

POLYMEROVÉ MIKROČÁSTICE PRO PERORÁLNÍ PŘÍVOD DIKLOFENAKU

KATEŘINA KREJČOVÁ, EVA GRYZOVÁ
a MILOSLAVA RABIŠKOVÁ

Ústav technologie léků, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1/3, 612 42 Brno

rabiskovam@vfu.cz

Došlo 17.4.08, přijato 6.11.08.

Klíčová slova: mikročástice, diklofenak sodná sůl, Eudragit® RS 100, odpařování rozpouštědla z emulze

Úvod

Výzkum mikro- a nanočásticových léčiv se těší stále rostoucímu zájmu univerzitních i průmyslových pracovišť pro jejich unikátní vlastnosti spojené se sníženým výskytem nežádoucích účinků a umožňující nové léčebné postupy. Mikročásticové lékové formy mají již několik svých zástupců v praktické farmakoterapii, nanočásticová léčiva na své použití v humánní medicíně teprve čekají. K mikročásticovým léčivým přípravkům, tj. k přípravkům s velikostí od 1 µm do 1 mm, patří liposomy a mikročástice (homogenní matricové mikrosféry i mikrotobolky s odlišeným jádrem a stěnou). Zatímco se mikročástice ve funkci léčivých přípravků používají především k parenterální aplikaci v cytostatických indikacích, např. s tryptorelinem (Decapeptyl Depot®) nebo s leuprorelinem (Enantone Depot®, Lupron Depot®), liposomy našly širší využití^{1,2}, kromě nosičů cytostatik (daunorubicin – DaunoXome® nebo doxorubicin – Doxil®) se uplatnily v léčivých přípravcích pro terapii invazivních plísňových infekcí (amfotericin B – AmBisome®) nebo syndromu dechové nedostatečnosti narozených dětí (Alveofact®) i jako očkovací látka proti hepatitidě A (Epaxal-Berna®).

Počátek vzniku mikročástic se datuje do 30. let minulého století, kdy Bungenberg de Jong a spol. zveřejnili práce věnované enkapsulaci látek koacerváty. Farmaceutické využití mikročástic přichází o 30 let později³, např. maskování nepříjemné chuti nebo zápachu léčivých látek, přeměna kapalných léčiv na pevné látky, ochrana citlivých látek před vzdušným kyslíkem, vlhkostí nebo světlem, oddělení inkompatibilních látek, bezpečné zacházení s toxickými materiály, zlepšení sypkosti prášků, usnadnění dispergování látek nerozpustných ve vodě a výroba přípravků s řízeným uvolňováním nebo doručením léčiva.

Mikročástice se vyrábějí četnými, často poměrně slo-

žitými technologickými postupy. Ty vedou k produkci částic nejružnější struktury, složení a fyzikálně-chemických vlastností. Volba vhodné výrobní metody se odvíjí především od základních vlastností polymerního nosiče a od rozpustnosti účinné látky⁴. Známým a často používaným postupem vedoucím ke vzniku mikročástic je odpaření rozpouštědla z připravené jednoduché emulze. Ačkoli je tato metoda koncepčně poměrně nenáročná, vlastnosti výsledného produktu lze ovlivnit celou řadou proměnných⁵, např. rychlostí a délkou homogenizace emulze, zvoleným poměrem léčivá látka : polymer, poměrem vnitřní a vnější fáze emulze, koncentrací rozpuštěných složek (tj. léčivé látky a polymeru) ve vnitřní fázi, typem zvoleného rozpouštědla, viskozitou obou fází, typem a koncentrací emulgátoru, teplotou a designem použitého homogenizačního zařízení⁶. Protože neexistují univerzální pomocné látky ani univerzální metodika přípravy mikročástic, které by bylo možné uplatnit při enkapsulaci každého materiálu, je třeba vždy pro vybranou léčivou látku, složení i metodu přípravy vhodně zvolit a optimalizovat vzhledem k požadovaným vlastnostem léčivého produktu⁷.

Mikročástice lze využít k prodlouženému uvolňování léčiv po perorálním podání zejména tehdy, má-li léčivá látka dráždivé účinky na sliznici gastrointestinálního traktu (GIT). Mezi takové látky patří i diklofenak sodná sůl (DS), který je účinným nesteroidním antiflogistikem, analgetikem a antipyretikem s poměrně krátkým biologickým poločasem (1,2–1,8 h, cit.^{8,9}). Léčivo je tedy nezbytné podávat opakovaně, zpravidla 3× denně. Při dlouhodobém podávání konvenčních lékových forem vykazuje DS tendenci k hromadění v organismu a je příčinou někdy i velmi vážných nežádoucích účinků postihujících gastrointestinální, kardiovaskulární a centrální nervový systém. Uzavření léčivé látky do polymerních matricových mikročástic představuje jedno z možných řešení výše zmíněných komplikací.

