 25 % baze terbinafinu po 3 dnech sušení

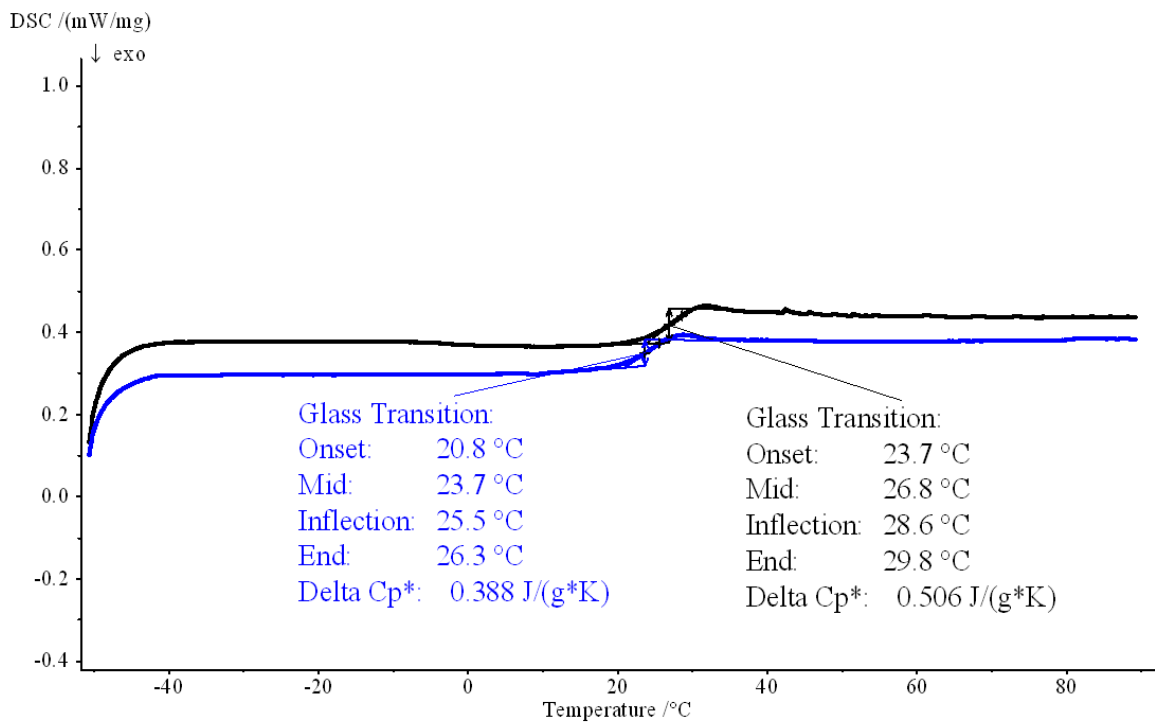


Obr. 24: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru 3T s 30 % baze terbinafinu po 1 dni sušení



