

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie



Diplomová práce

**Příprava sprejově sušeného prášku s obsahem léčiva, chitosanu
a tenzidu**

*Preparation of spray-dried powder containing active substance, chitosan
and surfactant*

Hradec Králové, 2022

Helena Kubová

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpal/a, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové, Helena Kubová

Děkuji vedoucí diplomové práce PharmDr. Petře Svačinové, Ph.D. za cenné odborné rady a obětavou pomoc při zpracování mé diplomové práce. Také bych ráda poděkovala PharmDr. Tereze Vařilové a Lence Svobodové za pomoc při získávání údajů pro experimentální část práce.

OBSAH

1	ABSTRAKT	6
2	ABSTRACT	7
3	ZADÁNÍ A CÍLE PRÁCE	9
4	VYSVĚTLIVKY	10
5	ÚVOD.....	11
6	TEORETICKÁ ČÁST	12
6.1	Sprejové sušení.....	12
6.1.1	Jednotlivé fáze sprejového sušení.....	14
6.2	Tenzidy.....	16
6.2.1	Využití tenzidů pro zvýšení rozpustnosti léčiv.....	19
6.2.2	Využití tenzidů pro sprejové sušení.....	20
6.3	Chitosan a jeho využití pro sprejové sušení.....	25
7	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	31
7.1	Použité suroviny.....	31
7.2	Použité přístroje	31
7.3	Metody přípravy.....	33
7.3.1	Získání velikostní frakce chitosanu	33
7.3.2	Sprejové sušení	33
7.3.3	Optická mikroskopie.....	34
7.3.4	Skenovací elektronová mikroskopie (SEM).....	35
7.3.5	Diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC)	35
7.3.6	Disoluce a spektrofotometrie	36
8	DISKUZE A VÝSLEDKY.....	39
8.1	Vliv koncentrace roztoku a teploty sušení na velikost a tvar částic.....	40
8.2	Vyhodnocení teplotních charakteristik pomocí DSC.....	53

8.3	Vyhodnocení rychlosti a množství uvolněného léčiva pomocí disoluce a spektrofotometrie	63
9	ZÁVĚR.....	69
10	BIBLIOGRAFIE.....	71

1 ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Farmaceutická technologie

Školitel: PharmDr. Petra Svačinová, Ph.D.

Posluchač: Helena Kubová

Název diplomové práce: Příprava sprejově sušeného prášku s obsahem léčiva, chitosanu a tenzidu

Hlavní náplní této práce bylo připravit sprejově sušený prášek s obsahem meloxicamu, chitosanu a tenzidu CTAB. Sprejové sušení je metoda, která se využívá mimo jiné také pro zvýšení biologické dostupnosti špatně rozpustných léčiv. Tenzidy jsou látky, které zvyšují rozpustnost léčiv mechanismem micelární solubilizace. Byly připraveny vzorky o různých koncentracích meloxicamu a konstantním množství tenzidu CTAB a nosiče chitosanu. Pro sprejové sušení byly použity tři různé teploty – 170 °C, 190 °C a 210 °C. Byla hodnocena zejména účinnost tenzidu CTAB na vlastnosti částic a uvolňování léčiva ze sprejově sušených vzorků.

Pro přípravu prášku sprejovým sušením byla použita tryska o průměru 1,4 mm. Pro hodnocení vzhledu částic získaného sušeného prášku byly využity metody optické mikroskopie a SEM. Teplotní charakteristiky byly hodnoceny pomocí DSC. Množství a rychlost uvolněného léčiva byly vyhodnoceny po disoluční zkoušce.

Částice získaného prášku měly nepravidelný destičkovitý tvar odpovídající částicím chitosanu, na jejich povrchu byly zachyceny sférické částice meloxicamu s CTAB, které vytvářely shluky. Změny teplot a různé koncentrace léčiva neměly vliv na vzhled částic. Na DSC termogramech byl zaznamenán pouze pík dehydratace chitosanu a pík fázového přechodu CTAB. Pík teploty tání meloxicamu a CTAB nebyl zachycen, což může znamenat změnu krystalické formy meloxicamu v amorfní. Množství uvolněného léčiva bylo výrazně vyšší u sprejově sušených vzorků s výjimkou směsí s obsahem 10 mg meloxicamu. Nejvíce léčiva se uvolnilo po 5-15 minutách disoluce. Nejlepších hodnot dosáhly vzorky sušené při 170 °C a 190 °C.

2 ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of: Pharmaceutical Technology

Consultant: PharmDr. Petra Svačinová, Ph.D.

Student: Helena Kubová

Title of Thesis: Preparation of spray-dried powder containing active substance, chitosan and surfaktant

The main of this work was to prepare spray-dried powder containing meloxicam, chitosan and CTAB as surfactant. Spray drying is a method used to increase the bioavailability of poorly soluble drugs. Surfactants are substances that increase the solubility of drugs by the mechanism of micellar solubilization. Samples with different concentrations of meloxicam and constant amount of CTAB and chitosan used as a carrier were prepared. Three different temperatures, 170 °C, 190 °C and 210 °C were used for spray drying. The effectiveness of CTAB on properties of prepared particles and on the drug release from the samples was evaluated.

The 1,4 mm diameter nozzle was used for spray drying. Optical microscopy and SEM were used to evaluate the appearance of prepared particles and the thermal characteristics were evaluated by DSC. The amount of drug released was evaluated using dissolution test.

The particles of obtained powder had an irregular plate-like shape corresponding to chitosan particles. Spherical particles of meloxicam with CTAB forming clusters were trapped on the surface. Changes in temperature and different concentrations of the drug did not affect the appearance of particles. Only the chitosan dehydration peak and the CTAB phase transition peak were observed in the DSC thermograms. The melting temperature of meloxicam and CTAB was not detected, which may indicate the change of crystalline form of meloxicam to amorphous form. The amount of drug released was significantly higher in the spray-dried samples, except of mixtures containing 10 mg of meloxicam. Most of the drug was released

after 5-15 minutes of dissolution. The best results were obtained for samples dried at 170 °C and 190 °C.

3 ZADÁNÍ A CÍLE PRÁCE

Cílem diplomové práce je příprava a následné hodnocení sprejově sušených částic s obsahem léčiva, chitosanu a tenzidu. Experimentální část bude zaměřena především na přípravu částic, nastavení a výběr vhodných parametrů procesu sprejového sušení a hodnocení uvolňování léčiva z připraveného prášku.

Částice budou připraveny ze suspenze chitosanu v roztoku léčiva s tenzidem (CTAB). Pro sušení budou nastaveny různé vstupní teploty. Vliv vstupní teploty sušení a koncentrace léčiva bude hodnocen mikroskopicky (vzhled částic), tepelné charakteristiky budou sledovány pomocí diferenciální skenovací kalorimetrie a uvolňování léčiva bude hodnoceno pomocí disoluce.

Získané výsledky budou sloužit především k ověření možnosti využití tenzidu CTAB ke zrychlení uvolňování léčiva ze sprejově sušených částic a porovnání jeho efektivity s dalšími možnými tenzidy.

4 VYSVĚTLIVKY

MX – meloxikam

CTAB – cetyltrimethylamonium-bromid

CH – chitosan

DSC – diferenciální skenovací kalorimetrie

SEM – skenovací elektronová mikroskopie

CMC – kritická micelární koncentrace

5 ÚVOD

Sprejové sušení je metoda používaná již od 40. let 20. století zejména v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Jedná se o proces založený na přeměně roztoku, suspenze nebo emulze na sušený prášek prostřednictvím horkého plynného média. Kapalina je rozprašována přes atomizér do sušicí komory na malé kapičky, které přijdou do kontaktu s horkým plynem a usušené částice se prostřednictvím cyklonu zachycují ve sběrné nádobě. Produktem sprejového sušení je jemný prášek s úzkou distribucí velikosti částic obvykle kulovitěho tvaru. Sprejové sušení je zároveň vhodnou metodou pro sušení léčiv citlivých na teplo, jako jsou např. proteinové léky. Ve farmaceutickém průmyslu se sprejové sušení využívá zejména pro zvýšení biologické dostupnosti špatně rozpustných léčiv, maskování chuti léčiv, přípravu inhalačních přípravků nebo pro přípravu lékových forem s řízeným uvolňováním. [1, 2, 3]

Tenzidy neboli povrchově aktivní látky jsou často používanými pomocnými látkami ve farmaceutických přípravcích. Jsou to látky, které svou povahou mohou ovlivnit rychlost a rozsah absorpce léčiv. Při překročení kritické micelární koncentrace (CMC) mají schopnost shlukovat se ve vodných roztocích a vytvářet tzv. micely, které se spojují s organickými i anorganickými látkami a solubilizují je. [4]

V této práci byl zkoumán vliv tenzidu (CTAB) na zlepšení rozpustnosti meloxicamu ve směsi s chitosanem u prášku připraveného sprejovým sušením.

6 TEORETICKÁ ČÁST

6.1 Sprejové sušení

Sprejové sušení je proces založený na přeměně kapaliny (roztoku, suspenze, emulze) v suchý prášek pomocí rozprašování přes atomizér do horkého sušícího plynu – vzduchu, někdy i dusíku. Rozpouštědlo se odpaří, zatímco získaný prášek se zachycuje. Jedná se o techniku, která se používá jak ve farmaceutickém a biofarmaceutickém průmyslu, tak i v potravinářském, chemickém a elektronickém průmyslu. Sprejové sušení bylo dříve považováno především za dehydratační proces, avšak v současné době se používá jako prostředek pro zapouzdření hydrofilních i hydrofobních účinných látek v různých nosičích. Toho se ve farmaceutickém průmyslu využívá zejména ke zvýšení absorpce a biologické dostupnosti některých léčiv, maskování chuti léčiv, ochranu fyzikálně-chemicky nestabilních účinných látek a také pro přípravu lékových forem s řízeným uvolňováním. Dále byla metoda sprejového sušení využita i při přípravě očkovacích látek v tzv. suché formě, které jsou oproti kapalným formám vhodnější díky sníženému riziku chemického a fyzikálního poškození, agregace částic, ireverzibilní denaturace nebo výkyvu pH. Sprejové sušení se často využívá i pro výrobu prášků k inhalaci. V potravinářském průmyslu je tato metoda užitečná pro výrobu suchého prášku, např. různé mléčné výrobky, instantní káva, instantní polévky nebo dětská výživa. [1, 2, 5, 6, 7, 8]

Vývoj zařízení a metody sprejového sušení probíhal od 70. let 19. století do počátku 20. století a následně byl stále zdokonalován. První známé sušárny používaly tryskové atomizéry a postupně byly zaváděny také rotační atomizéry. Vzhledem k nedokonalým konstrukcím a praktickým obtížím byl tento proces až do 20. let 20. století využíván jen velmi málo. Prvním velkým využitím této technologie bylo sušení mléka. Sprejové sušení se rozvinulo hlavně během druhé světové války, kdy bylo nutné snížit transportní hmotnost potravin a dalších materiálů. [9]

Ve farmaceutické technologii bylo sprejové sušení poprvé použito při sušení přirozeně získaných léčivých extraktů. Výhoda této metody tkví ve skutečnosti, že má schopnost sušit i extrakty vysoce citlivé na teplo, čímž se zabrání riziku rozkladu jejich složek. Ve srovnání s ostatními metodami sprejové sušení poskytuje homogenní

prášky s vhodnými vlastnostmi, a proto se sušené extrakty připravují právě touto formou. [5]

Celý děj probíhá ve sprejových sušárnách různého typu (Obr. 1). Fyzikálně-chemické vlastnosti prášku jsou ovlivněny parametry procesu, jako je vstupní a výstupní teplota sušícího média, atomizační tlak, nebo způsob, jakým se rozprašované kapičky dostávají do kontaktu se sušícím vzduchem. Zároveň jsou ovlivněny i vlastnostmi výchozí suroviny. Důležitým faktorem, který ovlivňuje chování kapiček při sušení, je konstrukce sušárny. [7]



Obrázek 1: Sprejová sušárna Büchi Mini Spray Dryer B-290 [10]

Při srovnání sprejového sušení s jinými procesy běžně používanými v průmyslu, jako je například sušení mrazem (lyofilizace), je sprejové sušení kratší a levnější, protože nezahrnuje hluboké chlazení, které je obvykle spojené s velkou spotřebou energie. [6]

Výhodou pevných produktů získaných sprejovým sušením je vyšší chemická a fyzikální stabilita ve srovnání s tekutými formami. Mohou být použity i jako prekurzory pro výrobu dalších lékových forem, jako jsou tobolky a tablety. Další nespornou výhodou sprejového sušení je možnost sušení širokého spektra směsí včetně látek citlivých na teplo. To je umožněno atomizací kapaliny na malé kapičky s vysokým poměrem plochy povrchu k objemu, což vede k velmi rychlému odpařování rozpouštědla. Mezi výhody sprejového sušení se také řadí možnost výroby téměř kulovitých částic. Získané pevné částice mají relativně úzkou distribuci velikosti částic v submikronovém až mikronovém měřítku. Značnou nevýhodou je však nízký laboratorní výnos. Ten je způsoben ztrátou produktu na stěnách sušicí komory. [6, 9]

6.1.1 Jednotlivé fáze sprejového sušení

Sprejové sušení se skládá z několika dílčích kroků, které na sebe bezprostředně navazují. Před zavedením do sprejové sušárny se obvykle provádí koncentrace vstupní suroviny. Vyšší obsah pevných látek ve směsi snižuje množství kapaliny, která se musí odpařit, a tím zvyšuje energetickou účinnost.

Sprejové sušení zahrnuje čtyři hlavní fáze:

- atomizaci kapaliny na jemné kapičky
- kontakt kapiček se vzduchem
- sušení
- separace sušeného produktu od sušicího plynu [11]

a) Atomizace

Atomizace je prvním krokem sprejového sušení, při kterém dochází k rozprašování kapaliny na jemné kapičky v proudu horkého plynu. Cílem této fáze je zvětšit povrch částic, a tím výrazně zvýšit přenos tepla mezi plynem a kapalinou, což má za následek vypaření rozpouštědla během několika sekund. Čím vyšší je energie použitá k dosažení atomizace, tím menší budou kapičky/částice. Atomizační fáze umožňuje tvorbu částic s požadovanými fyzikálně-chemickými a morfologickými vlastnostmi. [11, 12]

Rozlišujeme několik druhů atomizérů: rotační atomizéry, hydraulické (tlakové) trysky, pneumatické trysky a ultrazvukové atomizéry. Atomizér se

vybírání hlavně na základě látky podrobené sušení, požadovaných vlastností a velikosti částic. Vyrobené částice/kapčky nesmějí být příliš velké, aby mohly být řádně vysušeny, ani příliš malé, aby se nepřehřály a nespálily. Průchod materiálu do atomizéru usnadňuje peristaltické čerpadlo, proto není vhodné používat viskózní materiály. Peristaltické čerpadlo také společně s atomizérem řídí rychlost, s jakou je materiál vháněn do sušárny. [12, 13]

b) Kontakt kapek se vzduchem a sušení

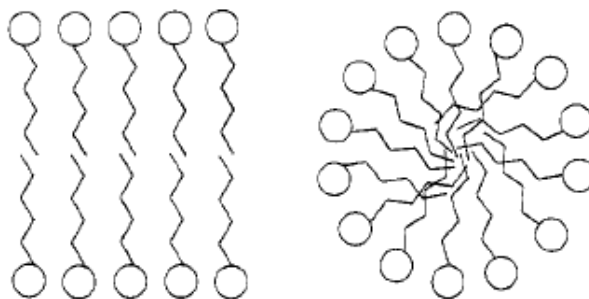
Druhým krokem sprejového sušení je smísení atomizovaných kapček se sušicím médiem (vzduchem nebo inertním plynem), které probíhá v sušicí komoře. Dochází tak k odpařování vody nebo rozpouštědla a vytváří se suchý prášek. Způsob, jakým se atomizované kapčky dostávají do kontaktu s proudem vzduchu, ovlivňuje chování kapčky během sušení a má přímý vliv na vlastnosti sušeného produktu. Rozlišujeme proto souběžné (atomizér i horký vzduch jdou stejným směrem), protiproudé (atomizér a vzduch přichází z opačných stran) a smíšené proudění. [9, 11, 13]

c) Separace suchých částic od sušícího plynu

Posledním krokem sprejového sušení je oddělení suchého produktu od sušícího média. To se často provádí pomocí cyklonu umístěného mimo sušicí komoru. Cyklony oddělují pevné částice od vzduchu odstředivou silou, která je vytvořena nastavením vzduchu do rychlého rotačního pohybu. Snadnost nebo obtížnost oddělení částic od sušícího média závisí na hustotě částic, velikosti částic a jejich usazovací rychlosti v cyklonu. Do sběrné nádoby se přenášejí pouze zcela vysušené částice, zejména ty nejmenší. Větší částice spolu s částicemi, které nejsou zcela vysušeny, nemohou být proudem vzduchu ze sušící komory vynášeny a jsou zachyceny ve spodní části sušící komory. [11, 12]

6.2 Tenzidy

Tenzid neboli povrchově aktivní látka je sloučenina s nízkou až střední molekulovou hmotností, která má schopnost koncentrovat se na rozhraní dvou fází, čímž snižuje povrchové napětí soustavy a mění tak vlastnosti těchto povrchů. Je složena z hydrofilní a hydrofobní části – jedná se tedy o amfifilní látky. Hydrofilní část molekuly tvoří polární funkční skupina (např. karboxylát, sulfát), která je snadno rozpustná ve vodě, zatímco hydrofobní část je tvořena obvykle nepolárními uhlovodíky snadno rozpustnými v oleji. V případě, že jsou obě části molekuly v rovnováze, povrchově aktivní látka se hromadí na fázovém rozhraní. Se zvyšující se koncentrací tenzidu pak vznikají shluky, tzv. micely. V nich jsou molekuly povrchově aktivních látek uspořádány tak, že polární skupiny tvoří „slupku“, zatímco nepolární zbytky uhlovodíků jsou umístěny uvnitř micely. Mohou však být vytvořeny i další struktury, jako např. lamelární fáze. Tyto struktury jsou znázorněny na obrázku 2. Typ vytvořených struktur pak závisí na různých parametrech (velikost hydrofobní části, povaha a velikost polární skupiny, teplota, pH), díky kterým se může jedna struktura proměnit v druhou. [14, 15, 16, 17]



Obrázek 2: Schematické znázornění lamelární micely (vlevo) a sférické micely (vpravo) [18]

Povrchově aktivní látky (Obr. 3) se klasifikují podle své polární skupiny na [17, 19]:

- a) Aniontové tenzidy (např. laurylethersulfát sodný – SLES, laurylsíran sodný)

Do této skupiny se řadí karboxyláty ($-\text{CO}_2^-$), sulfonáty ($-\text{SO}_3^-$) a sírany ($-\text{OSO}_3^-$). Vyskytují se zejména v čisticích prostředcích (mýdla, šampony, zubní pasty atd.)

b) Kationtové tenzidy (např. trimethylamonium bromid – TAB, CTAB)

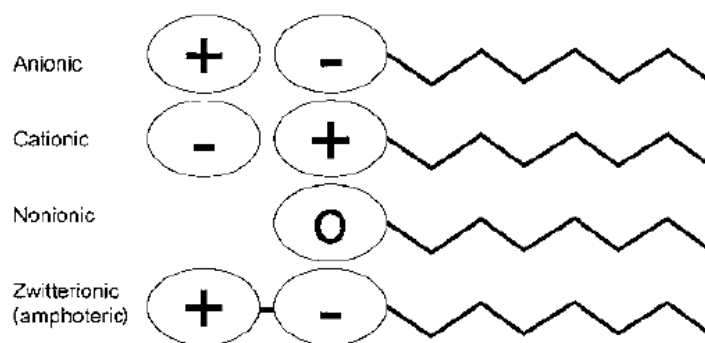
Tyto tenzidy tvoří zejména kvartérní sloučeniny amonia, imidazolinia nebo alkyipyridinia. Vzhledem ke svému kladnému náboji mají vysokou schopnost interagovat se záporně nabitými vlákny, jako jsou např. vlasy. Proto se využívají často jako vlasové kondicionéry.

c) Neionogenní tenzidy (např. kokamid DEA, Polysorbát 80)

Této skupině dominují především ethoxyláty, které se převážně využívají jako emulgátory.

d) Zwitterionové tenzidy (např. kokamidopropyl betain – Amfotensid B5)

Tenzidy tohoto typu se vyskytují nejčastěji ve formě betainů či sulfobetainů a využívají se především v toaletních potřebách a dětských šamponech pro nízké dráždění a pálení očí.