Eudragit® RS je nerozpustný amonioalkylmethakrylátový kopolymer, který lze použít pro formulaci částicové lékové formy zabezpečující prodloužené uvolňování léčivé látky. Protože jde o kationtový polymer, může navíc *in vivo* reagovat se záporně nabitým mucinem¹⁰ nacházejícím se na povrchu intestinální sliznice a tím dále prodlužovat působení léčiva v požadované oblasti GIT. Zveřejněné publikace^{11,12} popisují také jeho možné přímé působení na střevní sliznici (otevírání těsných kanálků) a tak pozitivní roli při absorpci a biologické dostupnosti léčivých látek z GIT.

Cílem této experimentální práce bylo v rámci preformulačních studií navrhnout a optimalizovat způsob přípravy polyakrylátových (Eudragit® RS 100) mikročástic obsahujících diklofenak sodnou sůl metodou odpařování rozpouštědla z nevodné emulze. Sledoval se vliv vybraných procesních a formulačních proměnných na kvalitu produktu (velikost, tvar, obsah enkapsulované látky) a zkouškou disoluce se hodnotila schopnost vzorků mikročástic modifikovat rychlost uvolňování vybrané léčivé látky.

Experimentální část

Materiál

Modelovou léčivou látkou určenou k enkapsulaci byl diklofenak sodná sůl (Amoli Organics, Indie), polymerem prodlužujícím uvolňování léčiva byl Eudragit® RS 100 PO (Röhm GmbH & Co. KG, Darmstadt, Německo). Pro přípravu mikročastic se dále použil methanol (Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, ČR), lehký tekutý parafin (VWR International Ltd., Velká Británie), sorbitan-monooleát (Span® 80) charakterizovaný hodnotou HLR 4,3 (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Německo) a petrolether (Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, ČR). Pro disoluční studie se použily pufrs s obsahem dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu sodného (Merck KGaA, Darmstadt, Německo), monohydrátu kyseliny citronové (Merck KGaA, Darmstadt, Německo) v čištěné vodě. Všechny suroviny odpovídaly lékopisné kvalitě¹³.

Příprava mikročastic

Matricové mikročastice se připravily odpařováním rozpouštědla z jednoduché nevodné emulze. Vnitřní fázi tvořil roztok 100–200 mg Eudragitu® RS 100 (ERS) ve 2 ml methanolu, do kterého se postupně vmíchalo 100 mg DS. Roztok se na vodní lázni zahřál na 40 °C. Vnitřní fáze se po kapkách přidávala do 20 ml vnější fáze připravené rozpuštěním 1–5 % Spanu® 80 v tekutém parafinu při stejné teplotě 40 °C (příp. 50 °C). Emulze se míchala po dobu 10 min v homogenizátoru Ultra Turrax T25 Basic (IKA – Werke GmbH. & Co. KG, Německo) s nástavcem o průměru 8 mm (typ S25N-8G). Otáčky se měnily podle zvoleného schématu (tab. I) v rozmezí 13 500–20 500 ot min⁻¹. Po odpaření vnitřního rozpouštědla se mikročastice izolovaly filtrací a na filtru se opakovaně promyly petroletherem. Poté se sušily při laboratorní teplotě po dobu alespoň 24 h.

Stanovení obsahu DS v mikročasticích a enkapsulační účinnosti (EE)

Přesně navážené množství mikročastic (asi 5 mg) se ve 100 ml odměrné baňce doplnilo methanolem po rysku. Po 24 hodinách se změřila absorbance vzorku při vlnové délce 282 nm (Lambda 25, Perkin Elmer Instruments, USA) a obsah DS se stanovil s použitím odpovídající kalibrační křivky. Přítomnost Eudragitu® RS 100 PO neovlivnila vlastní absorbanci obsažené léčivé látky. Stanovení se u každé šarže mikročastic opakovalo třikrát. Na základě získaných hodnot se stanovila také enkapsulační účinnost podle vztahu (1),

$$EE = \frac{c_s}{c_t} \times 100 \quad [\%] \quad (1)$$

kde c_s představuje skutečný obsah DS v mikročasticích a c_t odpovídá teoretickému obsahu DS.