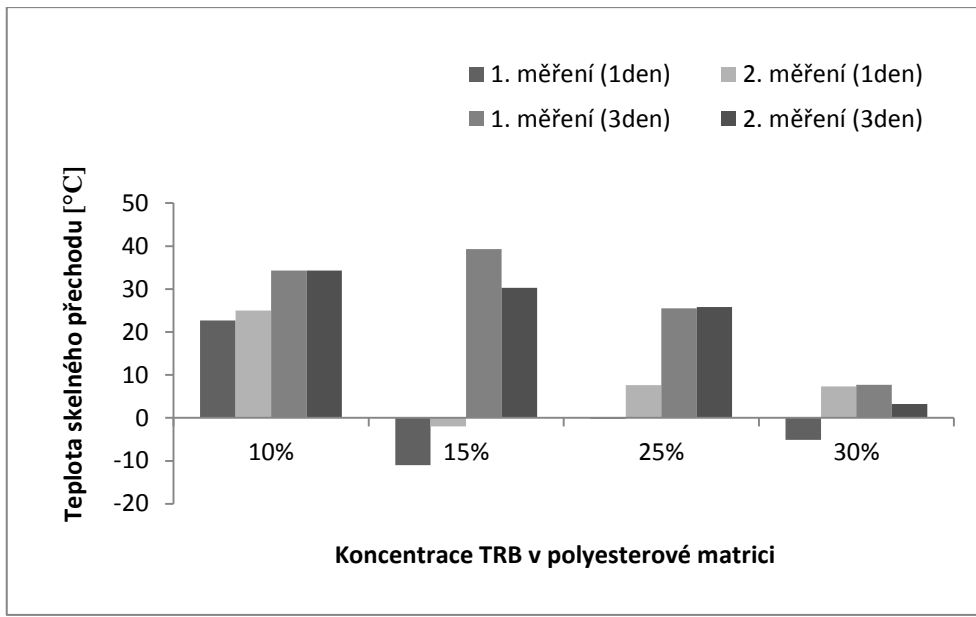


Obr. 25: Teplota skelného přechodu matrice z polyesteru 3T s 30 % baze terbinafinu po 3 dnech sušení

