

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Farmaceutické technologie

Kandidát **Mgr. Pavel Berka**

Školitel **Doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.**

Název disertační práce **Biofarmaceutické aspekty makromolekulárních nosičů pro systémovou sublingvální aplikaci léčiv**

Hlavním cílem práce bylo experimentálně ověřit hypotézu o možnosti sublingvální permeace makromolekul jako nosiče léčiv. K tomuto účelu byly vyhledány a vyhodnoceny informace o sublingvální cestě podání léčiv a vytvořen náhled na metodiky zpracování sublingválních i bukalních membrán pro potřeby in vitro pokusů. Z nalezených literárních dat vyplynul úkol navrhnout a ověřit novou metodiku zpracování a uchování sublingválních membrán vhodných pro permeační pokusy.

Nová metodika spočívá v šokovém zmrazení („flash freezing“) vypreparovaných membrán kompletního epiteliálního složení, se zachovanou lamina propria i částí vazivového podloží. Zmrazení membrán pomocí kapalného dusíku (-180 °C) bylo provedeno bez kryoprotektiv, aby nedošlo k ovlivnění permeabilních vlastností membrány, pouze s předchozí fixací proteinových struktur azidem sodným. Pro srovnání byly membrány zmrazeny („frozen“) také pomalým konvenčním zmrazením na -20°C.

Při mikroskopickém vyšetření nejevily čerstvá („fresh“) ani šokovým zmrazením zpracovaná membrána známky poškození, a to v případě šokově zmražené membrány ani po následném čtyřtýdenním uchování v běžné mrazničce při -20 °C. K orientačnímu, prvotnímu hodnocení bariérových vlastností takto zpracovaných membrán byla použita metoda měření impedance a permeabilních in vitro dat pro malou ve vodě rozpustnou molekulu kofeinu. Hodnoty zdánlivého permečního koeficientu Papp kofeinu získané pro čerstvou, konvenčně zmrazenou (20°C) i šokově zmraženou (-180 °C) membránu neprokázaly rozdílnost. Měření impedance a mikroskopické snímky nicméně ukázaly u konvenčně zmražených membrán značné narušení struktury.

K podstatnějšímu ověření integrity a in vitro permeability sublingválních membrán byly použity fluorescenčně značené dextransy rozdílných molekulových hmotností FD4, FD 20, FD40 a FD70. Naměřená data opět potvrdila shodu bariérových vlastností čerstvé i šokově zmražené membrány a použitelnost obou pro permeační pokusy. Bohužel se při těchto pokusech ukázalo, že dextransy nejsou vhodnými nosiči léčiv pro sublingvální způsob podání, neboť procházely přes membránu velice pomalu.

Proto jsme vyzkoušeli i jiný vzorový makromolekulární nosič léčiv, albumin. Elektrospinningem byly připraveny nanovlákněné stripy s obsahem fluorescenčně značeného albuminu. Otázkou bylo, zda se albumin z nanovláken uvolní a bude schopen i další permeace. Ukázalo se, že oba kroky albumin z nanovláken zvládne, a to na prokazatelně vyšší úrovni než z roztoku shodné výchozí koncentrace albuminu. V podobě nanovlákněného přípravku může být albumin za reálných in vivo podmínek při sublingválním podání chráněn proti ředění slinami a následnému spolknutí. Vzhledem k tomu bude skutečná permeace albuminu z nanovláken ještě mnohem vyšší než u roztoku analogického složení. Albumin v nanovlákněném přípravku se tak může stát vhodným nosičem pro malé molekuly léčiv při jejich neinvazivním systémovém sublingválním podání.

Klíčová slova: sublingvální aplikace léčiv, nanovlákněná, albumin, dextransy