Obrázek 3: Schematické znázornění jednotlivých typů surfaktantů [16]

Tenzidy se s výhodou využívají ke zlepšení rozpustnosti špatně rozpustných léčiv. Velmi důležitou vlastností je jejich samoagregace neboli shlukování v roztoku. Prahová koncentrace tenzidů, potřebná pro proces samoagregace, se nazývá kritická micelární koncentrace (CMC). Povrchově aktivní látky se solubilizují ve vodném roztoku v závislosti na koncentraci, a to díky současné přítomnosti lipofilních a hydrofilních částí v jejich struktuře. Při velmi nízké koncentraci se tenzidy jednotlivě adsorbují na rozhraní vzduch-voda. Když koncentrace povrchově aktivních látek překročí jejich CMC, dochází k tvorbě micel, které zapouzdřují léčiva (lipofilní do svého hydrofobního jádra, hydrofobní se adsorbují na povrchu micely), čímž se příznivě mění farmakokinetika a biodistribuce léčiva, zvyšuje se tak rozpustnost a tím i biologická dostupnost léčiva. Tento děj se označuje jako micelární solubilizace.

Surfaktanty se také často používají ke stabilizaci suspenzí a mikroemulzí, ve kterých se rozpouštějí léčiva. [20, 21, 22]

Pro stanovení CMC existuje mnoho metod a výběr metody závisí na povaze povrchově aktivní látky. Během tvorby micel se velmi prudce mění fyzikálně-chemické vlastnosti tenzidu, jako je např. povrchové napětí, osmotický tlak, rozpustnost, rozptyl světla, elektrická vodivost, magnetická rezonance nebo solubilizace. Díky těmto změnám je možné změřit CMC. Pro stanovení CMC se tedy využívají metody měření povrchového napětí, vodivosti, solubilizace přidaného barviva nebo např. kapilární elektroforéza, potenciometrie, NMR, infračervená spektrometrie nebo fluorescenční spektroskopie. [23, 24]

Micely jsou nestálé jednotky tvořené z povrchově aktivních monomerů spojených nekovalentní vazbou. Mohou být kulovité, válcové nebo planární. Tvar a velikost micel je dána chemickou strukturou povrchově aktivní látky, teplotou, pH a celkovou koncentrací povrchově aktivní látky. Micely mohou být dále rozděleny do dvou skupin [25, 26]:

a) Smíšené micely

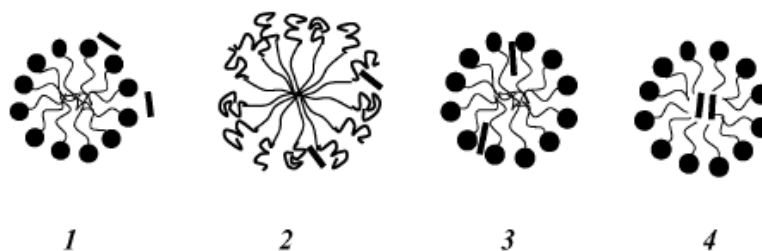
Smíšené micely mají hydrofobní jádro, ve kterém mohou být rozpuštěny špatně rozpustné látky. Průnik do micely je závislý na vnitřním prostoru micely (hydrofobní jádro), lipofilítě léčiva a na náboji molekuly. Smíšené micely pak vznikají díky interakcím mezi lipofilním léčivem a micelou. Přidáním soli či alkoholu do micelárního roztoku může být ovlivněn průnik léčiva do micely, jedná se o tzv. kosolubilizaci. O velikosti a tvaru micel rozhoduje chemické složení povrchově aktivní látky. [25]

b) Polymerní micely

Polymerní micely se využívají zejména pro doručování léčiv do místa účinku. Tvoří se z kopolymerů, které se skládají z hydrofobních i hydrofilních monomerních jednotek (např. PEO – polyethylenoxid, PPO – polypropylenoxid). Jsou bezpečné pro parenterální podávání silných toxických a ve vodě špatně rozpustných léčiv, jako např. amfotericin B, paklitaxel, propofol atd. Aby se však léčivo mohlo rozpustit, je zapotřebí kompatibility

mezi léčivem a polymerním jádrem micely. Prokázalo se, že polymerní micely díky PEO vrstvě nepodléhají opsonizaci, a tím i následnému rozpoznání makrofágy retikuloendoteliálním systémem (RES). Mohou tak delší dobu cirkulovat v krvi, aniž by je hostitelská obrana „zlikvidovala“ a přednostně se hromadí v místech onemocnění, jakým může být např. nádor. Umožňuje to také snížení dávky toxického léčiva bez ztráty účinku. [25, 26]

Na obrázku 4 je znázorněno, v jakých částech micely může být léčivo umístěno. Hydrofilní léčiva se zadržují na polárních skupinách micely – na povrchu (1). Léčiva se střední rozpustností jsou pak umístěna buď ve vrstvě mezi hydrofilními skupinami (2) nebo ve vrstvě mezi hydrofilními a hydrofobními skupinami (3). Hydrofobní léčiva se rozpouští uvnitř micely (4). [26]



Obrázek 4: Rozpustnost léčiv v micelách – tučné čáry znázorňují léčivo [26]

6.2.1 Využití tenzidů pro zvýšení rozpustnosti léčiv

Rozpustnost léčiva ve vodě je základní vlastnost, která hraje důležitou roli při vstřebávání léku po jeho perorálním podání. Ovlivňuje tedy absorpční a distribuční vlastnosti léčiv. Určuje také možnost parenterálního podávání léčiv a dále je důležitá i při vývoji nových léčiv. Mezi další faktory, které ovlivňují biologickou dostupnost, patří propustnost léku, rychlost rozpouštění, metabolismus prvního průchodu, presystémový metabolismus a citlivost na efluxní mechanismy. Léčiva špatně rozpustná ve vodě nedosahují potřebných koncentrací v systémovém oběhu a tím se snižuje jejich terapeutická účinnost, proto je zvýšení rozpustnosti léků důležitým úkolem ve farmaceutické technologii. Každé léčivo, které se má vstřebat, musí být ve formě vodného roztoku v místě vstřebání. Ke zvýšení rozpustnosti se využívá velké množství metod, jednou z nich je i použití povrchově aktivní látky. Tento přístup se

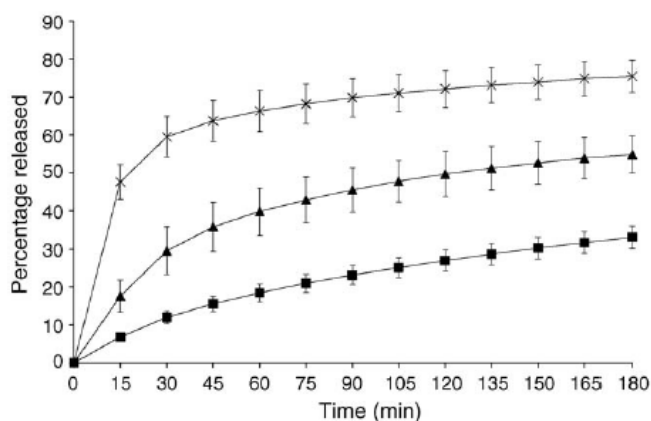
jeví jako vhodná metoda pro solubilizaci špatně rozpustných léčiv, protože povrchově aktivní látky jsou přítomny i v gastrointestinální tekutině, např. žlučové soli, lecitin, cholesterol a jeho estery. [20, 27, 28, 29]

Pro porovnání účinku různých druhů povrchově aktivních látek na disoluční profily kyselých léčiv s omezenou rozpustností provedli studii Park a Choi [28]. Cetyltrimethylamonium-bromid (CTAB) byl použit jako kationtový tenzid, laurylsulfát sodný (SLS) jako aniontový tenzid a polysorbát 80 (Tween 80) jako neiontový tenzid. Jako účinné látky byly vybrány kyselina mefenamová, nimesulid a ibuprofen. Tablety s léčivem byly rozpuštěny ve fosfátovém pufru o pH 6,8 bez přidané povrchově aktivní látky a v pufru s obsahem tenzidu. Během studie se zjistilo, že se z tablet obsahujících kyselinu mefenamovou za 2 hodiny uvolnilo méně než 10 % léčiva, avšak po přidání 1 % CTAB toto množství vzrostlo až na 90 %. Po přidání 1 % polysorbátu 80 nebo 1 % SLS vzrostl stupeň rozpuštění kyseliny mefenamové přibližně o 40 %. Rozsah rozpouštění kyseliny mefenamové tak významně závisí na použité povrchově aktivní látce. U nimesulidu a ibuprofenu byla rychlost rozpouštění zvýšena všemi třemi povrchově aktivními látkami, nejvíce však po přidání CTAB.

6.2.2 Využití tenzidů pro sprejové sušení

Jedním z cílů sprejového sušení je zvýšit rozpustnost špatně rozpustných léčiv ve vodě. Nízká rozpustnost je častým problémem během procesu formulace léčiv. Až 40 % nových účinných látek má vysokou lipofilitu, která je spojena s nízkou rozpustností ve vodě a nízkou biologickou dostupností, což vede k potížím při jejich podávání. Častým způsobem, jak zlepšit rozpouštění, je snížení velikosti částic. Toho lze dosáhnout právě metodou sprejového sušení, během kterého vznikají mikročástice s požadovaným rozsahem velikosti. Výhodou této metody je také možnost začlenění povrchově aktivní látky do pevné disperze, čímž se dále zvyšuje rychlost rozpouštění špatně rozpustného léčiva. Povrchově aktivní látky se adsorbují na povrch částic a snižují mezipovrchové napětí mezi pevnou a kapalnou fází, čímž se zlepšuje smáčivost hydrofobního léčiva. Tenzidy navíc mohou mít vliv i na intermolekulární interakce přítomné v pevných disperzích. [30, 31, 32]

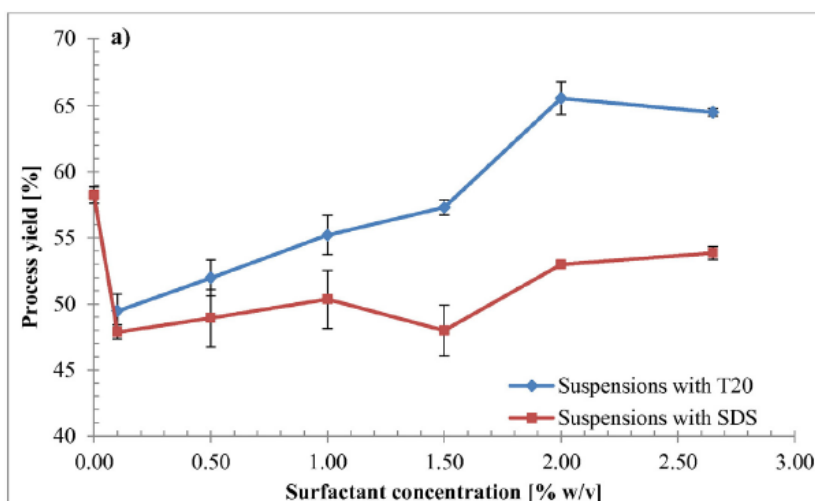
Studie, kterou vedl Wong a kol. [32], se zabývala zvýšením rozpustnosti a biologické dostupnosti špatně rozpustného léčiva griseofulvinu. Pro přípravu mikročástic byla použita metoda sprejového sušení s malým množstvím povrchově aktivní látky – Poloxameru 407. Přítomnost povrchově aktivní látky na povrchu částic se potvrdila měřením kontaktního úhlu. Částice griseofulvinu s Poloxamerem 407 měly nižší kontaktní úhel ($81,6^\circ$) a tedy lepší schopnost smáčení než částice samotného griseofulvinu ($92,1^\circ$). Následně byly provedeny disoluce, během kterých se prokázalo, že sušené mikročástice griseofulvinu a Poloxameru 407 vykazovaly rychlejší rozpouštění oproti kontrole, přičemž 50 % léku se uvolnilo během 15 minut (Obr. 5). Zároveň se v této studii prokázalo, že sprejové sušení snižuje agregační tendenci částic.



Obrázek 5: Disoluční profil lékových forem s griseofulvinem – kontrola (čtverec), sprejově sušené částice (trojúhelník), sprejově sušené částice s Poloxamerem 407 (křížek) [32]

Cílem studie, kterou vedl Battista a kol. [33], bylo vytvořit mikročástice fytosterolů s přídavkem arabské klovatiny, maltodextrinu a povrchově aktivní látky. Hlavní částí této studie bylo hodnocení vlivu různých povrchově aktivních látek na výtěžnost, účinnost zapouzdření, retenci fytosterolů a velikost částic prášku. Byl použit neiontový tenzid Polysorbát 20 (Tween-20) a aniontový tenzid laurylsíran sodný (SDS). Fytosteroly jsou rostlinné steroly, které nejsou rozpustné ve vodě. Přidávají se do potravin díky svému hypocholesterolemickému účinku. Tohoto účinku však dosahují při průměrné velikosti částic okolo $25 \mu\text{m}$, kdy se fytosteroly ve střevě začleňují do micelární fáze, a tím se zlepšuje jejich biologická dostupnost. Pomocí

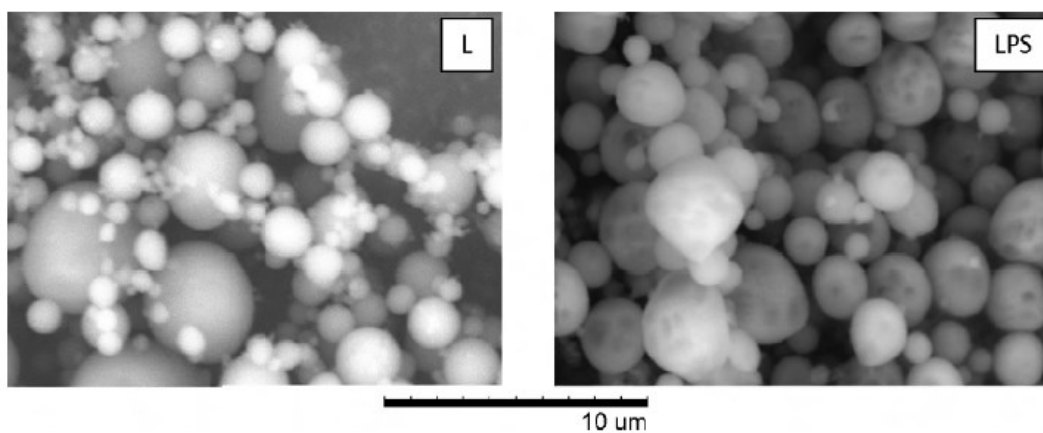
sprejového sušení se podařilo vytvořit částice s vysokou kvalitou a stabilitou. Z obrázku 6 je názorně vidět, že výtěžnost procesu je ovlivněna koncentrací a typem povrchově aktivní látky. Se stoupající koncentrací povrchově aktivní látky stoupá i výtěžnost procesu (Obr. 6), přičemž výrazná změna byla zejména u Tween-20. Naopak přidáním SDS došlo k lepší účinnosti zapouzdření, retenci fytoesterolů a menším velikostem mikročástic. Přidáním povrchově aktivní látky se mimo jiné zlepšila stabilita disperzí určených ke sprejovému sušení, a tím se zvýšila i účinnost zapouzdření.



Obrázek 6: Vliv koncentrace T20 (Tween-20) a SDS (laurylsulfát sodný) na výtěžnost procesu [33]

Ve studii, kterou provedli Sosnowski a kol. [34], se věnovali zkoumáním vlivu složek plicní povrchově aktivní látky (PULMS) v roztoku laktózy na vlastnosti práškového léčiva k inhalaci připraveného pomocí sprejového sušení. Během inhalace léčiva musí dojít k rozpadnutí shluků na částice o velikosti menší než 5 μm , protože pak mají schopnost pronikat do dýchacích cest a dostat se až do plic. Shluky částic se mohou ukládat v horních dýchacích cestách a způsobovat vedlejší nežádoucí účinky. Cílem studie bylo zlepšit rozpadnutí těchto shluků na aerosolové částice přidáním povrchově aktivní látky. Prokázalo se, že povrchově aktivní látky změnilly morfologii práškových částic a snížily fyzikálně-chemické interakce mezi částicemi, čímž usnadnily aerosolizaci prášku. SEM obrázky (Obr. 7) ukázaly rozdíl mezi prášky s obsahem laktózy 10 % (L) a prášky s obsahem laktózy 10 % a PULMS 0,1 % (LPS).

Částice vzniklé z L roztoku byly kulovité oproti částicím z LPS roztoku. Oba prášky vytvářely shluky, ale prášek s PULMS vykazoval lepší aerosolizaci.