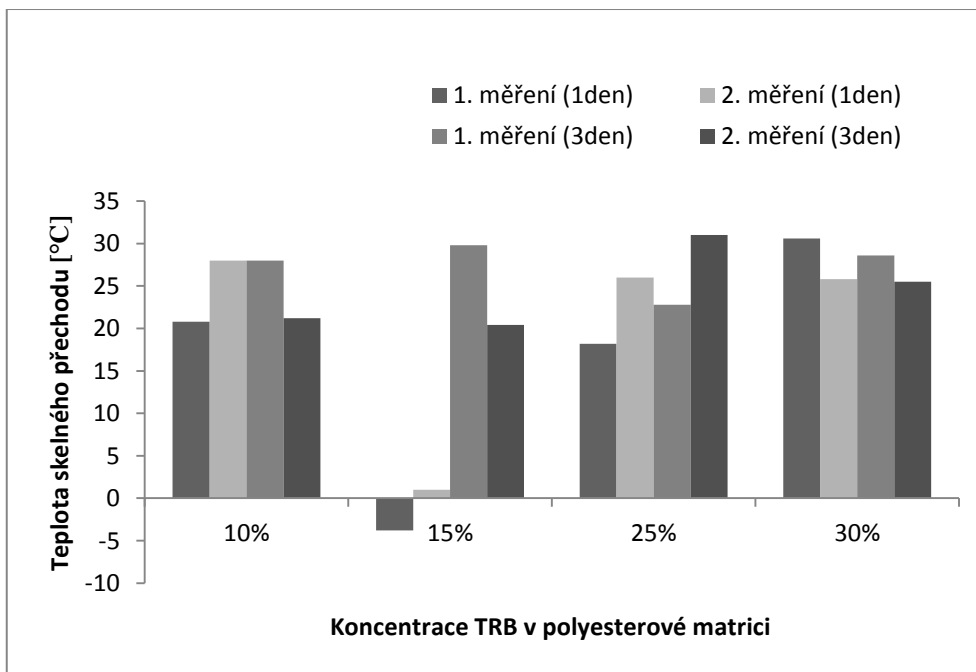


## 9.2 Porovnání teplot skelného přechodu polyesterových matric

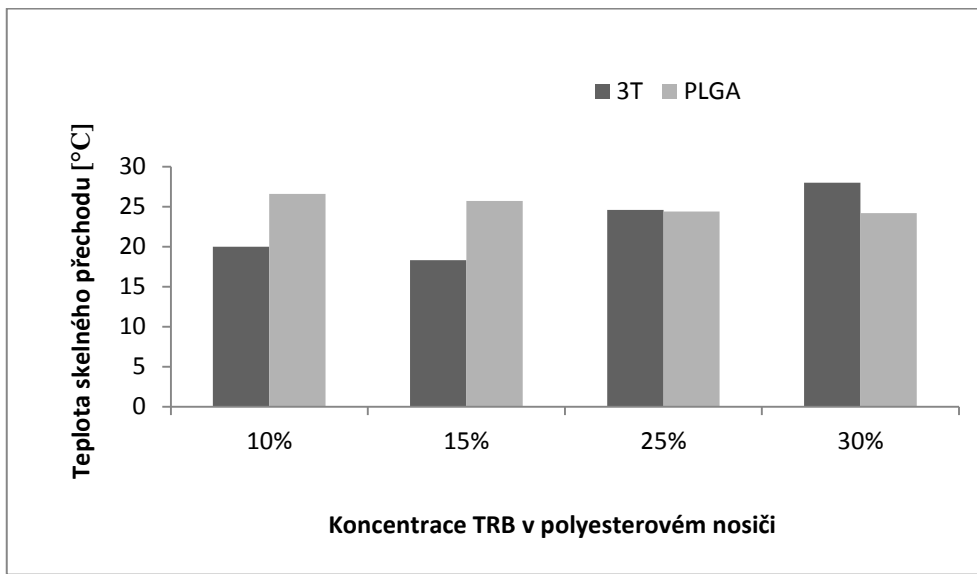
Obr. 26: Porovnání teplot skelného přechodu matric z polyesteru PLGA



Obr. 27: Porovnání teplot skelného přechodu matric z polyesteru 3T



Obr. 28: Porovnání teplot skelného přechodu soustav připravených simulací emulzní metody přípravy mikročástic za evaporace rozpouštědla



## 10 DISKUZE

V rigorózní práci se pracovalo s polymery PLGA a 3T. Jedná se o polyestery kyseliny D,L-mléčné a kyseliny glykolové. Polymer PLGA má poměr zastoupení obou kyselin 1:1. 3T je větvený terpolymer, který kromě kyseliny D,L-mléčné a glykolové obsahuje jako větvicí monomer tripentaerythritol. Oba polymery byly syntetizovány na katedře Farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty UK.<sup>25</sup> Charakteristika testovaných polyesterů je uvedena v tabulce 2.

Tab. 2: Charakteristika testovaných polyesterů<sup>1</sup>

Označení polyesteru	Číselně střední molární hmotnost $M_n$ [g/mol]	Hmotnostně střední molární hmotnost $M_w$ [g/mol]	Polydisperzita $M_w/M_n$
PLGA	4600	7100	1,54
3T	8600	18400	2,14

### 10.1 Vliv koncentrace léčiva na teplotu skelného přechodu

Byla provedena diferenciální skenovací kalorimetrie jednotlivých polyesterů PLGA a 3T, baze terbinafinu a matric s inkorporovaným terbinafinem. Vzorčky byly ochlazeny na  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  a poté zahřívány na  $90\text{ }^\circ\text{C}$  rychlostí  $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ . Následně byly ochlazeny na  $-50\text{ }^\circ\text{C}$  a znovu zahřívány na  $90\text{ }^\circ\text{C}$  stejnou rychlostí. Teploty skelného přechodu byly odečteny z druhého ohřevu v inflexním bodě termogramu.

U polyesterů a baze terbinafinu byly provedeny celkem 3 měření. Průměrná hodnota teploty skelného přechodu u lineárního polyesteru PLGA byla  $37,0\text{ }^\circ\text{C}$ , u větveného polyesteru 3T  $32,0\text{ }^\circ\text{C}$  a baze terbinafinu  $-32,4\text{ }^\circ\text{C}$  (Tab. 3).