Stanovení velikosti mikročastic

Velikost a distribuce velikosti připravených mikročastic se hodnotily optickým mikroskopem (LN 25, Lambda Praha, ČR) propojeným přes CCD kameru (Alphaphot, Nikon, Japonsko) s počítačem. Snímky se hodnotily s využitím softwaru pro obrazovou analýzu Ia32 (Leco Corporation, USA). Proměřilo se vždy 200 částic; průměr částic d se vyjádřil jako aritmetický průměr $\pm$ směrodatná odchylka, distribuci velikosti částic charakterizují hodnoty d_{10} , d_{50} a d_{90} vyjadřující hraniční mez [μ m], do které svou velikostí spadá 10, 50, resp. 90 % proměřených částic. Na jejich podkladě se stanovila výpočtem šířka distribuce Y :

$$Y = \frac{d_{90} - d_{10}}{d_{50}} \quad (2)$$

Tabulka I
Proměnné veličiny procesu

Vzorek	Otáčky [ot min ⁻¹]	Čas [min]	Poměr [ERS:DS]	Teplota [°C]	Span® 80 [hm. %]
MP1PS	13500	10	2:1	40	1,0
MP2PS	19000	10	2:1	40	1,0
MP3PS	20500	10	2:1	40	1,0
MP4PS	20500	10	1:1	40	1,0
MP5PS	20500	10	3:2	40	1,0
MP6PS	20500	10	2:1	50	1,0
MP7PS	20500	10	2:1	40	2,5
MP8PS	20500	10	2:1	40	5,0

Stanovení hustoty a viskozity vnitřní fáze emulze

Připravily se kapalně vzorky označené jako ERS1DS, ERS1,5DS a ERS2DS obsahující 2,0 g DS a 2,0–4,0 g polymeru rozpuštěné ve 40,0 ml methanolu. U vzorků zahřátých na vodní lázni na 40 °C se pyknometrickou metodou stanovila hustota. Viskozita kapalin se měřila skleněným viskozimetrem Ubbelohde (průměr kapiláry $1,13 \pm 0,01$ mm). Hodnota dynamické viskozity η (mPa s) se vypočítala podle vztahu uvedeného v ČL 2005 (cit.¹³).

$$\eta_n = \frac{\rho_n t_n}{\rho_0 t_0} \cdot \eta_0 = K_0 \rho_n t_n \quad (3)$$

kde η_n , ρ_n a t_n značí viskozitu, hustotu a dobu průtoku neznámé kapaliny, η_0 viskozitu vody při 20 °C, ρ_0 její hustotu a t_0 dobu průtoku. Konstanta K_0 měla pro daný viskozimetr hodnotu 0,0998.

Skenovací elektronová mikroskopie

Vzorky mikročásteček se upevnily oboustranně lepicí páskou na hliníkové válečky o průměru asi 10 mm a potáhly se vrstvou zlata v naprašovacím zařízení Polaron SC-500 Sputter Coater (VG Microtech, Sussex, Velká Británie). Vzhled a vlastnosti povrchu vzorků mikročásteček se hodnotily skenovacím elektronovým mikroskopem Hitachi S-4300 (Hitachi Scientific Instruments, Japonsko) operujícím při urychlovacím napětí 5,0 kV.

Disoluční studie

Rychlost uvolňování DS ze vzorků mikročásteček se stanovila košíčkovou metodou (zařízení Sotax AT 7 Smart, Sotax, Švýcarsko) při 100 ot min⁻¹, v 500,0 ml McIlvaineova pufru o pH 6,8 a teplotě $37,0 \pm 0,5$ °C. Navážka mikročásteček se volila tak, aby bylo dosaženo vždy stejné koncentrace léčivé látky (25 mg l⁻¹). Množství uvolněné látky se stanovilo spektrofotometricky při vlnové délce 276 nm. Kinetika uvolňování se porovnávala s vybranými kinetickými modely:

Higuchiho model

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot \sqrt{t} \quad (4)$$

Weibullova funkce

$$\ln \left[\ln \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right) \right] = \beta \cdot \ln t - \beta \cdot \ln \tau \quad (5)$$

Korsmeyer-Peppasova rovnice

$$\ln \left(\frac{M_t}{M_\infty} \right) = n \cdot \ln t + \ln k \quad (6)$$

kde k je konstanta uvolňování, poměr M_t ku M_∞ představuje kumulativní množství léčivé látky (%) uvolněné v čase

t , resp. v nekonečném čase, n je konstanta charakterizující mechanismus uvolňování léčivé látky ze systému a τ je čas, ve kterém se právě uvolní 63,2 % původního množství léčivé látky¹⁴.