Obrázek 7: SEM obrázky prášku s obsahem laktózy (L) a prášku laktózy a PULMS (LPS) [34]

Zkoumáním vlivu tenzidů a proteinů během sprejového sušení na snížení lepivosti sacharózy se zabývali Adhikari a kol. [35]. Sprejové sušení nízkomolekulárních cukrů je obtížné vzhledem k jejich lepivosti, kvůli které je téměř nemožné přeměnit cukr na čistý amorfni prášek. V této studii byla vybrána sacharóza jako modelová látka nízkomolekulárních cukrů. Jako proteiny (nosiče) byly použity kaseinát sodný a hydrolyzovaný izolát syrovátkového proteinu. Pro úpravu lepivosti se v současné době používají nosiče, jako jsou maltodextriny, gumy nebo právě bílkoviny. Zjistilo se, že bílkoviny během procesu sušení přednostně migrují na rozhraní vzduch-voda a vytváří hladký a nelepivý film, který se v proudu horkého a suchého vzduchu přeměňuje na skelný povlak a zabraňuje lepivosti sacharózy. Cílem této studie bylo prozkoumání vlivu povrchově aktivních látek na migraci bílkovin na povrch kapek. Polysorbát 80 (Tween-80) byl vybrán jako neiontová povrchově aktivní látka a dodecyl-sulfát sodný (Na-DS) jako iontová povrchově aktivní látka. Celková výtěžnost sacharózy bez přidané bílkoviny činila asi 18 %, přičemž vytvořené prášky byly zcela krystalické, tudíž výtěžnost prášku byla prakticky nulová. Přidáním 0,125% bílkoviny výtěžnost prášku vzrostla na 84-85 %. Avšak po přidání 0,05 % Tween-80 byla výtěžnost prášku téměř nulová, protože Tween-80 vytlačil bílkoviny z povrchu kapek. Přidáním 0,05 % Na-DS do roztoku došlo ke snížení výtěžnosti o 21 % v porovnání s roztokem sacharózy a bílkoviny, což ukazuje, že tato povrchově aktivní

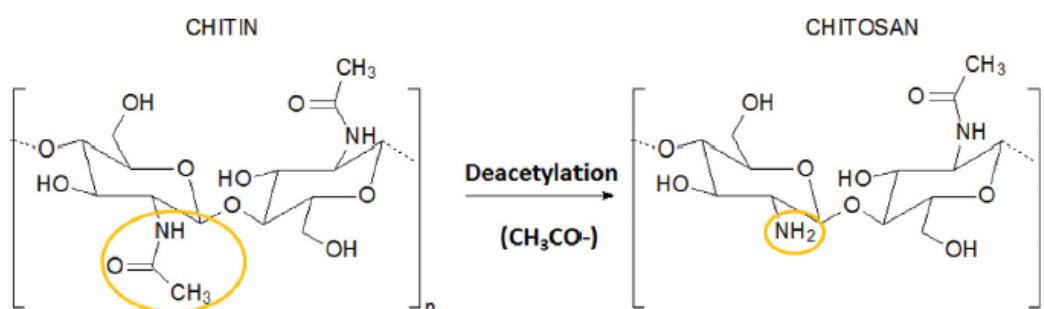
látka pouze částečně vytlačila protein z povrchu kapek. To je způsobeno molekulárními interakcemi povrchově aktivních látek a bílkovin a vzájemným „soutěžením“ na rozhraní vzduch-voda.

Další studie, kterou vedl Osorio a kol. [36], se zabývala zjišťováním optimální teploty během sprejového sušení a koncentrace povrchově aktivních látek pro získání syrovátkového proteinového koncentráту (WPC) v prášku. WPC se používá v potravinářském průmyslu pro vysoký obsah bílkovin, které mají emulgační a pěnové vlastnosti. Díky svým pěnovým vlastnostem se bílkoviny uplatňují v horkých nápojích, cukrovinkách apod. Vysoké teploty během sprejového sušení však negativně ovlivňují tyto vlastnosti a způsobují modifikaci proteinů, která má za následek flokulaci a koalescenci. Dochází tak k denaturaci proteinů. Cílem této studie byla proto optimalizace podmínek za účelem vytvoření WPC s použitím v horkých nápojích. Byly studovány tři koncentrace povrchově aktivní látky (Tween-60) a tři teploty sprejového sušení. Následně se optimální hodnoty zjišťovaly pomocí senzorické analýzy. Zjistilo se, že přidáním povrchově aktivní látky dochází k interakci mezi aktivními místy bílkovin a povrchově aktivní látkou, čímž se zabrání flokulaci i koalescenci. Za optimální hodnoty byla stanovena teplota 210 °C a koncentrace tenzidu 1,50 g/100 g. Výsledná pěnovost WPC byla 3,80 ml.

Další studii, která se zabývala účinky povrchově aktivních látek u sprejově sušeného mléka, provedl Lallbeeharry a kol. [37]. Sprejově sušené plnotučné mléko bez přidané povrchově aktivní látky je často až z 98 % pokryto povrchovým tukem, což zvyšuje náchylnost sušeného mléka k oxidaci během skladování a snižuje smáčivost během rekonstituce. Proto se na závěr sprejového sušení potahuje sušené mléko povrchově aktivní látkou, např. lecitinem. Tento proces potahování je však časově i energeticky náročný, a proto se tato studie zaměřuje na souběžné sušení mléka a povrchově aktivní látky. Pro hodnocení byly připraveny vzorky plnotučného mléka s 0,1 % povrchově aktivní látky Tween 80 a vzorky plnotučného mléka s 1 % lecitinu. Během sprejového sušení se povrchově aktivní látka adsorbuje na povrch mléčných kapek, čímž se sníží povrchový tuk. V této studii se prokázalo, že přidáním povrchově aktivní látky došlo po vysušení k tvorbě smáčitelnějších částic, přičemž částice s Tween 80 byly více smáčivé než částice s lecitinem.

6.3 Chitosan a jeho využití pro sprejové sušení

Chitosan je přírodní kationtový polysacharid, který se získává alkalickou N-deacetylací (Obr. 8) z chitinu produkovaného korýši, měkkýši, hmyzem i buněčnou stěnou hub. Skládá se z D-glukosaminu a N-acetyl-D-glukosaminu, který je náhodně rozložen uvnitř polymeru. Chitosan se liší od chitinu ve stupni N-acetylce (40-98 %) a molekulové hmotnosti (50-2000 kDa). Díky jeho vlastnostem, jako je biologická rozložitelnost, biokompatibilita, nízká toxicita a nízká imunogenita, se často využívá jako pomocná látka v lékových formách. [38, 39, 40]



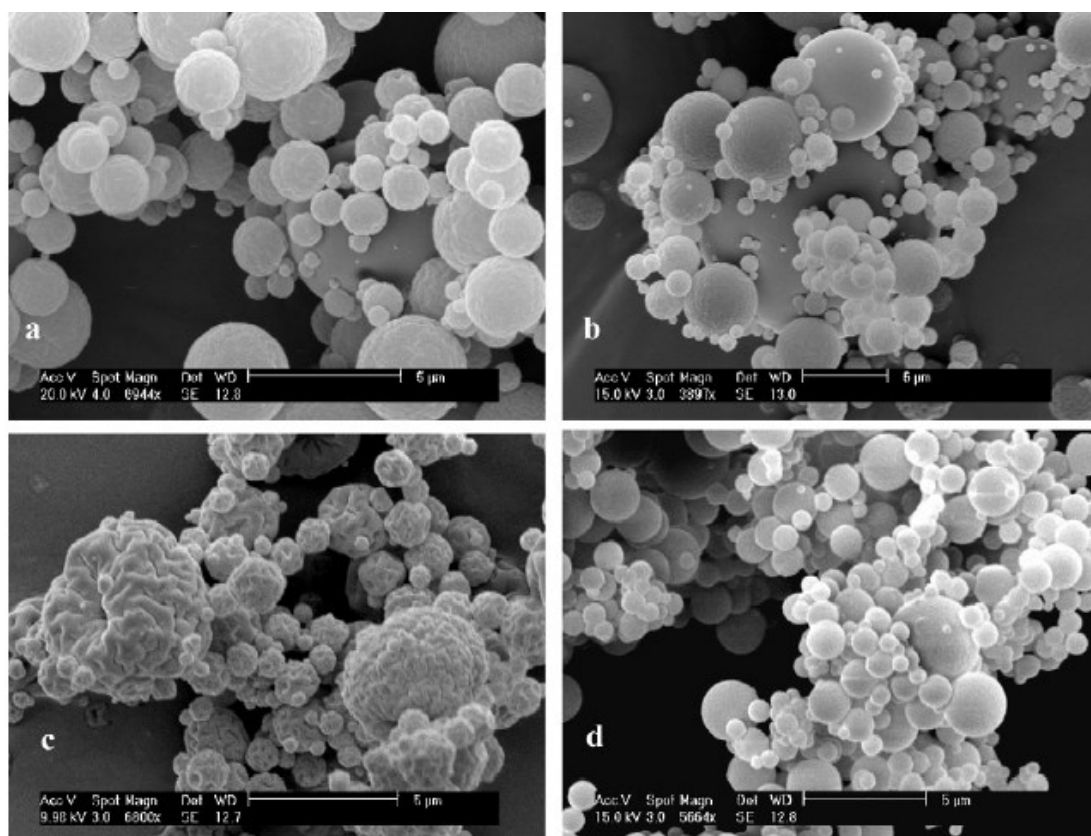
Obrázek 8: Chemická struktura chitinu a chitosanu [41]

Chitin i chitosan jsou makromolekuly, které se nerozpouští ve vodě. Chitosan je však rozpustný v kyselých roztocích. Primární aminoskupina chitosanu přispívá k lepší chemické modifikaci. V kyselém prostředí získává volná aminoskupina pozitivní náboj a dochází následně k interakci s negativně nabitými buněčnými membránami mikroorganismů. Předpokládá se, že právě díky tomuto náboji má chitosan antimikrobiální aktivitu. Kromě zmíněné antimikrobiální aktivity má chitosan i protinádorové, anticholesterolemické a antioxidační účinky, proto má velké uplatnění především v biomedicinském průmyslu. [38, 40, 41]

Chitosan se široce využívá jako nosič v systémech řízeného uvolňování – nanotobolky, mikrotobolky, filmy, tablety. Má také schopnost tvořit kovalentní nebo iontové vazby se síťovacími činidly (nejčastěji glutaraldehydem). Vytvoří se tak „sít“, která udržuje účinnou látku uvnitř, což prodlužuje dobu řízeného uvolňování. [40]

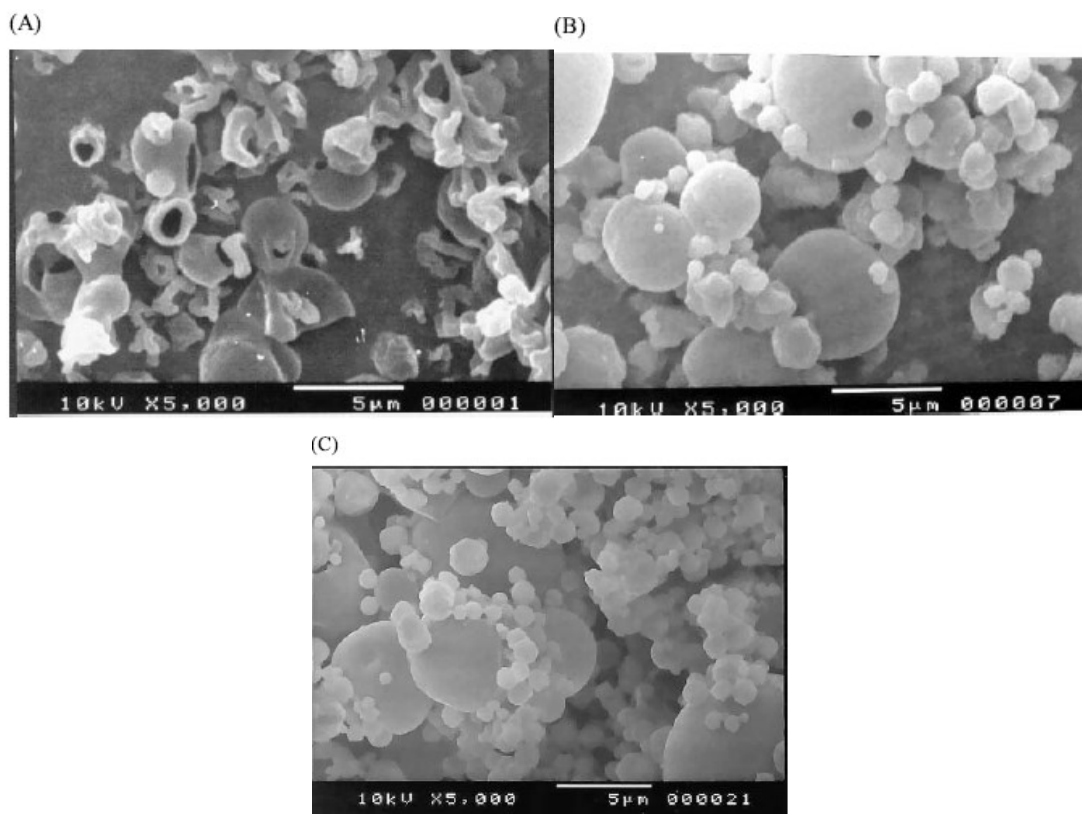
Cílem studie Alhalaweh a kol. [39] bylo zvýšit biologickou dostupnost zolmitriptanu v kombinaci s chitosanem pro nosní podání za využití sprejového

sušení. Dále se sledoval i vliv typu, molekulové hmotnosti a zastoupení chitosanu na vlastnosti částic. Byly připraveny roztoky zolmitriptanu s chitosanem v různých hmotnostních poměrech, které byly upraveny na pH 5 za použití 0,25% kyseliny octové a následně sprejově sušeny. Výtěžnost prášku se pohybovala v rozmezí 40-76 %. Zvýšením podílu chitosanu v lékové formě se výrazně snížilo ulpívání prášku na cyklonu. Prostřednictvím analýzy HPLC se zjistilo, že zolmitriptan byl po celou dobu sprejového sušení chemicky stabilní. Výsledné mikročástice chitosanu byly kulovité s různě drsným povrchem a mikročástice se zolmitriptanem a chitosanem byly taktéž kulovité bez ohledu na typ chitosanu (Obr. 9). Na velikost částic neměla vliv molekulová hmotnost ani typ polymeru, ale podíl chitosanu v prášku – při nižším podílu polymeru se mikročástice zvětšovaly. Na závěr studie byla provedena disoluce sušených prášků a nesusšeného zolmitriptanu, kdy oba disoluční profily byly podobné (100 % se uvolnilo cca za 35 min).



Obrázek 9: SEM obrázky sušených mikročástic: (a-c) jednotlivé typy chitosanu, (d) chitosan se zolmitriptanem [39]

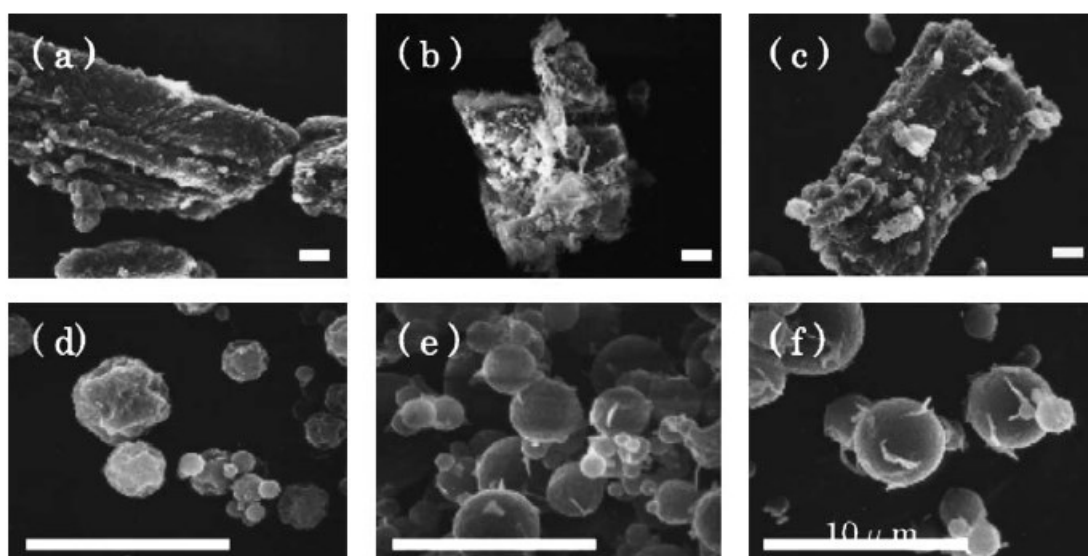
Studie, kterou vedl Huang a kol. [42], se zabývala zvýšením účinnosti betamethasonu pro plicní aplikaci přípravou sprejově sušených mikročástic betamethasonu s chitosanem, želatinou typu A a kopolymerem ethylenoxidu a propylenoxidu (Pluronic F68) jako modifikátorů. U plicních aplikačních systémů se předpokládá, že mají snížit nežádoucí účinky systémového podávání a zároveň umožňují cílenou distribuci do místa účinku – do plic. Na dosažení lepší biologické dostupnosti plicního podávání má zásadní vliv charakteristika částic – hustota, velikost částic, morfologie, povrchový náboj i uvolňování léčiva. Je to důležité zejména proto, aby se mikročástice dostaly přímo do plic a neukládaly se příliš v průduškách. Tato studie se zaměřuje právě na mikročástice a jejich vlastnosti, které se mění v průběhu sprejového sušení. Množství želatiny ovlivňovalo velikost a morfologii mikročástic. Srovnáním snímků (Obr. 10) se ukázalo, že většina mikročástic měla kulovitý tvar s hladkým povrchem. Výsledky disoluce prokázaly, že během prvních 30 minut došlo k rychlému uvolnění 30-70 % betamethasonu. Na rychlost uvolňování betamethasonu z mikročástic měl vliv poměr lék/kopolymer – při zvýšeném obsahu betamethasonu v mikročásticích se zvyšovala rychlost uvolňování. V této studii se prokázalo, že sprejové sušení je užitečnou metodou pro přípravu mikročástic s obsahem léčiva pro plicní podání, protože vznikly kulovité mikročástice s kladným nábojem, hustotou $0,173 \text{ g/cm}^3$ a průměrnou velikostí částic od 1 do 3 μm .