Tab. 3: Teploty skelného přechodu polyesterových nosičů a terbinafinu baze

Číslo měření	3T	PLGA	TRB
1.	$30,0\text{ }^\circ\text{C}$	$37,2\text{ }^\circ\text{C}$	$-31,8\text{ }^\circ\text{C}$
2.	$32,3\text{ }^\circ\text{C}$	$35,5\text{ }^\circ\text{C}$	$-32,5\text{ }^\circ\text{C}$
3.	$33,7\text{ }^\circ\text{C}$	$38,4\text{ }^\circ\text{C}$	$-32,8\text{ }^\circ\text{C}$
Průměr	$32,0\text{ }^\circ\text{C}$	$37,0\text{ }^\circ\text{C}$	$-32,4\text{ }^\circ\text{C}$
s	$1,5\text{ }^\circ\text{C}$	$1,2\text{ }^\circ\text{C}$	$0,4\text{ }^\circ\text{C}$

Teploty skelného přechodu obou polymerů jsou vyšší, než je teplota v místnosti. Polymery jsou ve stavu sklovitým. Inkorporace léčiva je možná pouze po roztavení polymeru, přidání plastifikátoru nebo po rozpuštění polymeru ve vhodném rozpouštědle. Lineární polyester PLGA má vyšší teplotu skelného přechodu než větvený polyester 3T. U baze terbinafinu byla zjištěna teplota skelného přechodu  $-32,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

V rigorózní práci byl zvolen způsob pro inkorporaci léčiva rozpouštěním polyesteru ve vhodném rozpouštědle s následným přidáním léčiva a odpařením rozpouštědla. Zvoleným rozpouštědlem byl ethylmethylnketon, ve kterém se dobře rozpouštěly polymery i léčivo. Terbinafin byl přidáván k rozpuštěným polymerům v koncentraci 10%, 15%, 25% a 30%. Byly zvoleny různé metody přípravy matric. Byly použity různé koncentrace léčiva a emulzní metoda, která simulovala podmínky přípravy polyesterových mikročástic s léčivem.

Byla provedena termická analýza matric připravených metodou rozpouštění polyesteru a terbinafinu baze v ethylmethylnketonu a sušením po dobu 24 hodin a 3 dny ve vakuové sušárně. Z výsledků lze vyvodit vliv koncentrace léčiva a přítomnosti zbytkového rozpouštědla na hodnoty  $T_g$  matric. Rozpouštědlo ani po 3 dnech sušení není úplně odstraněno z matrice. Teplota skelného přechodu matric je snížena jak přítomností zbytkového rozpouštědla, tak inkorporovaným léčivem.

Teploty skelného přechodu polyesteru 3T a inkorporovaného TRB jsou po 1 dnu sušení nižší než  $T_g$  naměřené po 3 dnech sušení. U 10% koncentrace TRB byla dvěma měřeními naměřena teplota skelného přechodu  $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ . U 15% koncentrace teplota po 1 dnu sušení klesla výrazněji než po 3 dnech sušení. V dalších koncentracích  $T_g$  postupně stoupaly (Tab. 4).

Tab. 4: Teploty skelného přechodu matric z polyesteru 3T

Koncentrace TRB	1 den sušení		3 dny sušení	
	1. měření	2. měření	1. měření	2. měření
10%	20,8 °C	28,0 °C	28,0 °C	21,2 °C
15%	-3,8 °C	1,0 °C	29,8 °C	20,4 °C
25%	18,2 °C	26,0 °C	22,8 °C	31,0 °C
30%	30,6 °C	25,8 °C	28,6 °C	25,5 °C

Hodnoty teplot skelného přechodu polyesteru PLGA a inkorporovaného TRB byly po 1 dnu sušení velmi nízké. Lepší výsledky byly poskytnuty po 3 dnech sušení, kdy se dá předpokládat, že matrice obsahovala minimální množství zbytkového rozpouštědla.  $T_g$  matrice, která obsahovala 10% terbinafinu, byla 34,3 °C. Se zvyšující se koncentrací léčiva  $T_g$  postupně klesala. U 15% koncentrace TRB klesla na 30,3 °C a 25% koncentrace TRB na 25,8 °C. U 30% koncentrace TRB klesla výrazně až na 3,2 °C (Tab. 5).