Statistické zpracování

Statistické výpočty se provedly v programu MS Excel. Statistická významnost vlivu vybraných procesních nebo formulačních proměnných na velikost připravených mikročásteček se hodnotila provedením Studentova t-testu.

Výsledky a diskuse

Cílem experimentální práce byla příprava matricových mikročásteček s prodlouženým uvolňováním diklofenaku sodné soli. Vzhledem k tomu, že tyto mikroformy mají sloužit pro perorální lékovou formu, bylo zapotřebí definovat jejich požadované vlastnosti, tj. (1) pravidelný kulový tvar s hladkým, celistvým povrchem, (2) průměr menší než 100 µm (alespoň u 90 % produktu), (3) úzká distribuce velikosti částic, (4) vysoký obsah enkapsulovaného DS a (5) schopnost účinně zpomalovat uvolňování DS v podmínkách *in vitro*.

Primárním požadavkem zajišťujícím vznik kvalitních mikročásteček pravidelného kulového tvaru a hladkého povrchu byla příprava stabilní emulze polymerního roztoku v médiu. Volba rozpouštědla vnitřní fáze emulze představovala jeden z klíčových faktorů. Vhodné rozpouštědlo mělo splňovat několik důležitých podmínek, např. dobrou rozpouštěcí účinnost pro enkapsulovanou látku i nosný polymer a současně omezenou misitelnost s vnější fází emulze. Z uvedených důvodů se jako vnitřní rozpouštědlo zvolil methanol. Jeho výhodou byla také poměrně nízká teplota varu, jež se pohybuje mezi 64–65 °C (cit.¹³).

Homogenizace

Rychlost otáček rotorového-statorového homogenizátoru a její dopad na kvalitu vznikajícího produktu je pravděpodobně jedním z nejčastěji studovaných parametrů procesu. Pro sérii pokusů označených MP1PS až MP3PS se na homogenizačním zařízení Ultra-Turrax nastavily otáčky při homogenizaci na 13 500, 19 000 a 20 500 otáček za minutu (tab. I).

Z hodnot středních průměrů mikročásteček uvedených v tab. II je patrné, že zvýšení otáček vedlo ke statisticky významnému poklesu velikosti částic z 64,44 µm (při 13 500 ot min⁻¹) na 45,01 µm (při 20 500 ot min⁻¹). To je v souladu s obecným pravidlem, že průměrná velikost mikročásteček se zmenšuje se zvyšující se intenzitou míchání. Účinnější homogenizace totiž vede nejen k rozptýlení vnitřní fáze na jemnější kapky, ale zároveň působí jako prevence zabráňující spojování „nezralých“ mikročásteček⁸. Porovnáním šířky distribuce velikosti částic (Y) vzorků MP1PS – MP3PS nebylo možné najít jednoznačný trend. Nejširší distribuce velikosti mikročásteček byla podle očeká-

vání pozorována u vzorku MP1PS ($Y = 1,67$), vzorku homogenizovaném při nejnižších otáčkách. Naopak nejužší rozpětí velikostí vykazoval vzorek MP2PS ($Y = 1,02$) homogenizovaný při $19\,000\text{ ot min}^{-1}$, jež byly vyhodnoceny jako optimální.

Poměr polymer – léčivá látka

Makroskopicky lze připravené mikročástice popsat jako jemný, bílý, volně tekoucí prášek. Pod optickým mikroskopem se jeví jako individuální transparentní kulové částice nebo menší hroznovité shluky. Snímky z elektronového mikroskopu vzorků MP3PS a MP4PS (obr. 1a,b) ukázaly, že vzhled připravených mikročástic, jejich pórovitost a struktura povrchu byly nejvýrazněji ovlivněny použitým poměrem polymer : léčivá látka.

Nedostatečné množství polymeru ve vnitřní fázi vedlo k produkci nepravidelných částic s nerovným povrchem, velkými póry a příležitostnými krystaly odloučeného DS (vzorek MP4PS). Zvýšení poměru polymer : léčivo na

hodnotu 2:1 pozitivně ovlivnilo morfologické vlastnosti mikročástic (vzorek MP3PS). Vznikly hladké kulové částice bez zjevných povrchových nerovností nebo pórů. Na lomu mikročástic (obr. 1c) je patrné, že DS byl rovnoměrně rozptýlen v polymerní matici. Vnitřní struktura mikročástic je kompaktní s občasnými vzduchovými dutinami vznikajícími v důsledku rychlého zpevnění povrchu kapek vnitřní fáze emulze a uzavření par vnitřního rozpouštědla uvnitř matrice.