Obrázek 10: SEM sprejově sušených mikročastic s obsahem betamethasonu s chitosanem/želatinou (A), chitosanem/Pluronic F68 (B) a chitosanem/želatinou/Pluronic F68 (C) [42]

Další studii, která se věnovala vytvořením mikročastic s prodlouženým uvolňováním pro plicní podání, provedl Asada a kol. [43]. Mikročastice byly připraveny metodou sprejového sušení a následně se zkoumalo i uvolňování léčiva z mikročastic. Jako modelový lék byl vybrán theofylin a jako nosič se použil chitosan. Theofylin a chitosan byly rozpuštěny v 0,5% vodném roztoku kyseliny octové a následně sprejově sušeny. Dále byla připravena i fyzikální směs theofylinu a chitosanu v poměrech 1:1, 1:3 a 1:5. Využilo se vlastností chitosanu, který se rozpouští v kyselém roztoku a vytváří gel, ale v alkalickém roztoku se nerozpouští a bobtná. Při porovnání snímků ze skenovacího elektronového mikroskopu (Obr. 11) je patrné, že samotný theofylin i chitosan měly protáhlý až jehlicovitý tvar, který se během sprejového sušení změnil na kulovitý s nepatrnými „vousky“ na povrchu částic. Ty pravděpodobně vznikají kapilární kondenzací v theofylinu. Dále se sledoval i stupeň krystalinity theofylinu v částicích. DSC termogramy a vzorce práškové

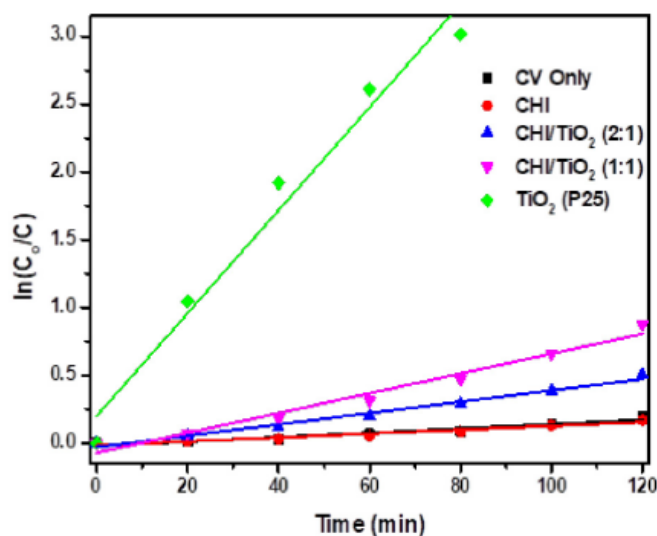
rentgenové difrakce naznačují, že chitosan i theofylin vykazovaly známky amorfности, avšak zůstaly z části krystalické. Na závěr studie byla provedena disoluce nejprve v kyselém médiu (pH 1,2), kdy rychlost uvolňování sprejově sušených mikročástic byla mírně zpožděna oproti čistému theofylinu z důvodu tvorby gelu. Následně se disoluce provedla i v alkalickém médiu (pH 6,8), kdy došlo k pomalému nepřetržitému uvolňování sprejově sušeného theofylinu oproti fyzikální směsi a nesušenému theofylinu. Sprejově sušené mikročástice theofylinu a chitosanu mohly být použity pro plicní podání, protože se velikost částic pohybovala v rozmezí 4,6-5,6 μm .



Obrázek 11: SEM systémů theofylin/chitosan. (a) theofylin; (b) chitosan; (c) fyzikální směs theofylin/chitosan v poměru 1:1; (d) sprejově sušený theofylin/chitosan v poměru 1:1; (e) sprejově sušený theofylin/chitosan v poměru 1:3; (f) sprejově sušený theofylin/chitosan v poměru 1:5 [43]

Cílem studie Morlando a kol. [44] bylo vyrobit nanokompozitní částice oxidu titaničitého (TiO_2) a chitosanu pomocí sprejového sušení za účelem snížení fotokatalytické aktivity nanočástic TiO_2 . Oxid titaničitý se používá jako anorganický UV filtr v opalovacích krémech na ochranu proti slunečnímu záření. Chrání jednak proti UVA i UVB, ale také poskytuje vysoký ochranný sluneční faktor (SPF). Prokázalo se však, že TiO_2 při UV záření podněcuje tvorbu reaktivních druhů kyslíku a následně poškozují kůži. Pro hodnocení byly připraveny roztoky chitosanu a TiO_2 v hmotnostních poměrech 2:1, 1:1 a 1:0 (tedy vzorek čistého chitosanu) v 3% kyselině

octové. Roztoky byly dále sprejově sušeny a výsledné nanokompozitní částice byly zesíťovány v exsikátoru za přítomnosti glutaraldehydu. Mikročástice chitosanu vykazovaly kulovitý a symetrický tvar. Přidáním TiO_2 docházelo ke zvětšení velikosti částic, které sice zůstaly kulovité, ale povrch částic byl hrubší – drsnost povrchu byla nejzřetelnější u vzorku chitosanu s TiO_2 v poměru 1:1 kvůli vyššímu obsahu TiO_2 . Fotokatalytická aktivita nanokompozitních částic, čistého chitosanu a nevázaných nanočástic TiO_2 byla stanovena měřením rozkladu organického barviva (krystalové violeti – CV) pod UV zářením po dobu 2 hodin. Z obrázku 12 jednoznačně vyplývá, že fotokatalytická aktivita sprejově sušených nanokompozitních částic chitosanu a TiO_2 byla významně omezena oproti nevázaným nanočásticím TiO_2 . Konkrétně nejvyšší účinnost rozkladu vykazovaly nanočástice TiO_2 (95,7 %) a nejmenší procento rozkladu vykazoval vzorek chitosanu a TiO_2 v poměru 2:1 (15,5 %). Z tohoto důvodu je metoda potahování chitosanem využitelná při výrobě prostředků na ochranu před UV zářením, které obsahují anorganické filtry tvořené TiO_2 .



Obrázek 12: Kinetický graf sprejově sušených nanokompozitních částic chitosanu a TiO_2 , čistého chitosanu, nevázaných nanočástic TiO_2 a krystalové violeti [44]

Jednotlivé výzkumy jsou názornou ukázkou toho, že sprejové sušení léčiv s chitosanem a tenzidy má příznivé účinky nejen na zlepšení biologické dostupnosti léčiv, ale například i na přípravu mikročástic s obsahem účinné látky pro plicní podání. Díky těmto vlastnostem lze tuto kombinaci látek využít v praxi pro přípravu lékových forem obsahujících špatně rozpustná léčiva.

7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

7.1 Použité suroviny

- Čištěná voda
- Meloxicam – poskytnutý společností Zentiva, Česká republika, č. šarže není k dispozici
- Chitosan – č. šarže JB-CH190301, JBiChem, Čína
- Cetyltrimethylamoniumbromid – č. šarže SLBQ7013V
- Methanol – č. šarže 2010-2505, Lab-Scan analytical science
- 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. Hodnota pH se upravovala roztokem NaOH o koncentraci 0,2 mol/l.

7.2 Použité přístroje

- Sprejová sušárna Büchi Mini Spray Dryer B-290 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Švýcarsko)
- Laboratorní síta 0,08 mm, 0,125 mm, 0,2 mm a 0,5 mm (STAST, Československo)
- Magnetická míchačka Lavat MM4 (LAVAT a.s., Česká republika)
- Analytické váhy A&D HR-120 EC (A&D Company, Limited, Japonsko)
- Váhy CAHN 26 (Cahn instruments Inc, USA), výr. č. 39562
- Skenovací elektronový mikroskop Phenom Pro (Phenom-World B. V., Nizozemsko)
- Optický mikroskop Olympus BX 51 (Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Německo)
- Mísící zařízení Turbula T2F (WAB-GROUP, Německo)
- Ultrazvuková čistící lázeň WUC-A01H Witeg (Witeg Labortechnik GmbH, Německo)
- Disoluční systém Sotax AT7 Smart, Autosampler Sotax CH-4123 (Sotax AG, Švýcarsko)
- Sinker 11-31 AT7
- Filtr ze skleněných mikrovláken GF/D, 25 mm (GE Healthcare, USA)

- UV/VIS Spektrofotometr Analytik Jena Specord 205 (Analytik Jena, Německo)
- DSC 200 F3 Netzsch Maia (Netzsch-Geratebau GmH, Selb, Německo)
- Hliníkové kelímky Netzsch 100 DSC (Netzsch-Geratebau GmH, Selb, Německo)
- Ruční lis pro víčkování hliníkových kelímků (Netzsch-Geratebau GmH, Selb, Německo)
- Lis T1-FRO 50 Zwick/Roell (Zwick GmbH & Co., Německo)
- PC s programem AnalySIS auto 5,1 (Olympus Soft Imaging Solutions GmbH)
- PC s programem DSC 200 F3 NETZSCH Proteus (Netzsch-Geratebau GmH, Selb, Německo)

7.3 Metody přípravy

7.3.1 Získání velikostní frakce chitosanu

Chitosan je velice jemný prášek a má tendenci tvořit shluky, které je potřeba před jeho použitím odstranit. Pro sítování chitosanu byla využita 4 síta o velikosti ok 80, 125, 200 a 500 μm . Před samotným sítováním byla nastavena intenzita a čas sítování (intenzita 30, čas 5 min). Po ukončení sítování se na horním sítu (500 μm) zachytily pouze shluky, které byly odstraněny a ostatní prášek byl rozdělen do nádob podle jednotlivých velikostních frakcí. Pro naše potřeby byl použit chitosan velikostní frakce 80 až 200 μm .

7.3.2 Sprejové sušení

Před samotným sprejovým sušením byly připraveny roztoky meloxicamu s CTAB. V třence s drsným povrchem byl smíchán CTAB (320 mg/100 ml) a meloxicam (10, 15, 20, 25 mg/100 ml). Homogenní prášek se poté rozpustil ve vodě ve 250 ml odměrných baňkách.

Připravené roztoky byly před samotným sprejovým sušením přelity do kádinky a byl přidán chitosan, který byl v roztoku suspendován. Složení jednotlivých vzorků je uvedeno v tabulce 1. Byly nastaveny parametry procesu, které jsou popsány v tabulce 2 (mezi důležité parametry sprejového sušení patří průměr trysky, účinnost aspirátoru, vstupní a výstupní teplota, výkon pumpy a čistič trysek) a bylo spuštěno zahřívání sušárny. Sprejové sušení jednotlivých vzorků probíhalo při třech různých teplotách – 170 °C, 190 °C a 210 °C. Kádinka se suspenzí byla vždy postavena na magnetické míchačce a suspenze byla celou dobu míchána, aby se zabránilo usazování chitosanu na dnu kádinky. Po zahřátí sprejové sušárny byl zapnut přívod suroviny a pomocí pumpy došlo k nasávání suspenze směrem k trysce, která rozprašovala kapalinu do sušicí komory. Nasávání suspenze bylo potřeba neustále kontrolovat kvůli častému usazování chitosanu v přívodních hadičkách. Výsledný usušený vzorek byl odebrán ze sběrné nádoby. Po každém usušeném vzorku byla sprejová sušárna propláchnuta destilovanou vodou a poté umyta a vysušena.

Tabulka 1: Složení vzorků pro sprejové sušení, hmotnosti jsou uvedeny na 100 ml roztoku

Číslo vzorku	Meloxicam (mg)	Chitosan (g)	CTAB (mg)	Sušící teplota (°C)
1. vzorek	10	5	320	170
2. vzorek	10	5	320	190
3. vzorek	10	5	320	210
4. vzorek	15	5	320	170
5. vzorek	15	5	320	190
6. vzorek	15	5	320	210
7. vzorek	20	5	320	170
8. vzorek	20	5	320	190
9. vzorek	20	5	320	210
10. vzorek	25	5	320	170
11. vzorek	25	5	320	190
12. vzorek	25	5	320	210

Tabulka 2: Parametry procesu sprejového sušení

Parametry procesu	Experimentální podmínky
Průměry trysky	1,4 mm
Účinnost aspirátoru	100 %
Vstupní teplota	170 °C, 190 °C, 210 °C
Výstupní teplota	93 °C – 160 °C
Výkon pumpy	5
Čistič trysky	5

7.3.3 Optická mikroskopie

Po dokončení sprejového sušení byla malá část jednotlivých usušených vzorků použita pro pozorování částic pod optickým mikroskopem Olympus BX 51. Každý

vzorek se nejprve prošel přes síto přímo na podložní skličko, které se následně vložilo mezi svorky na posuvný stolek. Pomocí počítačového programu AnalySIS auto 5,1 byly pozorovány částice vzorků a následně pořízeny fotografie částic. Parametry, které byly použity během optické mikroskopie, jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3: Parametry optické mikroskopie

Zvětšení	10x
Rozlišení kamery	1360x1024 px
Rozlišení fotoaparátu	1360x1024 px
Velikost jednoho pixelu	0,2164 μm

7.3.4 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

Jako další byl k pozorování částic využit skenovací elektronový mikroskop Phenom Pro, pomocí kterého je možné díky velkému zvětšení a vysokému rozlišení zachytit tvar a povrch i velmi malých částic. Jednotlivé usušené vzorky byly nejprve umístěny na uhlíkovou lepicí pásku. Následně byl vzorek pokoven zhruba 10 nm vrstvou zlata, aby se zabránilo jeho deformaci. Pro pozorování částic bylo využito zvětšení 500x a 2000x. Snímky byly pořízeny za pomoci PharmDr. Terezy Vařilové na Povodí Labe v Hradci Králové.

7.3.5 Diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC)

Měření DSC vzorků sprejově sušeného prášku bylo provedeno v hliníkových kelímcích s víčkem na přístroji DSC 200 F3 Netzsch Maia. Veškerá manipulace s hliníkovými kelímky byla prováděna pinzetou. Nejprve se do víčka udělala malá díra a poté byly zváženy prázdné hliníkové kelímky i s víčkem. Po zvážení byly kelímky naplněny pomocí kopistky usušeným vzorkem o hmotnosti v rozmezí 5-10 mg, byly překryty víčkem a následně vloženy do ručního lisu, pomocí kterého se pevně uzavřely. Připravené vzorky mohly být společně s referenčním vzorkem, který představoval prázdný kelímek, vloženy do DSC přístroje. V programu DSC 200 byly nastaveny potřebné údaje: název, hmotnost vzorku, hmotnost kelímku s víčkem, hmotnost referenčního vzorku, měření s korekcí nebo bez korekce a parametry teplotního programu, které jsou uvedené v tabulce 4.

Tabulka 4: Parametry teplotního programu DSC

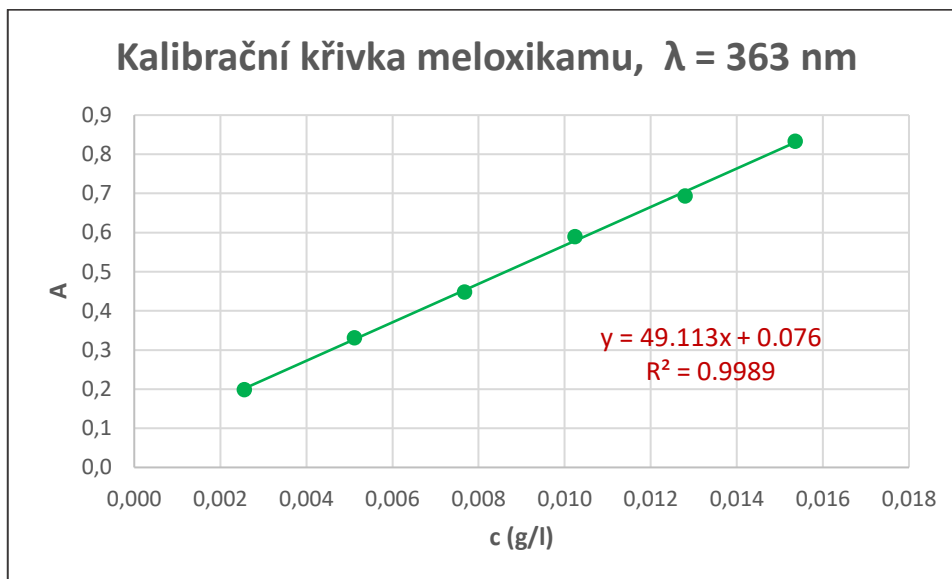
Použitý teplotní program	Fáze programu	Teplota	Rychlost teplotních změn
	Start	20 °C	-
	Chlazení	-20 °C	-10 K/min
	Izoterma	-20 °C	10 min
	Zahřívání	280 °C	4 K/min
	Chlazení	-20 °C	-10 K/min
	Izoterma	-20 °C	2 min
	Zahřívání	280 °C	4 K/min

Po nastavení parametrů bylo zapnuto měření. V průběhu měření docházelo k teplotním změnám, během kterých docházelo ke změnám vzorku. Tyto změny byly na termogramu zaznamenány jako píky, které jsou charakterizovány plochou a teplotami. Měření bylo provedeno jak u sušených, tak i u nesusušených vzorků (fyzikálních směsí). U sušených vzorků bylo měření provedeno dvakrát (s opakováním po půl roce) a se dvěma ohřevy. Dále se měření provedlo i u čistých látek (meloxicam, chitosan a CTAB). Po ukončení programu byly vyhodnoceny DSC křivky pro jednotlivé vzorky.

7.3.6 Disoluce a spektrofotometrie

Pro měření disoluce bylo nejdříve potřeba zjistit množství meloxicamu v jednotlivých usušených vzorcích. Toto měření bylo provedeno pomocí UV/VIS spektrofotometru. Vzorky byly připraveny v 10 ml odměrných baňkách, do kterých bylo převedeno 100 mg usušeného prášku a následně byl po rysku doplněn methanol. Poté byly vzorky pro lepší rozpuštění meloxicamu ponechány 15-20 minut v ultrazvukové lázni a nechaly se stát přes noc. Připravené roztoky se dále přefiltrovaly přes nálevku s filtrem do kádinky. Ve zkumavce se pomocí automatické pipety smíchalo 0,4 ml pufru a 1,6 ml vzorku. Obsah zkumavek byl převeden do kyvet, které se vložily do spektrofotometru. Po nastavení parametrů bylo zapnuto měření a získané hodnoty byly zapsány do počítačového programu Excel. Z hodnot absorbance byla

následně pomocí kalibrační křivky (Obr. 13) vypočtena koncentrace meloxicamu v jednotlivých vzorcích.



Obrázek 13: Kalibrační křivka meloxicamu

Před zahájením samotné disoluce byly nejprve z usušených vzorků připraveny tablety o hmotnosti 500 mg. Pro porovnání byly připraveny také tablety o hmotnosti 500 mg z nesušených vzorků (fyzikálních směsí) připravených smísením chitosanu a meloxicamu nebo chitosanu, meloxicamu a CTAB ve stejném poměru jako ve vzorcích pro sprejové sušení. Fyzikální směsi byly připraveny smísením jednotlivých složek v mísícím zařízení Turbula po dobu 5 min při rychlosti 34 otáček/min. Na vylisování tablet o průměru 9 mm byla použita lisovací síla 4 kN.

Disoluce probíhala v disolučním zařízení, jehož součástí je autosampler pro automatické odběry vzorku. Disoluční zařízení je složeno z vodní lázně, nádob s kulatým dnem a míchadel ve tvaru pádla. Nádoby byly naplněny 500 ml fosforečnanového pufru o pH 6,8, do kterého byly v čase disoluce vloženy vzorky (tablety) uchycené v sinkerech. Vodní lázeň udržovala po celou dobu disoluce teplotu 37 °C. Během disoluce se odebíralo 5 ml vzorku vždy po 5 minutách. Pro zachování stejných podmínek bylo stejné množství čistého pufru doplněno z kádinky postavené vedle disolučního zařízení. Disoluce trvala 1 hodinu. Odebrané vzorky se následně převedly do kyvet a byly vloženy do spektrofotometru. Jako slepý vzorek byl použit pufr o pH 6,8. Po nastavení vlnové délky na 363 nm bylo zahájeno spektrofotometrické

měření. Získané hodnoty absorpance se zaznamenaly do Excelu a díky vypočítané koncentraci meloxicamu z kalibrační křivky mohly být následně vypočteny další parametry související s uvolňováním meloxicamu, které jsou uvedené v tabulce 5.