Z ekonomických a časových důvodů byla provedena jen dvě měření termické analýzy matric a v některých případech byly zjištěny vyšší rozdíly v naměřených hodnotách  $T_g$ , než se předpokládalo. Bude nutno měření zopakovat ve více měřeních, aby byly výsledky potvrzeny.

Tab. 5: Teploty skelného přechodu matric z polyesteru PLGA

Koncentrace TRB	1 den sušení		3 dny sušení	
	1. měření	2. měření	1. měření	2. měření
10%	22,7 °C	25,0 °C	34,3 °C	34,3 °C
15%	-11,0 °C	-2,0 °C	39,3 °C	30,3 °C
25%	-0,2 °C	7,6 °C	25,5 °C	25,8 °C
30%	-5,1 °C	7,3 °C	7,7 °C	3,2 °C

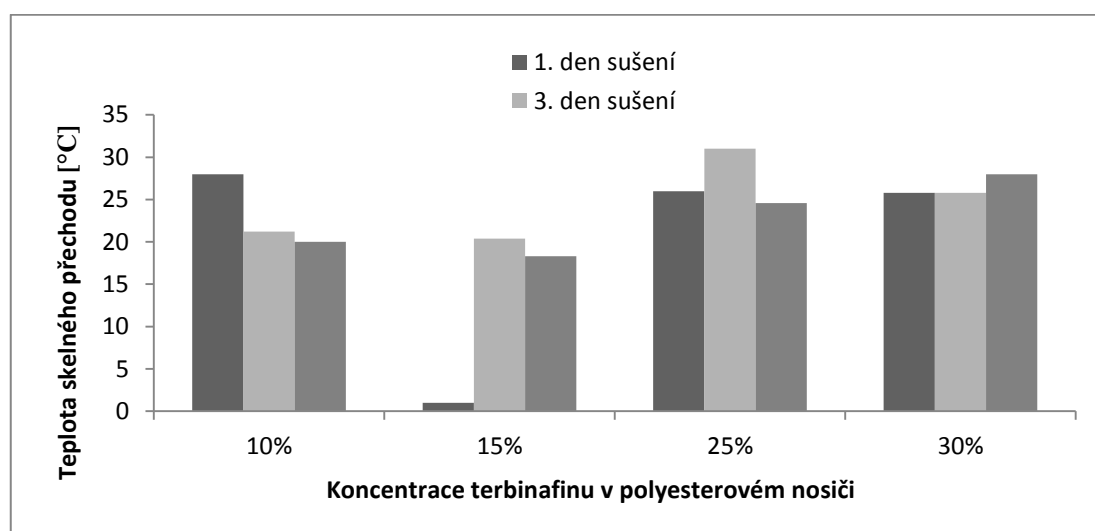
Byla rovněž provedena termická charakteristika soustav připravených rozpuštěním polymeru a léčiva v ethylmethyleketonu, zředěním vodou a vysušením ve vakuové sušárně po dobu 1 den a 3 dny. Tento postup přípravy má simulovat podmínky při přípravě polyesterových mikročástic s terbinafinem emulzní metodou za evaporace rozpouštědla. Matrice tvořené polyesterem 3T s 10% terbinafinem měly teplotu skelného přechodu 20 °C. S 15% obsahem TRB  $T_g$  klesala na 18,3 °C a se zvyšující se koncentrací TRB postupně stoupala až na  $T_g$  28,0 °C. U matric tvořených polyesterem PLGA teplota skelného přechodu se zvyšující se koncentrací léčiva klesala (Tab. 6). Nejmenší odchylky hodnot v teplotách skelného přechodu byly zaznamenány u matric složených z polyesteru PLGA po 3 dnech sušení. Vlivem rozpouštědla, které nebylo dostatečně odpařeno, byly teploty skelného přechodu po 1 dnu sušení velmi nízké.