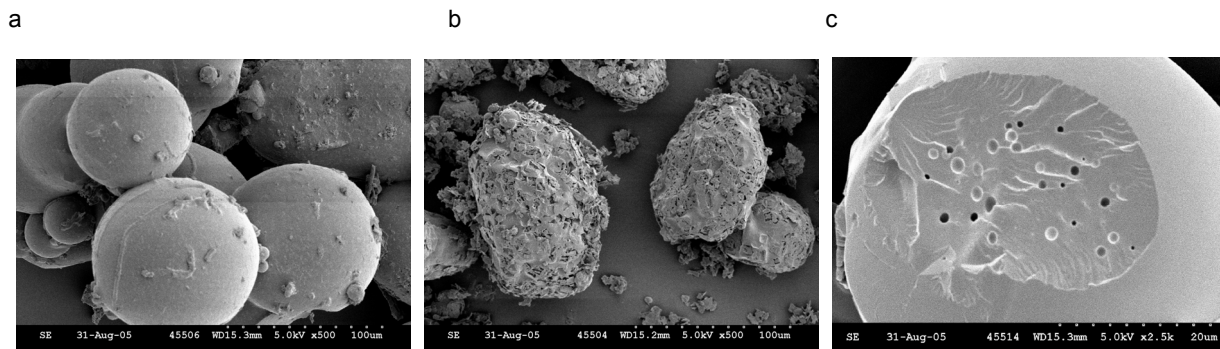
Viskozita vnitřní fáze emulze

Snížení koncentrace polymeru u vzorků MP3PS–MP5PS mělo za následek zmenšení středního průměru mikročástic z $45,01$ na $33,98\text{ }\mu\text{m}$ (tab. II). Předpokládalo se, že v důsledku rozpuštění většího množství Eudragitu[®] RS 100 ve fixním objemu rozpouštědla vznikl viskóznější roztok, jehož dispergování do vnější parafinové fáze bylo za daných homogenizačních podmínek obtížnější. Proto se připravila sada kapalných vzorků označených jako

Tabulka II
Vlastnosti připravených mikročástic

Vzorek	Střední průměr ^a [μm]	Distribuce velikosti částic [μm]			Šířka distribuce	Obsah DS ^e [g g^{-1}]	EE ^e [%]
		d_{10} ^b	d_{50} ^c	d_{90} ^d			
MP1PS	$64,44 \pm 39,13$	21,75	58,30	119,00	1,67	$0,296 \pm 0,022$	$89,77 \pm 2,74$
MP2PS	$52,28 \pm 19,70$	29,57	48,36	78,96	1,02	$0,284 \pm 0,002$	$85,92 \pm 0,34$
MP3PS	$45,01 \pm 31,47$	23,42	40,32	85,02	1,53	$0,258 \pm 0,010$	$78,17 \pm 2,95$
MP4PS	$33,98 \pm 23,79$	14,13	25,17	64,73	2,01	$0,357 \pm 0,008$	$71,40 \pm 1,68$
MP5PS	$38,51 \pm 22,36$	19,13	33,00	71,31	1,58	$0,311 \pm 0,059$	$77,81 \pm 1,91$
MP6PS	$76,83 \pm 34,92$	35,21	72,79	110,89	1,04	$0,310 \pm 0,049$	$93,21 \pm 4,96$
MP7PS	$44,26 \pm 26,55$	17,95	35,71	70,47	1,47	$0,171 \pm 0,036$	$61,76 \pm 2,90$
MP8PS	$40,96 \pm 18,15$	20,38	37,97	61,07	1,07	$0,140 \pm 0,002$	$42,05 \pm 0,73$

^a $n = 200$, ^b d_{10} = dolní decil, ^c d_{50} = medián, ^d d_{90} = horní decil, ^e $n = 3$



Obr. 1. Polymerové mikročástice vzorku (a) MP3PS, (b) MP4PS, (c) MP3PS - detail

Tabulka III

Hustota a viskozita vnitřní fáze emulze při 40 °C

Vzorek	Poměr ERS:DS	Koncentrace polymeru [hm. %]	Hustota ^a [g cm ⁻³]	Viskozita ^b [mPa s]
ERS1DS	1 : 1	5,68	0,823 ± 0,002	0,849 ± 0,017
ERS1,5DS	3 : 2	8,29	0,828 ± 0,001	1,020 ± 0,015
ERS2DS	2 : 1	10,75	0,841 ± 0,002	1,721 ± 0,007

^a $n = 3$, ^b $n = 6$

ERS1DS, ERS1,5DS a ERS2DS, které svým složením odpovídaly složení vnitřní fáze emulze použité pro přípravu mikročástic vzorků MP5PS, MP4PS a MP3PS. U těchto vzorků se změnila viskozita při teplotě 40 °C. Z hodnot viskozity uvedených v tab. III je patrné, že viskozita těchto roztoků vzrůstala se vzrůstajícím množstvím rozpuštěného polymeru.