Tabulka 5: 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	$m_{vessel} = c \times V$
m_{sample}	mg	Množství léčiva ve vzorku	$m_{sample} = c \times V_{sample}$
$m_{c.sam.}$	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	$m_{rel} = \frac{m_{corr}}{deklar. dávka} \times 100$

8 DISKUZE A VÝSLEDKY

Sprejové sušení je proces, při kterém dochází k přeměně kapaliny v proudou horkého sušícího plynu na suchý prášek. Nastavením parametrů sprejového sušení je možné zajistit vhodné podmínky pro tvorbu částic s požadovanými vlastnostmi. V této diplomové práci byla použita metoda sprejového sušení k přípravě suchého prášku s obsahem léčivé látky meloxicam a tenzidu CTAB a byl zkoumán vliv tenzidu, změn vstupních teplot a koncentrací léčiva na vlastnosti prášku.

Pro sprejové sušení bylo připraveno 12 vzorků o koncentraci 10, 15, 20 a 25 mg meloxicamu o konstantním obsahu tenzidu CTAB a nosiče chitosanu. Vzorky se stejnou koncentrací meloxicamu byly sušeny při třech různých teplotách 170 °C, 190 °C a 210 °C ve sprejové sušárně Büchi Mini Spray Dryer B-290. Pro sušení byla použita tryska o průměru 1,4 mm.

Vzhled připravených částic byl následně zkoumán pomocí optické mikroskopie, ze které byly pořízeny snímky částic z každého vzorku. Dále byly pořízeny snímky ze SEM, ze které bylo možné pozorovat tvar i povrch jednotlivých částic.

Část sušeného prášku byla použita na měření teplotních charakteristik pomocí DSC, kdy se na základě změn teplot měnily i vzorky. V termogramech se tyto změny zobrazily jako píky, které jsou charakterizované výškou a plochou pod křivkou.

Na závěr bylo hodnoceno uvolňování léčiva z připraveného prášku. Disoluce byla provedena v disolučním zařízení s automatickými odběry po 5 minutách a prostřednictvím měření v UV/VIS spektrofotometru byly výsledky zaznamenány jako absorbance, ze kterých bylo následně možné vypočítat množství uvolněného léčiva.

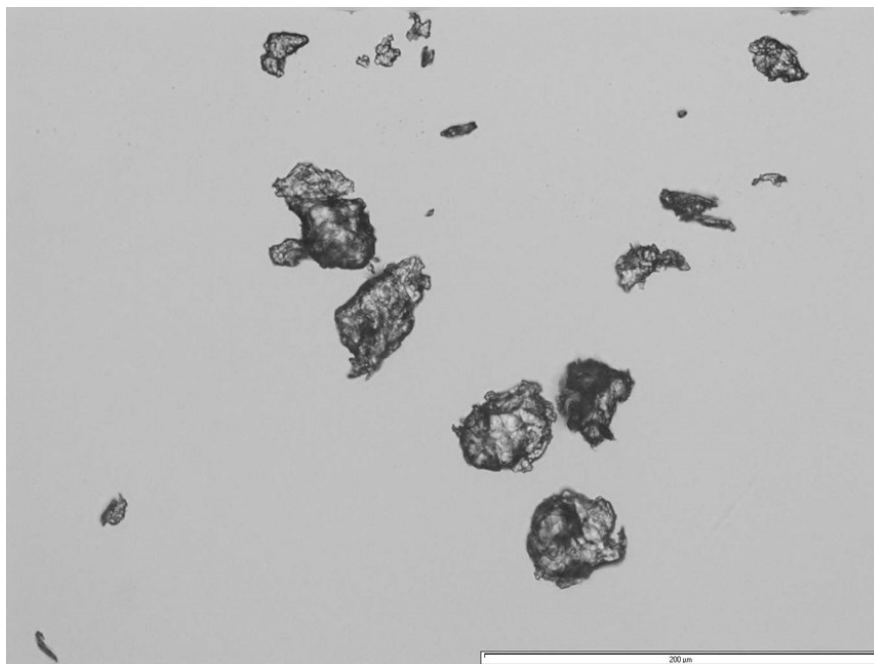
8.1 Vliv koncentrace roztoku a teploty sušení na velikost a tvar částic

Pomocí optické mikroskopie a SEM byly pořízeny snímky samotných výchozích surovin a částic jednotlivých sušených vzorků. Byl pozorován vliv teploty sušení a koncentrace roztoku na výsledný vzhled částic. Na obrázcích 14 a 30 jsou zobrazeny částice samotného chitosanu, které mají nepravidelný destičkovitý tvar a výrazné nerovnosti na povrchu. V porovnání s ním jsou částice meloxikamu (Obr. 15, Obr. 31) výrazně menší, nepravidelné a mají tendence tvořit shluky. Větší a nepravidelné destičkovité částice má také čistý CTAB (Obr. 16, Obr. 29). Na snímcích 17-28 pořízených prostřednictvím optické mikroskopie jsou zobrazeny částice sprejově sušených vzorků. Je patrné, že na první pohled mají všechny částice nepravidelný tvar a velikostně odpovídají částicím chitosanu. Chitosan byl suspendován v roztoku léčiva a tenzidu, a tak nepředpokládáme, že by během sušení došlo k výraznější změně vzhledu částic. Částice vzniklé nejspíše kombinací meloxikamu a tenzidu jsou spíše sférické a tvoří menší shluky, které jsou znázorněny např. na obrázku 22. Při bližším pozorování částic chitosanu jsou viditelné mikročástice meloxikamu a CTAB zachycené na jeho povrchu, jak je vyznačeno např. na obrázku 23. Předpokládáme, že sférické částice vznikly během sprejového sušení právě z roztoku léčiva a tenzidu. Vznik sférických částic je u této technologie běžný a je dán hlavně tím, že se vstupní kapalina rozprašuje na malé kapky kulovitého tvaru. Kulovitá morfologie částic po sprejovém sušení byla pozorována i ve studii Varga a kol. [45] a také ve studii Zhang a kol. [46].

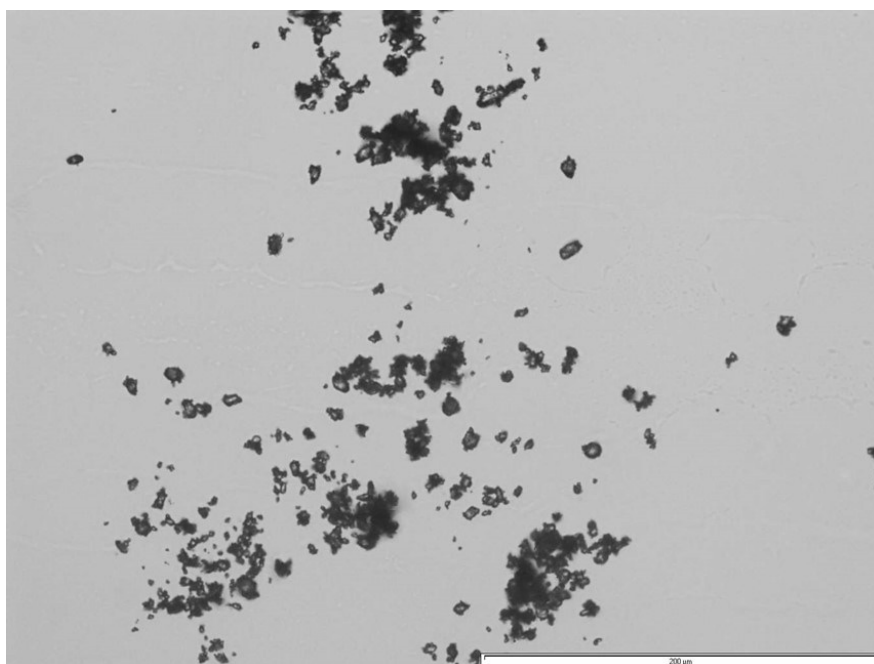
Ve studii Alhalaweh a kol. [39] byl připraven sprejovým sušením prášek zolmitriptanu v kombinaci s chitosanem. Pro přípravu roztoku pro sprejové sušení však byly látky rozpuštěny v 0,25% kyselině octové. V této studii bylo zjištěno, že na velikost částic měl vliv podíl chitosanu v prášku, kdy se při nižších koncentracích chitosanu mikročástice zvětšovaly. V našem případě však byla koncentrace chitosanu konstantní. Zároveň také nebyla hodnocena velikost částic. I když by se při hodnocení velikosti částic mohly projevit rozdíly mezi jednotlivými vzorky, předpokládáme, že velikost by byla ovlivněna hlavně částicemi chitosanu. Ty však procesem sušení prochází pravděpodobně bez výraznějších změn (porovnání částic samotného chitosanu na obr. 14 a sprejově sušeného vzorku, např. obr. 21) a distribuce velikosti by pak odpovídala přibližně distribuci velikosti u výchozí

suroviny. Po porovnání všech 12 sušených vzorků nebyl zaznamenán výrazný rozdíl ve vzhledu částic způsobený změnou teploty a koncentrací roztoku.

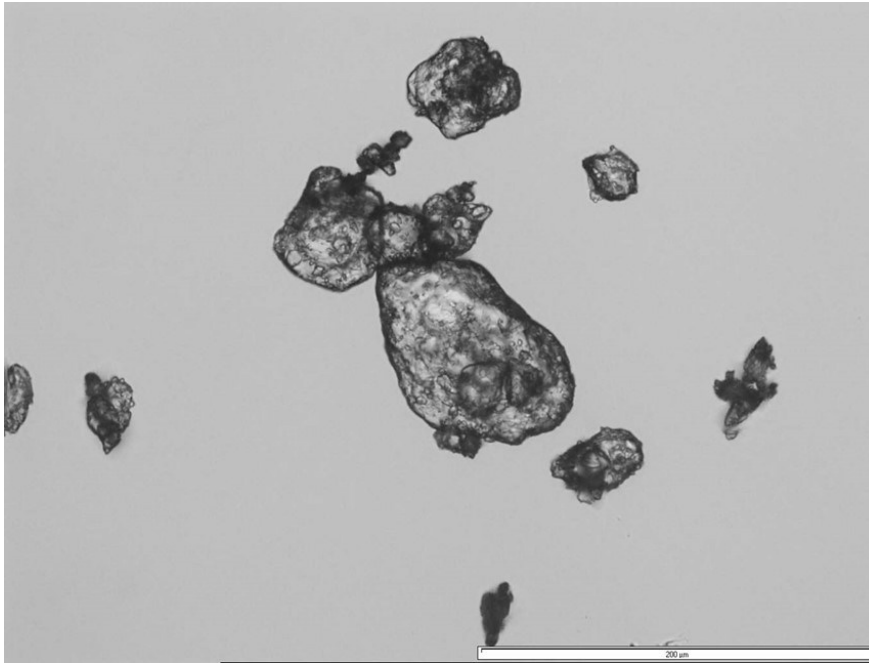
Pro hodnocení vzhledu částic byly pořízeny také snímky SEM a to jak výchozích surovin (Obr. 29, 30 a 31), tak sušeného vzorku. Tato metoda umožňuje detailnější pozorování povrchu a vzhledu částic díky možnosti využití většího zvětšení. Jako příklad pro hodnocení byl vybrán vzorek s 20 mg meloxicamu sušený při teplotě 210 °C a bylo použito zvětšení 500x a 2000x (Obr. 32 a 33). SEM snímky pak potvrdily závěry vyvozené ze snímků pořízených optickou mikroskopií. Samotný chitosan představuje velké destičkovité částice (Obr. 30), na kterých se během sprejového sušení zachytily malé částice vzniklé kombinací meloxicamu a CTAB. Při porovnání snímku 29, 31 a 33 je patrné, že sprejovým sušením došlo ke změně tvaru meloxicamu a CTAB z původně nepravidelného tvaru na převážně kulovitý tvar. Výsledný produkt tak představuje směs nepravidelných částic chitosanu a sférických částic léčiva a tenzidu, které jsou buď přichycené na povrchu chitosanu nebo samostatně i ve shlucích mimo částice nosiče.



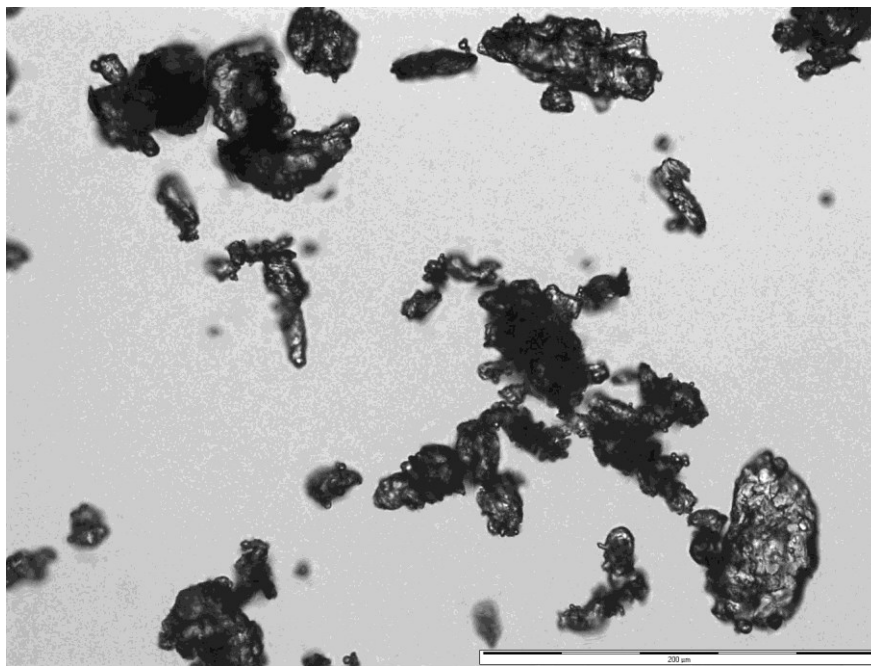
Obrázek 14: Snímek samotného chitosanu



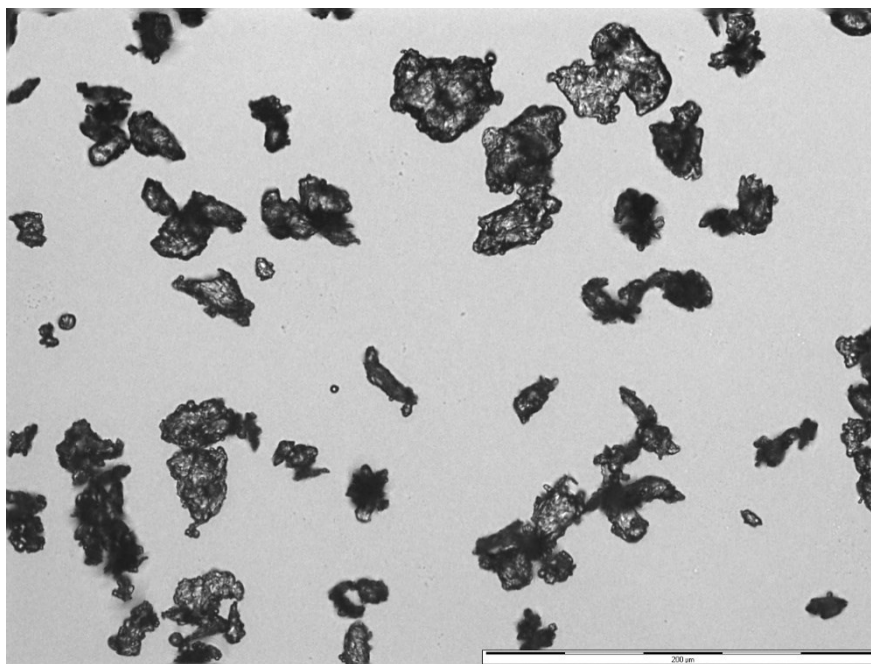
Obrázek 15: Snímek samotného meloxicamu



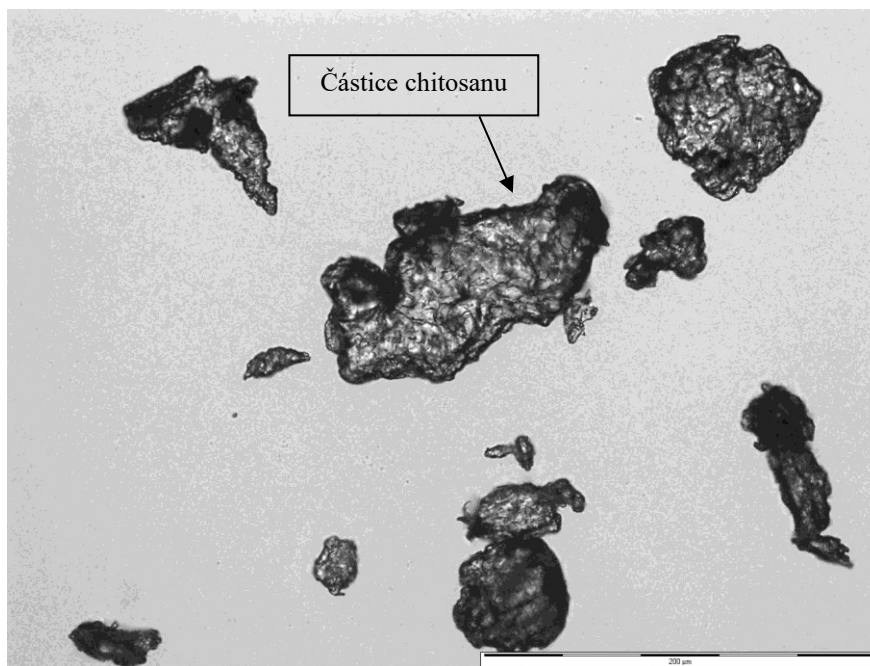
Obrázek 16: Snímek samotného CTAB



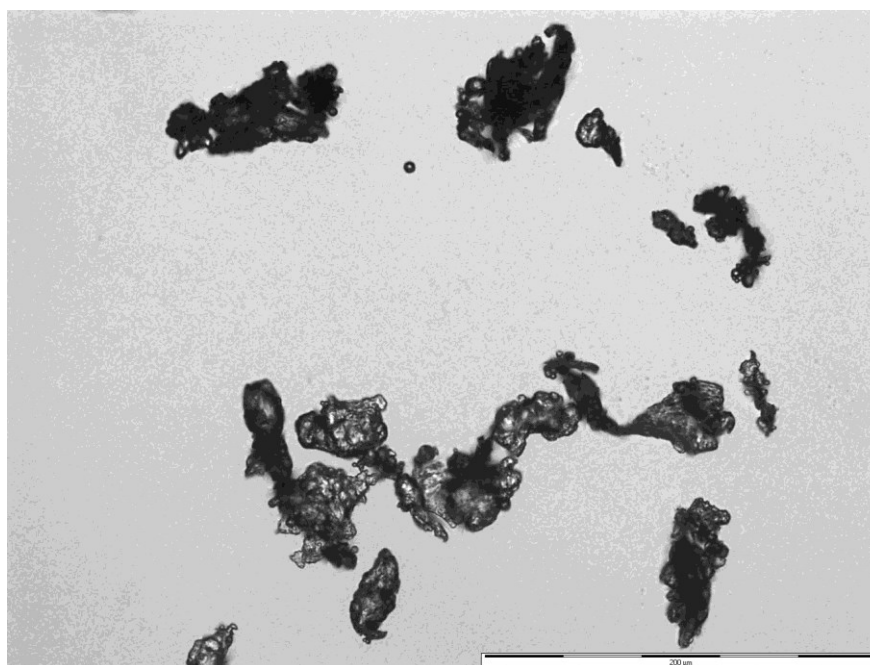
Obrázek 17: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 10 mg při vstupní teplotě 170 °C