Tab. 6: Teploty skelného přechodu matric připravených simulací emulzní metody přípravy mikročastic za evaporace rozpouštědla

Koncentrace TRB	3T	PLGA
10%	20,0 °C	26,6 °C
15%	18,3 °C	25,7 °C
25%	24,6 °C	24,4 °C
30%	28,0 °C	24,2 °C

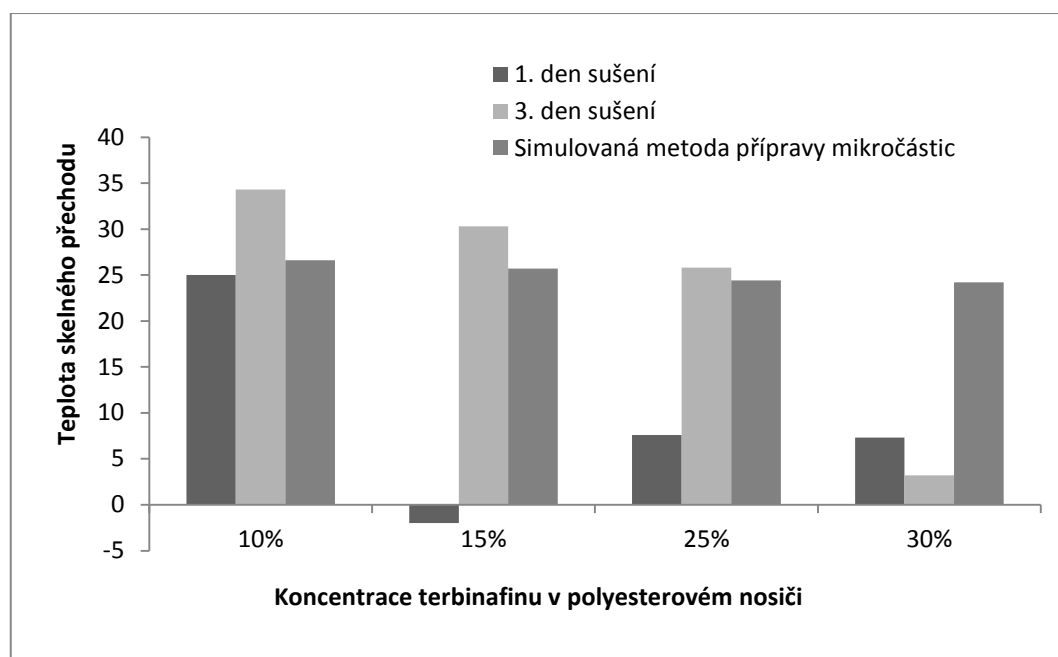
U simulované metody přípravy mikročastic byla u matric složených z polyesteru 3T a různé koncentrace TRB teplota skelného přechodu nižší než u metody rozpouštění v ethylmethylketonu. Nejmenší odchylky v  $T_g$  byly zaznamenány u 10% koncentrace TRB. U 15% koncentrace TRB byla  $T_g$  po 1 dni sušení velmi nízká, v důsledku nedostatečné evaporace rozpouštědla. Po 3 dnech sušení dosáhla  $T_g$  hodnoty 20,4 °C a u simulované metody přípravy mikročastic klesla na 18,3 °C. Pouze u 30% koncentrace TRB se  $T_g$  u matric připravených metodou přípravy mikročastic zvýšila na 28 °C. Nižší  $T_g$  u simulované metody přípravy mikročastic jsou důsledkem většího zředění matric a nedostatečného odpaření rozpouštědla (Obr. 29).