Viskozita roztoku je přímou měrou viskoelastických sil působících v dispergované fázi při jejím toku. Aby začal viskóznější roztok téci a vnitřní fáze se mohla rozdělit na drobnější kapky, je třeba dodat vyšší energii. Není-li možné přisun energie zvýšit (tj. podmínky homogenizace jsou konstantní), homogenizace je méně účinná a výsledné mikročástice mají větší rozměr¹⁵. Emulgování velmi viskózních polymerních roztoků je značně obtížné a nevede vždy k uspokojivým výsledkům. Kapky polymerní fáze si nejsou schopny za těchto podmínek udržet svůj kulový tvar a působením hydrodynamických sil se deformují a po ztuhnutí vytvářejí protáhlé oválné až tyčkovité útvary¹⁶.

Koncentrace emulgátoru

Velikost vznikajících mikročástic je závislá především na velikosti kapek vnitřní fáze. Vznik jemnější emulze lze docílit nejen intenzivnější homogenizací, ale i zvýšením koncentrace emulgátoru. Ten svou specifickou adsorpcí na rozhraní obou nemísitelných fází účinně snižuje mezifázové napětí a umožňuje vznik drobnějších kapek vnitřní fáze. Nicméně porovnáním odpovídajících hodnot středního průměru mikročástic vzorků MP3PS, MP7PS a MP8PS připravených odpařením rozpouštědla z emulzního systému stabilizovaného 1, 2,5, resp. 5 % Spanu® 80 se prokázalo, že vliv koncentrace emulgátoru na velikost výsledných částic je statisticky nevýznamný. Quintanar-Guerrero a spol.¹⁷ tento jev vysvětlují tím, že při vyšší koncentraci je jen určitá část emulgátoru adsorbována na fázovém rozhraní, zbytek zůstává ve vnější fázi a již nehraje žádnou úlohu jak při emulgování, tak při stabilizaci kapek. Další zvyšování koncentrace emulgátoru se zdá být neefektivní. Nelze však opomenout skutečnost, že zvýšením koncentrace emulgátoru se zúžilo rozpětí velikostí připravených mikročástic, jak je patrné z poklesu hodnot šířky distribuce Y z 1,53 u vzorku MP3PS na 1,07 u vzorku MP8PS.

Enkapsulační účinnost

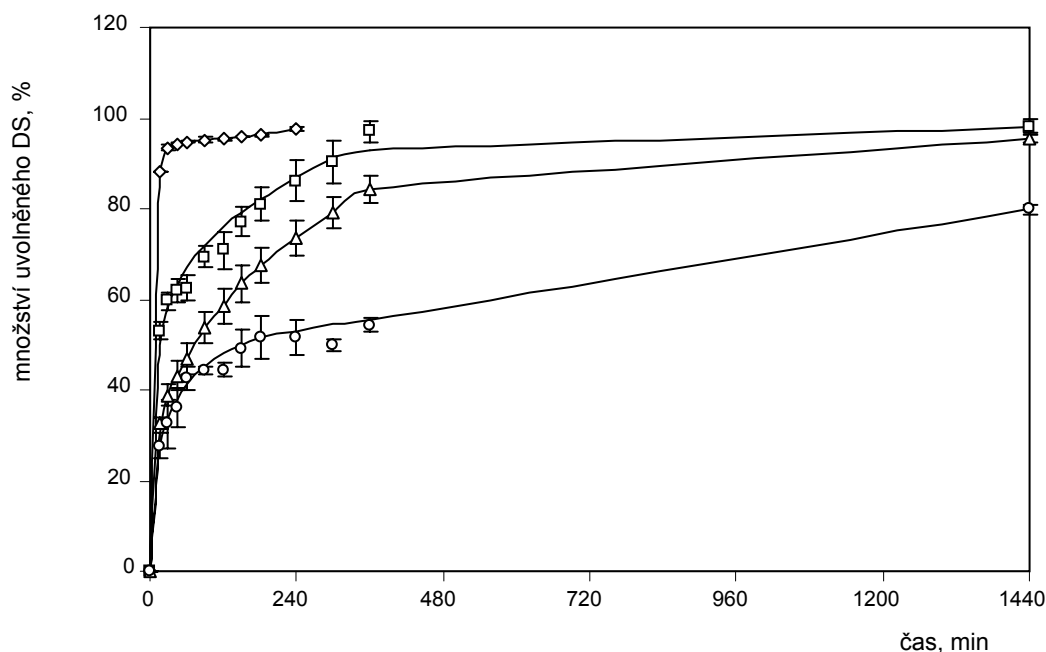
Enkapsulační účinnost procesu závisí především na intenzitě difuze léčivé látky z vnitřní do vnější fáze, která probíhá při emulgování a homogenizaci. Vzniká-li jemnější disperze, např. jako důsledek zvýšené koncentrace emulgátoru, zvýšené homogenizační rychlosti nebo snížené viskozity vnitřní fáze, snižuje se koncentrace léčivé látky v kapkách vnitřní fáze a tedy i ve vznikajících mikročásticích (tab. II). Jelikož drobnější kapky mají větší celkový povrch, difuze DS je v tomto případě masivnější a rychlejší, což vede k větším ztrátám léčivé látky z kapek vnitřní fáze a vzniku mikročástic s nižším obsahem⁸.