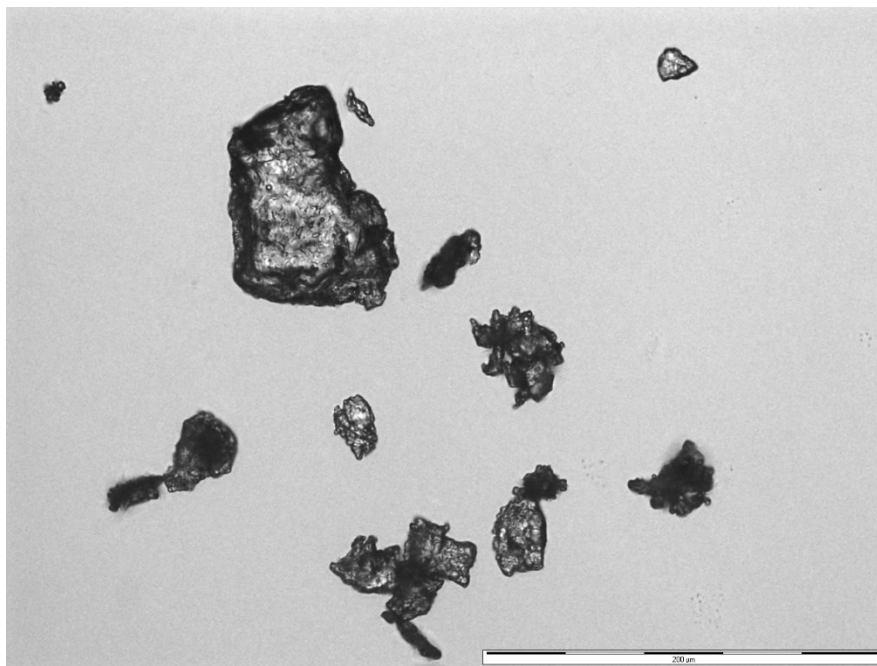
Obrázek 18: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 10 mg při vstupní teplotě 190 °C



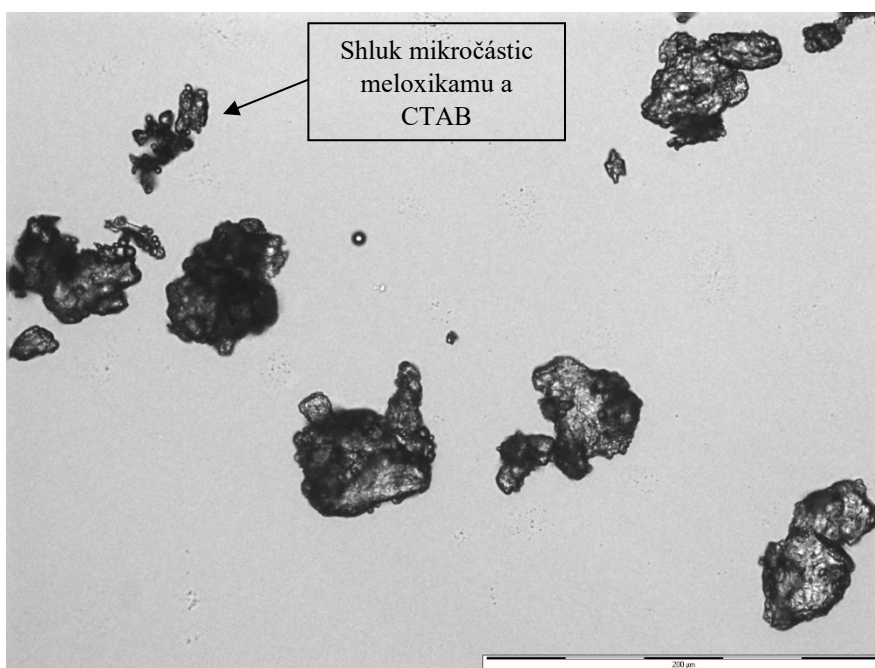
Obrázek 19: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 10 mg při vstupní teplotě 210 °C



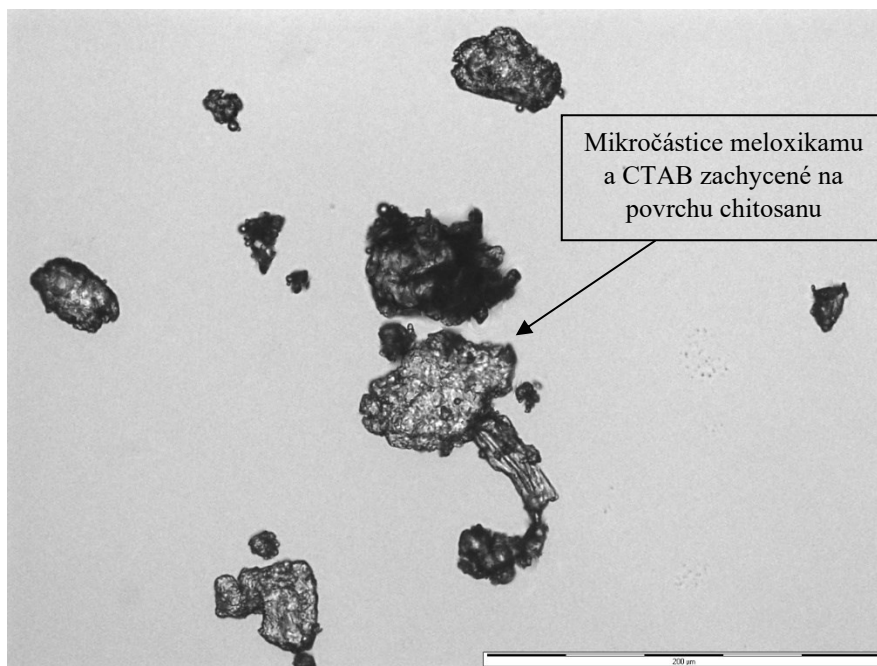
Obrázek 20: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 15 mg při vstupní teplotě 170 °C



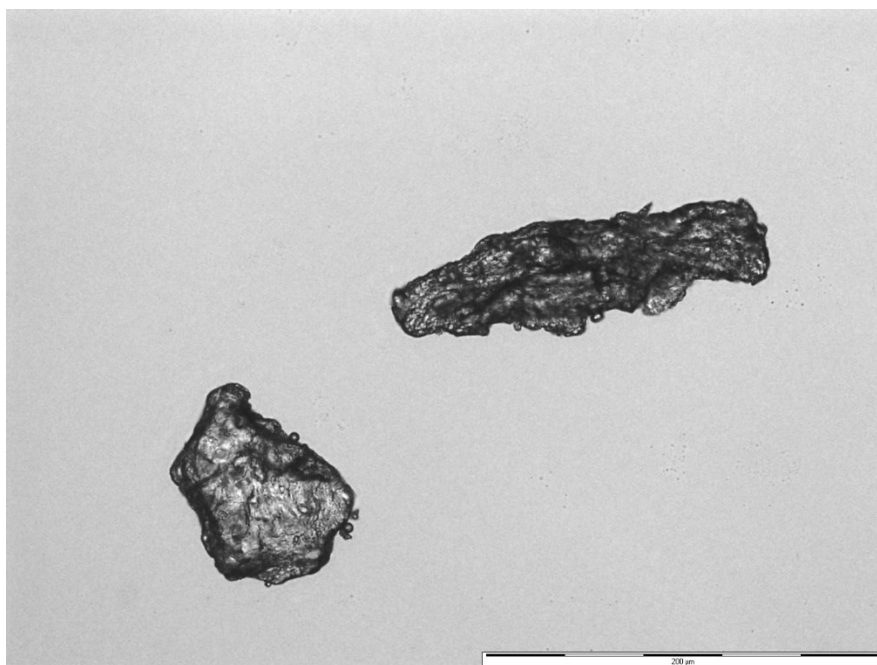
Obrázek 21: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 15 mg při vstupní teplotě 190 °C



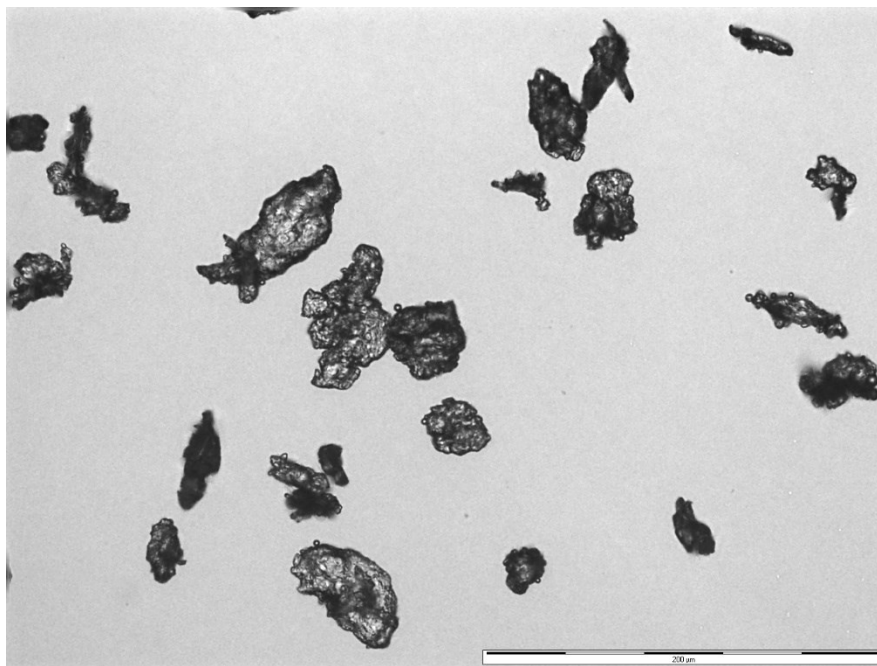
Obrázek 22: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 15 mg při vstupní teplotě 210 °C



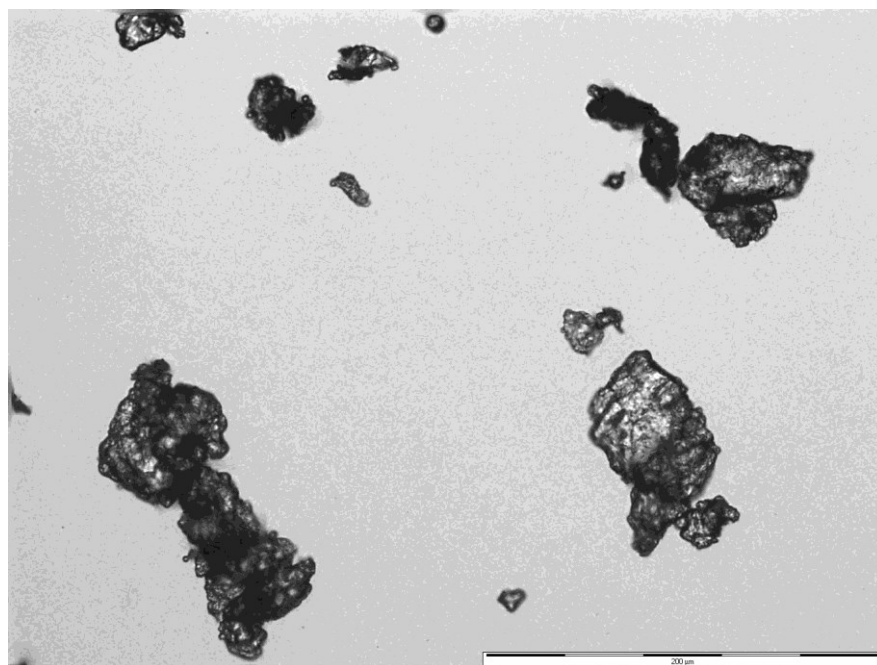
Obrázek 23: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 20 mg při vstupní teplotě 170 °C



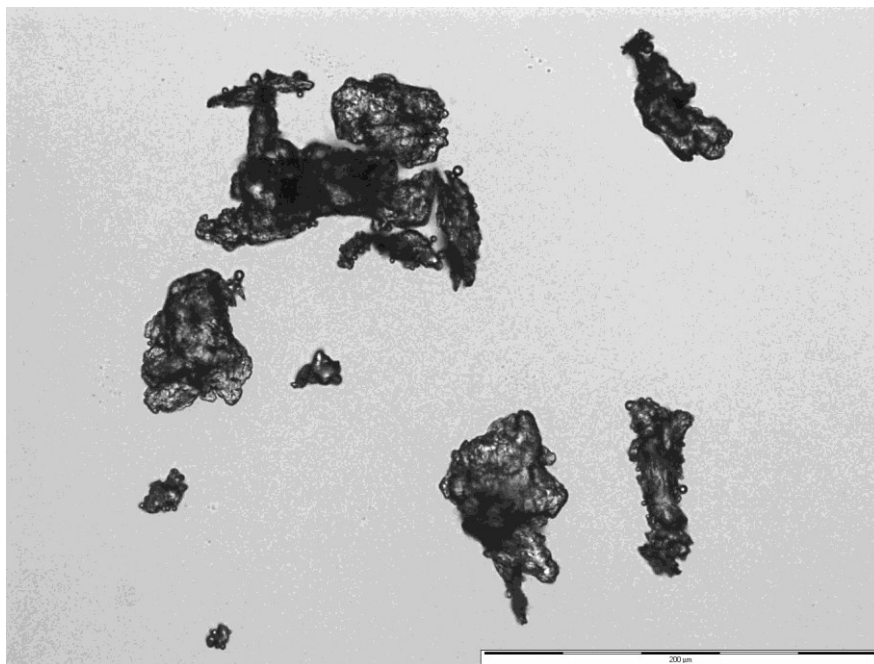
Obrázek 24: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 20 mg při vstupní teplotě 190 °C



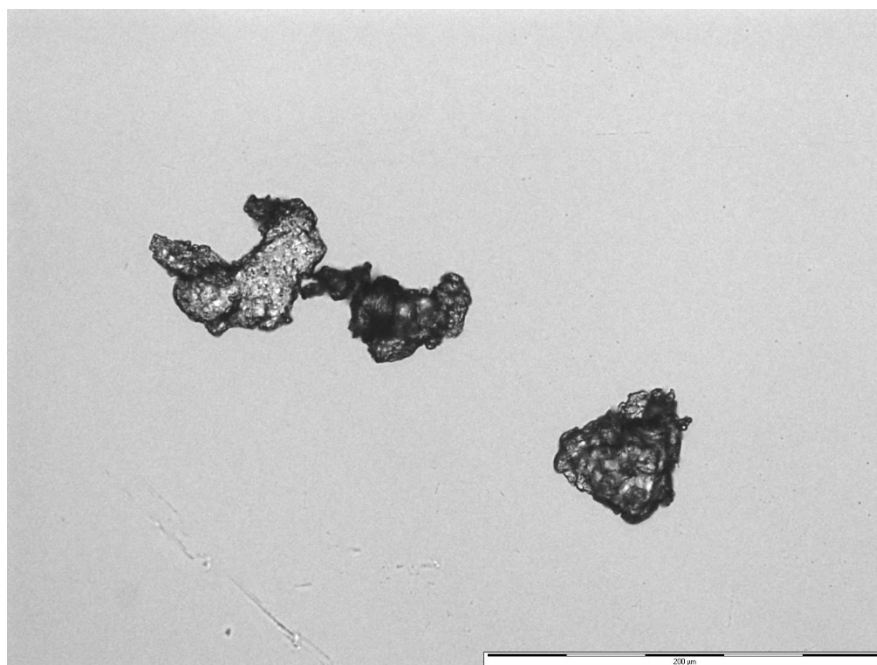
Obrázek 25: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 20 mg při vstupní teplotě 210 °C



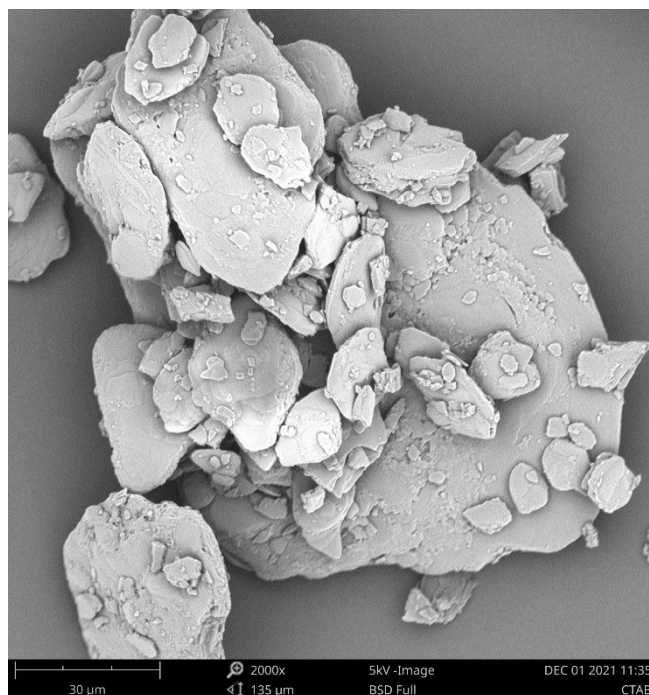
Obrázek 26: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 25 mg při vstupní teplotě 170 °C



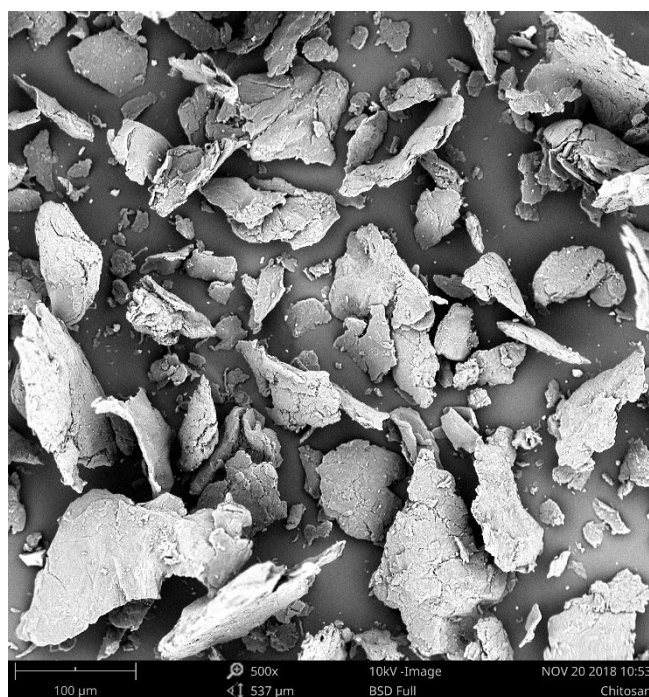
Obrázek 27: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 25 mg při vstupní teplotě 190 °C