Obr. 29: Porovnání teplot skelného přechodu matric připravených metodou rozpouštění polyesteru 3T a různých koncentrací terbinafinu v ethylmethylketonu a simulovanou metodou přípravy mikročastic



Hodnoty teplot skelného přechodu u matric složených z polyesteru PLGA a různých koncentrací TRB jsou u simulované metody přípravy mikročástic nižší než u matric připravených rozpouštěním v ethylmethylnketonu a sušených ve vakuové sušárně 3 dny.  $T_g$  matric měřených po 1 dni sušení jsou velmi nízké vlivem nedostatečného odpaření rozpouštědla. Nejméně se lišily hodnoty  $T_g$  u 25% koncentrace TRB, kde  $T_g$  matric po 3 dnech sušení byla 25,8 °C a u simulované metody přípravy mikročástic 24,4 °C. Nejvíce se  $T_g$  lišila u 30% koncentrace TRB, kde hodnoty  $T_g$  matric připravených metodou rozpouštění v ethylmethylnketonu dosahovaly po 1 dni sušení 7,3 °C a po 3 dnech sušení 3,2 °C, zatímco u simulované metody přípravy mikročástic byla  $T_g$  24,2 °C (Obr. 30).

Obr. 30: Porovnání teplot skelného přechodu matric připravených metodou rozpouštění polyesteru PLGA a různých koncentrací terbinafinu v ethylmethylnketonu a simulovanou metodou přípravy mikročástic





## 11 ZÁVĚRY

Z výsledků získaných v experimentální části rigorózní práce lze odvodit tyto závěry:

1. Polymery PLGA, 3T i baze terbinafinu jsou v ethylmethyketonu dobře rozpustné, a proto lze toto rozpouštědlo použít pro přípravu matric metodou rozpouštění.
2. Polyestery PLGA a 3T jsou za obvyčejné teploty ve stavu sklovitém, jejich teplota skelného přechodu je 37 °C, resp. 32 °C.
3. Inkorporací baze terbinafinu do polyesteru klesá teplota skelného přechodu matrice. Terbinafin baze působí v polyesterové matrici jako plastifikátor.
4. Pokles teploty skelného přechodu je rovněž dán přítomností zbytkového rozpouštědla, které patrně nebylo dostatečně odstraněno ani sušením po dobu 3 dnů. Bude nutno porovnat teploty skelného přechodu matric připravených rozpouštěním a tavením.

## 12 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

---

1. KRÁČALÍKOVÁ M.: Inkorporace léčiv do polyesterových nosičů, Diplomová práce, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 2013, 52 s.
2. LOBENBERG R., AMIDON G. L.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 50, 2009. ISSN: 0939-6411.
3. Český lékopis 2009, 1. díl, První vydání, Praha: Grada Publishing a.s., 2009. ISBN: 978-80-247-2994-7.
4. OKÁČOVÁ L., VETČÝ D., FRANC A., RABIŠKOVÁ M., KRATOCHVÍL B.: Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek jejich modifikací, Chemické listy, 2010, ročník 104, 21-26 s. ISSN: 1213-7103.
5. AMIDON G. L., LENNERNAS H., SHAH V. P., CRISON J. R.: A theoretical basis for a biopharmaceutics drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability, Pharmaceutical Research, 1995, ročník 12. ISSN: 0724-8741.
6. HELGA M.: The Biopharmaceutical Classification System (BCS) and its usage. Drugs Made in Germany, 2002, ročník 45, 62-65 s. ISSN: 0012-6683.
7. GOTHOSKAR A. V.: Biopharmaceutical classification system of drugs, 2005, Pharmaceut Review [online]. Dostupné z: <http://www.pharmainfo.net/reviews/biopharmaceutical-classification-drugs>.
8. CHAVDA H. V., PATEL C. N., ANAND I. S.: Biopharmaceutics classification system, Systematic Reviews in Pharmacy, 2010, ročník 1, 62-69 s.
9. Particle Sciences-Technical Brief: Biopharmaceutical Classification System and formulation development, 2011, ročník 9. Dostupné z: <http://www.particlesciences.com/news/technical-briefs/2011/biopharmaceutical-classification-system.html>
10. SACHAN N. K., BHATTACHARYA A., PUSHKAR S., MISHRA A.: Biopharmaceutical classification systém: A strategic tool for oral drug delivery technology, Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009, ročník 3, 76-81 s. ISSN: 2231-2560.
11. KRAJÍČEK M.: Terapeutické systémy – řízené uvolňování léčiv z lékových forem (Drug delivery systems), 2009 [online]. Dostupné z:

---

<http://www.favea.cz/aktuality/terapeuticke-systemy-rizene-uvolnovani-leciv-z-lekovych-forem-drug-delivery-systems>.

12. WHO Experts Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, Fortieth Report: Multisource (generic) pharmaceutical products: Guidelines on registration requirements to establish interchangeability, Geneva, 2000, 347-390 s.

13. Center for Drug Evaluation, USFDA: Guidance for industry: Waiver on *In vivo* bioavailability and bioequivalence for immediate release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system, 2000.

14. GOHEL M. C., MEHTA N. R.: An audit of recent inputs on biopharmaceutical classification system, 2005, Pharmaceut Review [online]. Dostupné z: <http://www.pharmainfo.net/reviews/audit-recent-inputs-biopharmaceutical-classification-system>.

15. RABIŠKOVÁ M.: Perorální matricové tablety s řízeným uvolňováním léčiva, Remedia, 2007, ročník 6. ISSN: 0862-8947.

16. DVOŘÁČKOVÁ K., MASTEIKOVÁ R., CHALUPOVÁ Z., BARNATONIENÉ J.: Implantáty jako lékové transportní systémy-teoretické aspekty implantátů obsahujících léčivo, Remedia, 2008, ročník 7. ISSN: 0862-8947.

17. RABIŠKOVÁ M.: Od Galéna k lékovým systémům, Remedia, 2006, ročník 5. ISSN: 0862-8947.

18. LIPINSKI C. A., LOMBARDO F., DOMINY B. W., FEENEY P. J.: Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, Advanced Drug Delivery Reviews, 1997, ročník 23, 3-25 s. ISSN: 0169-409X.

19. KOMÁREK P., RABIŠKOVÁ M.: Technologie léků, Galén, Praha, 2006. ISBN: 8072624237.

20. OKÁČOVÁ L., VETCHÝ D., FRANC A., RABIŠKOVÁ M.: Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek technologickými postupy usnadňujícími jejich rozpouštění, Chemické listy, 2011, ročník 105, 34-40 s. ISSN: 1213-7103.

21. Wikipedia, the free encyclopedia [online] [4. 11. 2013]. Dostupné z: <http://hu.wikipedia.org/wiki/F%C3%A1jl:Terbinafine.png>

- 
22. KUMAR N., JAIN A. K., SINGH C., KUMAR R.: Development, characterization and solubility study of solid dispersion of terbinafine hydrochloride by solvent evaporation method. *Asian J Pharm*, 2008, str. 154-158. ISSN: 1818-0876.
23. KUSHIDA I., ICHIKAWA M., ASAKAWA N.: Improvement of dissolution and oral absorption of ER-34122, a poorly water-soluble dual 5-lipoxygenase/cyclooxygenase inhibitor with anti-inflammatory activity by preparing solid dispersion. *J Pharm Sci*, 2002, str. 258-66. ISSN: 1520-6017.
24. BONNY J. D., EUGSTER A. C., GUITARD P., HIRSCH S.: Pharmaceutical Compositions Comprising Terbinafine, US Patent 13/870, 114, 2013.
25. ŠNEJDROVÁ E., DITTRICH M.: Poly( $\alpha$ -hydroxykyseliny) jako nosiče léčiv, *Chemické listy*, 2011, ročník 105, 27-33 s. ISSN: 1213-7103.