Zvýšení otáček homogenizátoru z 13 500 na 20 500 ot min⁻¹ (vzorky MP1PS–MP3PS) mělo nepříznivý vliv na obsah DS v mikročásticích. Ten poklesl z 0,296 na 0,258 mg mg⁻¹ mikročástic za současného poklesu EE z 89,77 na 78,17 %. Podobně také zvýšení koncentrace emulgátoru z 1 na 2,5 a 5 % (vzorky MP3PS, MP7PS a MP8PS) vedlo k výraznému snížení obsahu DS v mikročásticích a poklesu enkapsulační účinnosti procesu ze 78,17 % na pouhých 42,05 %. Vysoká viskozita vnitřní fáze omezuje migraci léčivé látky do fáze vnější, a proto zvýšení koncentrace nosného polymeru mělo za následek zvýšení enkapsulační účinnosti procesu ze 71,4 (vzorek MP4PS) na 78,2 % (vzorek MP3PS).

Nejvyšší enkapsulační účinnosti (93,2 %) se dosáhlo u vzorku MP6PS. V tomto případě se totiž na rozdíl od ostatních pokusů předešlo fázi na teplotu 50 °C. Vyšší teplota vnější fáze pravděpodobně způsobila předčasné odpaření methanolu. Následkem toho vzrostla náhle viskozita vnitřní fáze, kterou bylo obtížnější rozpítlit na drobné kapky. Menší povrch kapek vnitřní fáze a rychlé formování pevné polymerní bariéry na jejich povrchu bránilo difuzi léčiva do vnější fáze. Vznikly tak částice s největším středním průměrem (76,8 μm) a obsahem léčivé látky přibližně 31 %.

Disoluční studie

DS je látka mírně rozpustná ve vodě¹³. Z fyzikální směsi s polymerem připravené prostým smícháním obou složek se DS uvolnil téměř úplně již během prvních 30 min disoluční zkoušky (obr. 2). Uzavřením DS do mik-



Obr. 2. Disoluční profily léčivé látky ze směsi DS s polymerem a ze vzorků mikročástic v pufru o pH 6,8; $\diamond$ směs, $\square$ poměr 1 : 1, Δ poměr 2 : 3, $\circ$ poměr 2 : 1

Tabulka IV

Hodnocení disolučních profilů vybraných vzorků mikročástic

Vzorek	Poměr ERS:DS	Korsmeyer-Peppasova rovnice		Weibullova funkce		Higuchiho model
		R	n	R	τ [h]	R
MP4PS	1 : 1	0,9825	0,1862	0,9521	0,75	0,9961
MP5PS	3 : 2	0,9986	0,3047	0,9927	2,22	0,9988
MP3PS	2 : 1	0,9705	0,2088	0,9745	7,50	0,9314

ročastic se zpomalila rychlost jeho uvolňování, míra zpomalení závisela především na poměru polymeru a léčivé látky.

Všechny disoluční křivky vykazovaly výraznou počáteční fázi uvolňování, jež se snižovala se vzrůstajícím obsahem polymeru (pokles z 53,1 na 27,71 %). Nejvýraznějšího snížení rychlosti uvolňování DS se dosáhlo u vzorku MP3PS, z něhož se po 24 h uvolnilo přibližně 80 % obsažené léčivé látky.