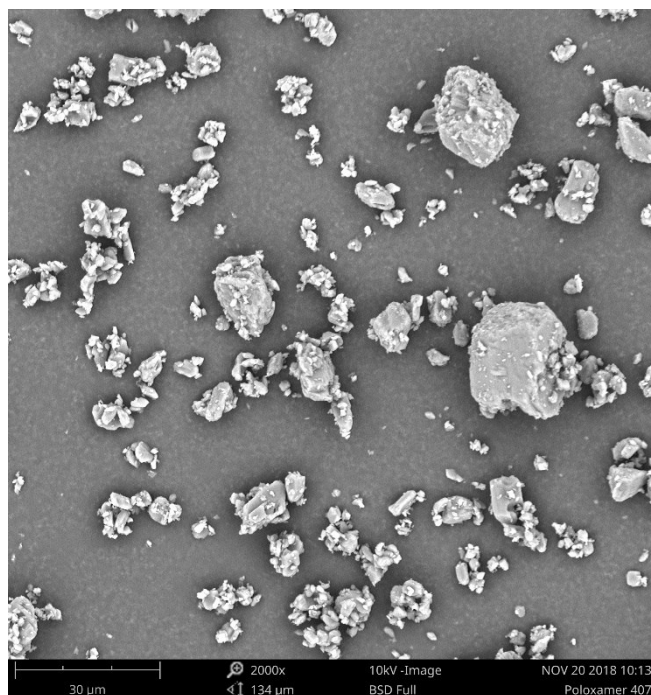
Obrázek 28: Mikročástice sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 25 mg při vstupní teplotě 210 °C



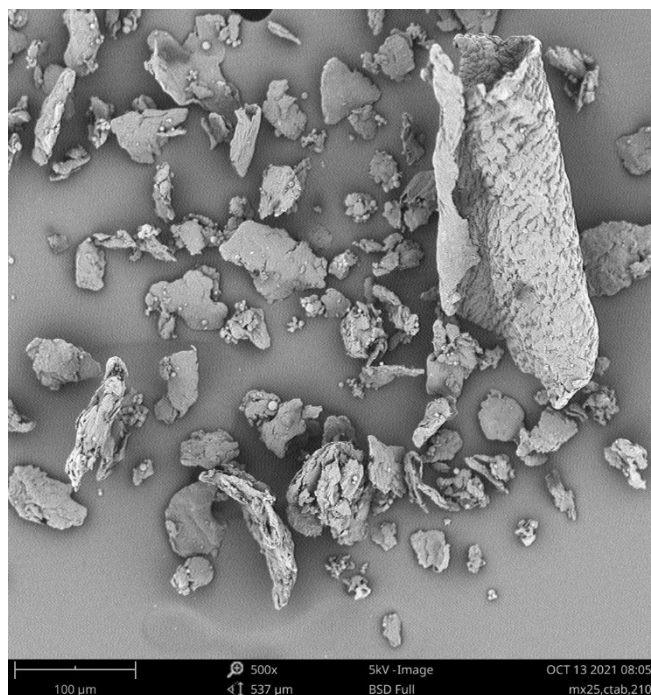
Obrázek 29: SEM snímek CTAB se zvětšením 2000x



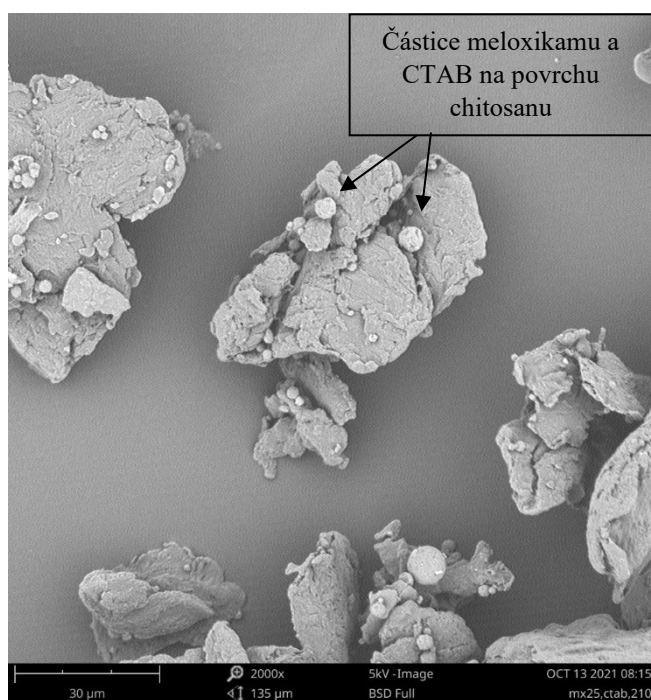
Obrázek 30: SEM snímek chitosanu se zvětšením 500x



Obrázek 31: SEM snímek meloxicamu se zvětšením 2000x



Obrázek 32: SEM snímek sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 25 mg při vstupní teplotě 210 °C se zvětšením 500x



Obrázek 33: SEM snímek sprejově sušené suspenze chitosanu, CTAB a meloxicamu o hmotnosti 25 mg při vstupní teplotě 210 °C se zvětšením 2000x

8.2 Vyhodnocení teplotních charakteristik pomocí DSC

Pro hodnocení teplotních charakteristik u jednotlivých čistých a sušených vzorků byla použita metoda DSC. Na obrázcích 39-44 jsou zobrazeny termogramy jednotlivých sušených vzorků. Pro porovnání a hodnocení termogramů sušených vzorků byly měřeny i samostatné výchozí suroviny (chitosan, meloxikam a CTAB), jejich termogramy jsou zobrazeny na obrázcích 34-36 a dále fyzikální směsi. Jako ukázkové termogramy fyzikálních směsí byly vybrány vzorky s obsahem CTAB s nejnižším a nejvyšším obsahem léčiva (Obr. 37 a 38). Jako příklady sprejově sušených směsí byly vybrány vzorky s 15 mg meloxikamu sušené při teplotě 170 °C a s 20 mg meloxikamu sušené při teplotě 190 °C a 210 °C. U každého vzorku bylo měření provedeno dvakrát. První hodnocení bylo provedeno hned po usušení a další po 6 měsících skladování.

V průběhu měření docházelo ke změnám teploty vzorku a jednotlivé změny teplot a tím i změny vzorku jsou na termogramech zobrazeny jako píky, které jsou charakterizované výškou a plochou pod křivkou. Píky vyjadřující exotermickou reakci klesají do záporných hodnot a jsou spojené s uvolňováním tepla. Tyto píky charakterizují např. teplotu krystalizace. Naopak píky, které rostou směrem do kladných hodnot, vyjadřují endotermickou reakci a souvisí s absorbováním tepla do vzorku. Absorpci tepla jako zdroje energie dochází k tání vzorku, a proto tyto píky charakterizují např. teplotu tání nebo dehydrataci.

Na termogramech fyzikálních směsí můžeme pozorovat pík dehydratace chitosanu. Teplota u směsi s vyšším obsahem léčiva odpovídá 89,1 °C a u nejnižší koncentrace je to 74,4 °C. Teplota se s rostoucí koncentrací léčiva zvyšuje. Oproti samotnému chitosanu (Obr. 35) ale došlo k poklesu teploty. Další pík na záznamu odpovídá nejspíše fázovému přechodu pevná fáze-pevná fáze u CTAB, jako tomu bylo i ve studii Endoh a kol. [47] a Bezrodna a kol. [48]. U fyzikálních směsí se tato teplota pohybuje v rozmezí 100-104,3 °C a snižuje se s rostoucím množstvím léčiva. Také zde došlo k poklesu v porovnání s čistou surovinou (Obr. 36). Teploty píků u fyzikálních směsí jsou shrnuty v tabulce 6.

První pík na termogramech sušených vzorků (Obr. 39-44) představuje dehydrataci chitosanu. Endotermický vrchol u samotného chitosanu (Obr. 35) byl

zjištěn při teplotě 98,9 °C. Podobná teplota u samotného chitosanu byla zaznamenána i ve studii Rao a kol. [49], Dong a kol. [50] a Neto a kol. [51], kdy se pík pohyboval okolo hodnoty 100 °C. Tento pík je způsobený ztrátou vody v polymeru. U sušených vzorků se tato teplota pohybuje při prvním měření v rozmezí 72,9-79,9 °C a při druhém měření po 6 měsících mezi teplotami 73,9-92,1 °C. V porovnání se samotným chitosanem tak došlo u sušených vzorků k poklesu teploty dehydratace. Po prvním měření to bylo až o téměř 26 °C, po druhém měření se rozdíl mírně snížil. Rozdíl mezi prvním a druhým měřením může být způsoben hygroscopicitou chitosanu, kdy během skladování mohlo dojít k absorpci vlhkosti do materiálu. Hygroscopicita chitosanu byla popsána v článku Szymańska a kol. [52], ve kterém byly hodnoceny vlivy různých faktorů na stabilitu chitosanu. Teplota sušení nemá výrazný vliv na teplotu dehydratace chitosanu. Rozdíly mezi jednotlivými teplotami se jak při prvním měření, tak i po 6 měsících pohybují v jednotkách °C (Tabulka 7). Stejně tak nebyly zaznamenány výrazné rozdíly mezi jednotlivými koncentracemi léčiva.

Další pík na termogramech sušených vzorků odpovídá fázovému přechodu CTAB. Podobně jako u fyzikálních směsí zde došlo ke snížení teploty v porovnání s čistou látkou (Obr. 36). Samotné CTAB vykazovalo pík při teplotě 108,4 °C, zatímco na termogramech sušených vzorků se pík posunul k nižším teplotám okolo 100,1-102,1 °C. Při druhém měření došlo k dalšímu snížení teploty, ale jen mírně o maximálně necelé 2 °C. Ani u této teploty nebyly zaznamenány rozdíly mezi jednotlivými teplotami sušení a koncentracemi léčiva (Tabulka 7).

Na termogramech fyzikálních směsí ani na záznamech sprejově sušených vzorků nebyly zachyceny píky teplot tání meloxicamu a CTAB. Během našeho měření jsme zaznamenali teplotu tání samotného CTAB při 270,6 °C (Obr. 36). Podobnou teplotu (272 °C) zaznamenali i ve studii Huang a kol. [53]. Meloxicam má teplotu tání 259,9 °C (Obr. 34). Ve studii Ki a kol. [54] zaznamenali teplotu tání meloxicamu při 256,2 °C. Podobná hodnota byla naměřena i ve studii Nassab a kol. [55] a to 260 °C. Naopak Soliman a kol. [56] zjistili nižší teplotu tání meloxicamu při 240,9 °C. Nepřítomnost píku může znamenat, že došlo ke změně krystalické formy meloxicamu v amorfni. Na termogramech však není vidět skelný přechod, který by naznačoval amorfni formu léčiva. Mohl by však být teoreticky překrytý píkem dehydratace chitosanu. Ale např. ve studii Dixit a kol. [57] nedošlo u částic s obsahem chitosanu

k ovlivnění DSC spektra piroxikamu. Ve studii Li a kol. [58] ovlivnila koncentrace CTAB endotermické píky methylcelulózy, které se posouvaly k vyšším teplotám se zvyšující se koncentrací CTAB a zároveň také došlo ke snížení výšky a rozšíření vrcholu.

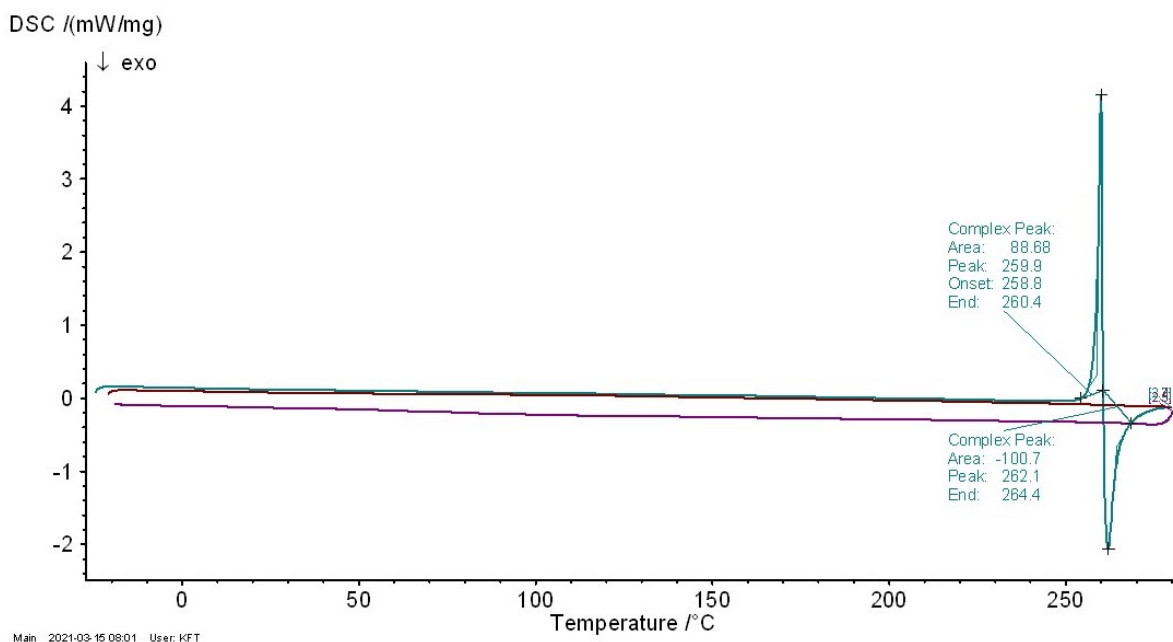
Při porovnání termogramů sušených vzorků po půl roce skladování nedošlo na termogramech ke změnám. Nebyly zjištěny píky odpovídající např. krystalizaci látek nebo jejich teploty tání. Došlo pouze k posunutí teplot, a tak předpokládáme, že vzorky jsou stabilní.

Tabulka 6: Hodnoty teplot píků fyzikálních směsí

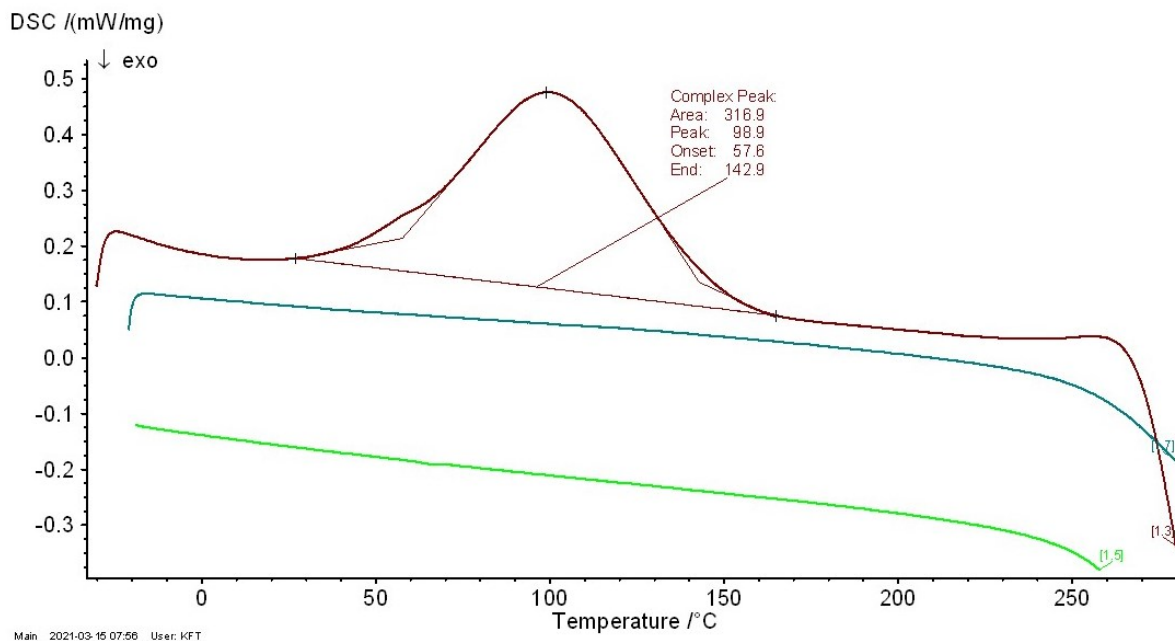
Vzorek	Dehydratace CH (°C)	Fázových přechod CTAB (°C)
MX 10mg/100ml	74,4	104,3
MX 15mg/100ml	78,3	104,0
MX 20mg/100ml	83,4	102,5
MX 25mg/100ml	89,5	100,0

Tabulka 7: Hodnoty teplot píků sušených vzorků

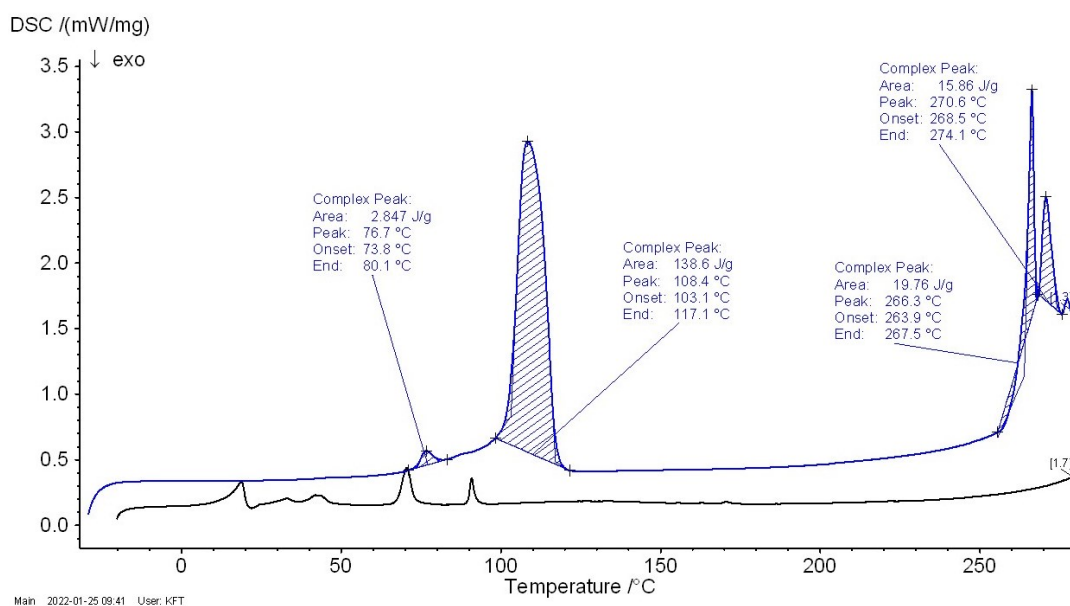
Vzorek	Dehydratace CH (°C)	Dehydratace CH po 6 měsících (°C)	Fázový přechod CTAB (°C)	Fázových přechod CTAB po 6 měsících (°C)
MX10, 170 °C	74,5	78,1	100,5	100,4
MX10, 190 °C	77,9	77,9	101,6	101,4
MX10, 210 °C	72,9	73,9	101,3	99,9
MX15, 170 °C	76,9	82,7	100,5	98,6
MX15, 190 °C	78,6	89,1	100,8	99,5
MX15, 210 °C	75,1	87,3	102,1	99,5
MX20, 170 °C	79,9	92,1	99,9	99,4
MX20, 190 °C	75,0	82,4	101,1	99,5
MX20, 210 °C	79,6	81,9	100,8	99,6
MX25, 170 °C	77,3	84,8	100,9	100,3
MX25, 190 °C	78,1	85,6	100,9	98,2
MX25, 210 °C	77,7	77,9	100,1	101,5