Uvolňování diklofenaku sodné soli z mikročástic ve všech případech nejlépe popisoval model Korsmeyera-Peppase ($R \sim 0,971\text{--}0,999$). Hodnoty koeficientu n získaného výpočtem (tab. IV) byly menší než 0,5 a naznačovaly, že rychlost uvolňování léčivé látky se řídí mechanismem prosté difuze. Nižší, nicméně stále velmi významnou

míru korelace vykazovala experimentální data po dosazení do Weibullovy funkce ($R \sim 0,952\text{--}0,993$) a Higuchiho modelu ($R \sim 0,931\text{--}0,999$). Srovnáním hodnot τ je jasné patrný vliv vzrůstajícího poměru polymer – léčivá látka. Čas τ potřebný pro uvolnění 63,2 % enkapsulované látky se prodloužil z 0,75 h u vzorku MP4PS až na 7,5 h u vzorku MP3PS.

Mikročástice připravené optimalizovaným procesem (vzorky MP2PS a MP3PS) dosahovaly poměrně vysoké enkapsulační účinnosti ($\sim 80\%$) a středního průměru přibližně 50 μm . Uzavřenou látku (DS) uvolňovaly po dobu 24 h a bylo by možné je použít jako základ násobné lékové formy vhodné pro perorální přívod vybrané modelové léčivé látky.

Použité zkratky

ČL	Český lékopis
DS	diklofenak sodná sůl
EE	enkapsulační účinnost
ERS	Eudragit® RS 100
GIT	gastrointestinální trakt

LITERATURA

1. Rabišková M.: Praktické lékárenství 1, 29 (2005).
2. Žabka M., Müller R. H., Hildebrand G. E., v knize: *Moderní lékové formy ve farmaceutické technologii*. SAP, Bratislava 2001.
3. Swarbrick J., Boylan J. C., v knize: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Marcel Dekker Inc., New York 2002.
4. Mathiowitz E., v knize: *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. J. Wiley & Sons, New York 1999.
5. Satturawar P. M., Mandaogade P. M., Dorle A. K.: *J. Microencapsulation* 19, 407 (2002).
6. Samani S. M., Montaseri H., Kazemi A.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 55, 351 (2003).
7. Billa N., Yuen K. H., Khader M. A. A., Omar A.: *Int. J. Pharm.* 201, 109 (2000).
8. Mateovic T., Kriznar B., Bogataj M., Mrhar A.: *J. Microencapsulation* 19, 29 (2002).
9. Sipos P., Csóka I., Srčič S., Pintye-Hódi K., Erős I.: *Drug Dev. Res.* 64, 41 (2005).
10. Lamprecht A., Koenig P., Ubrich N.: *Nanotechnology* 17, 3673 (2006).
11. Thanou M., Verhoef J. C., Junginger H. E.: *Pharm. Res.* 18, 1638 (2001).
12. Thanou M., Henderson S., Kydonieus A., Elson C.: *J. Controlled Release* 117, 171 (2007).
13. Kolektiv autorů: *Český lékopis 2005*. Elektronická verze. Grada Publishing, a.s., Praha 2005.
14. Tang Y., Gan K.: *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24, 549 (1998).
15. Maa Y. F., Hsu C.: *J. Controlled Release* 38, 219 (1996).
16. Viswanathan N. B., Thomas P. A., Pandit J. K., Kul-kami M. G., Mashelkar R. A.: *J. Controlled Release* 58, 9 (1999).
17. Quintanar-Guerrero D., Fessi H., Alléman E., Doelker E.: *Int. J. Pharm.* 143, 133 (1996).

K. Krejčová, E. Gryczová, and M. Rabišková
(Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno): Polymeric Microparticles for Oral Administration of Diclofenac Sodium

Microparticles are an intensively studied field of pharmaceutical technology. Reduced side effects and new drug delivery methods are some of the advantages they offer. The aim of this study was to develop and optimize the preparation of Eudragit® RS 100 microparticles containing diclofenac sodium. The emulsification – solvent evaporation method is one of the most common and widely used microencapsulation techniques. The influence of few selected processes and formulation variables on the microparticle characteristics was investigated for the emulsion of methanol in liquid paraffin. The following conditions were selected: polymer-to-drug ratio 2:1, emulsification with 1% Span® 80 at 19000 rpm and 40 °C. The dissolution of the drug from microparticles was controlled by diffusion.