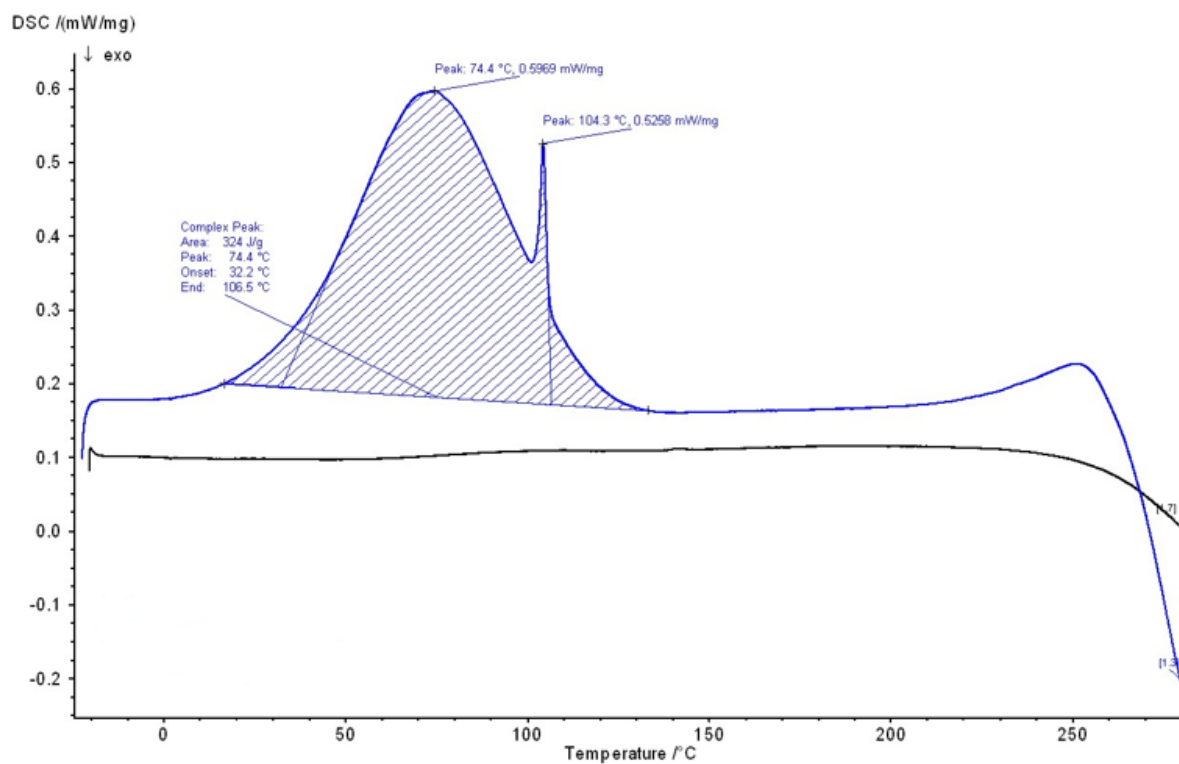
Obrázek 34: DSC termogram samotného meloxicamu. Zeleně je vyznačená křivka prvního ohřevu, hnědě křivka druhého ohřevu a růžově křivka chlazení.



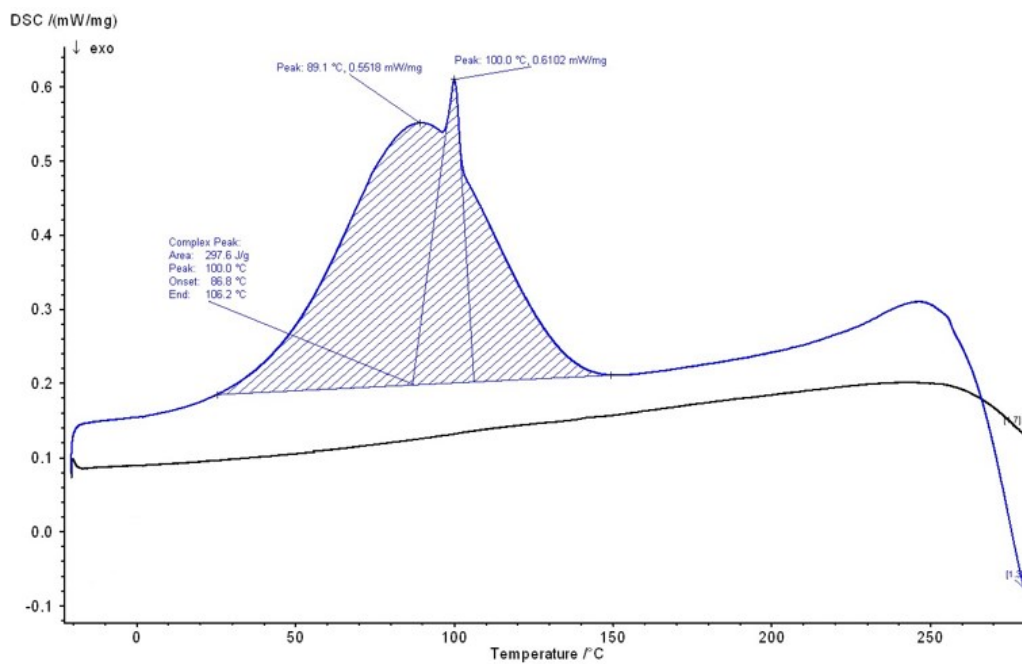
Obrázek 35: DSC termogram samotného chitosanu. Hnědě je vyznačená křivka prvního ohřevu, modře křivka druhého ohřevu a zeleně křivka chlazení.



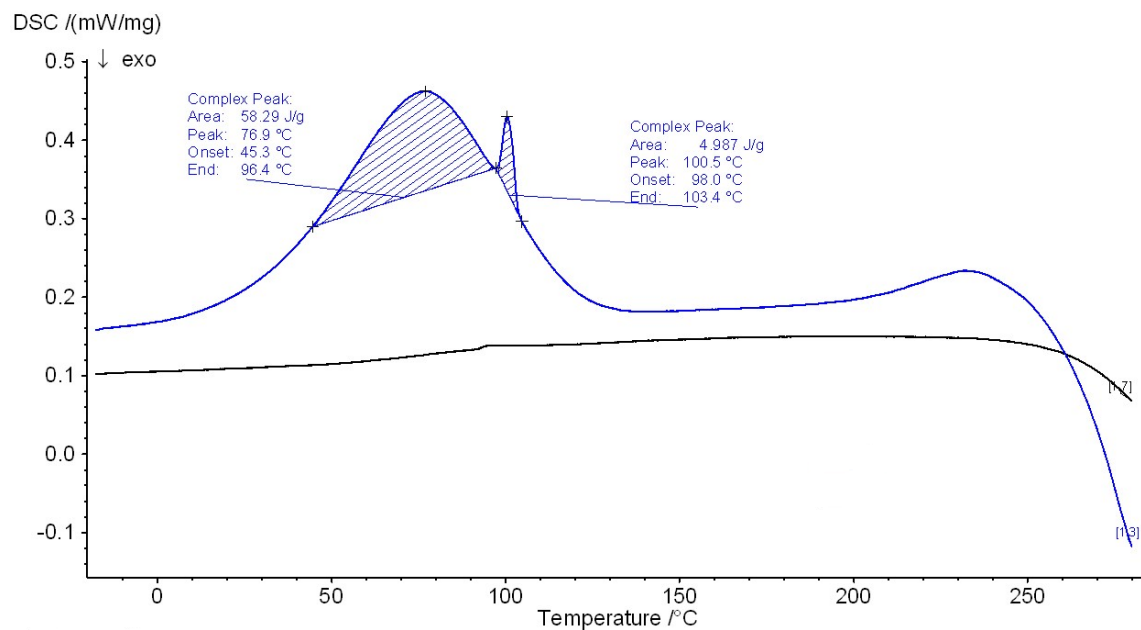
Obrázek 36: DSC termogram samotného CTAB



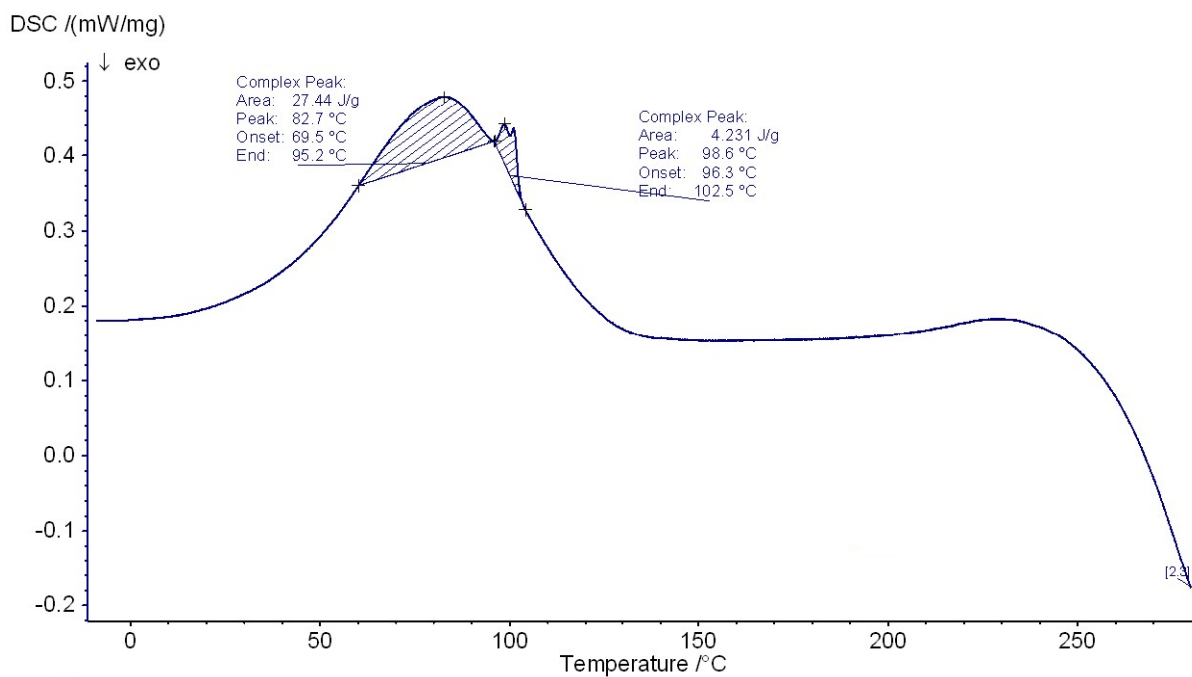
Obrázek 37: DSC termogram fyzikální směsi s nižším obsahem léčiva (10mg/100ml)



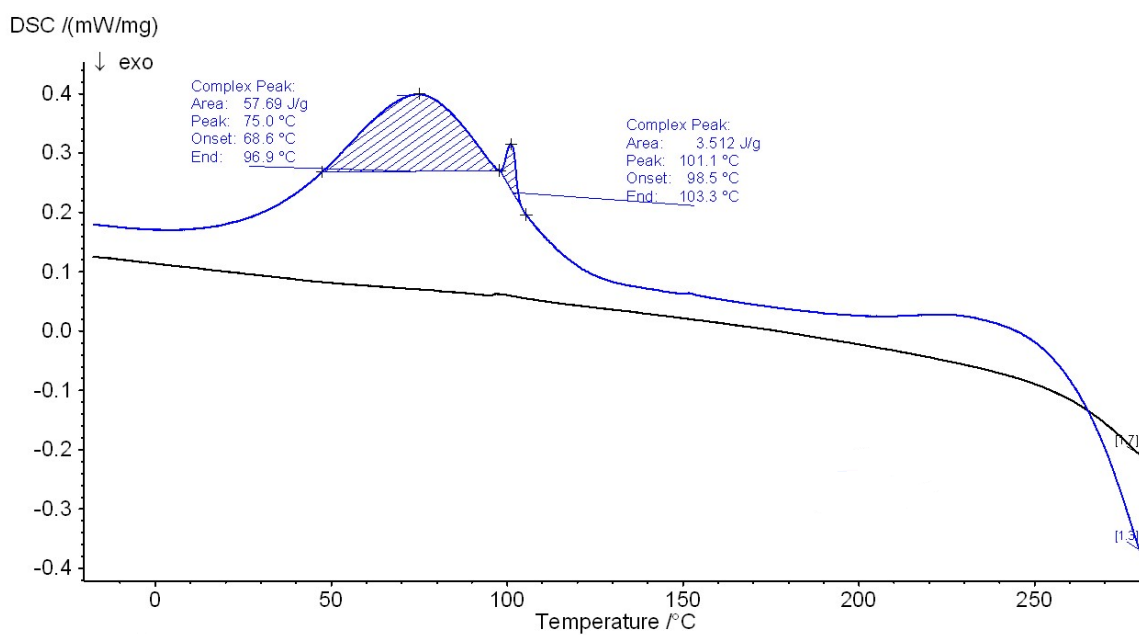
Obrázek 38: DSC termogram fyzikální směsi s vyšším obsahem léčiva (25mg/100ml)



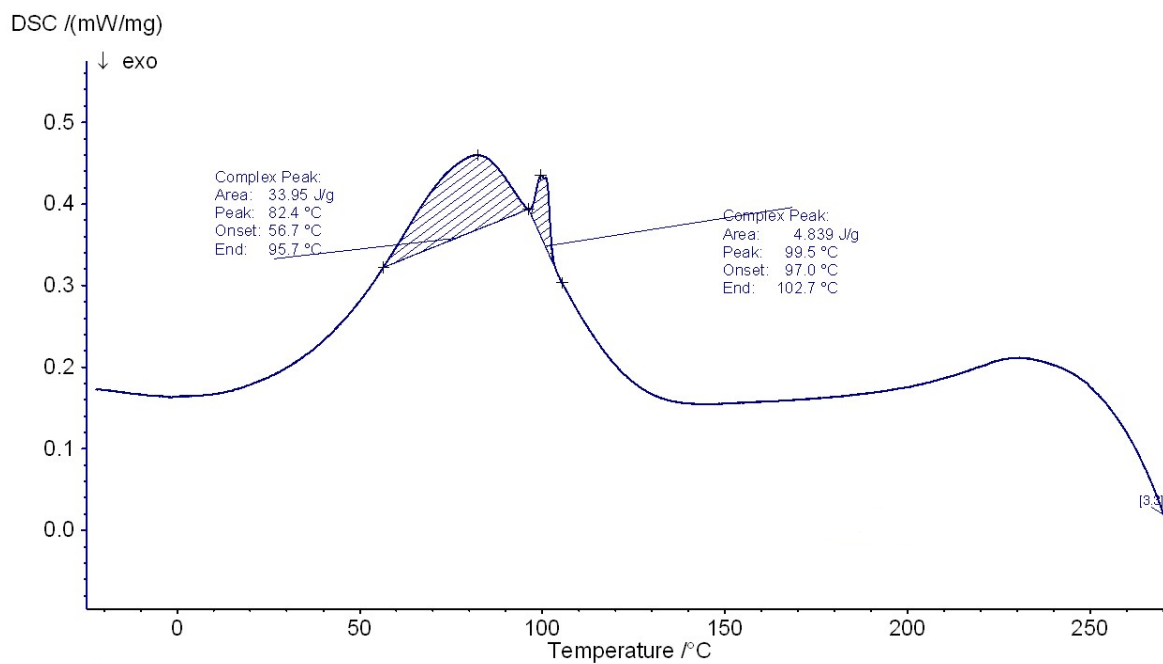
Obrázek 39: DSC termogram vzorku s 15 mg meloxicamu sušeného při 170 °C



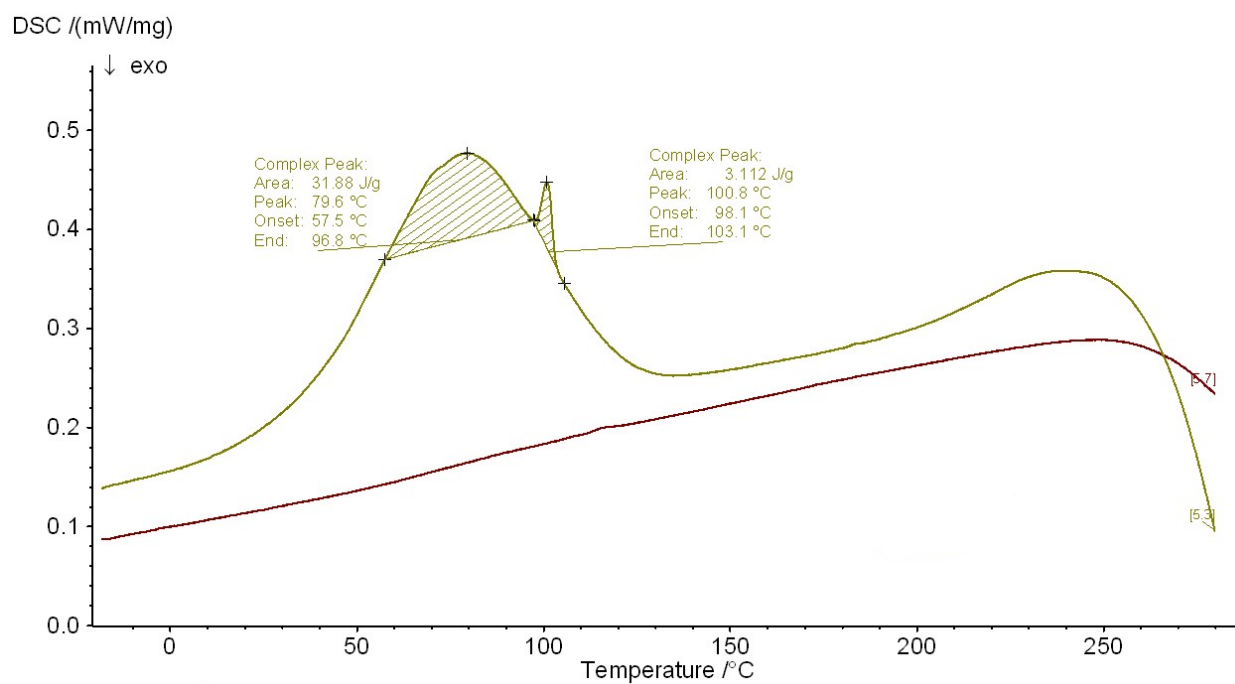
Obrázek 40: DSC termogram vzorku s 15 mg meloxicamu sušeného při 170 °C po 6 měsících uchování



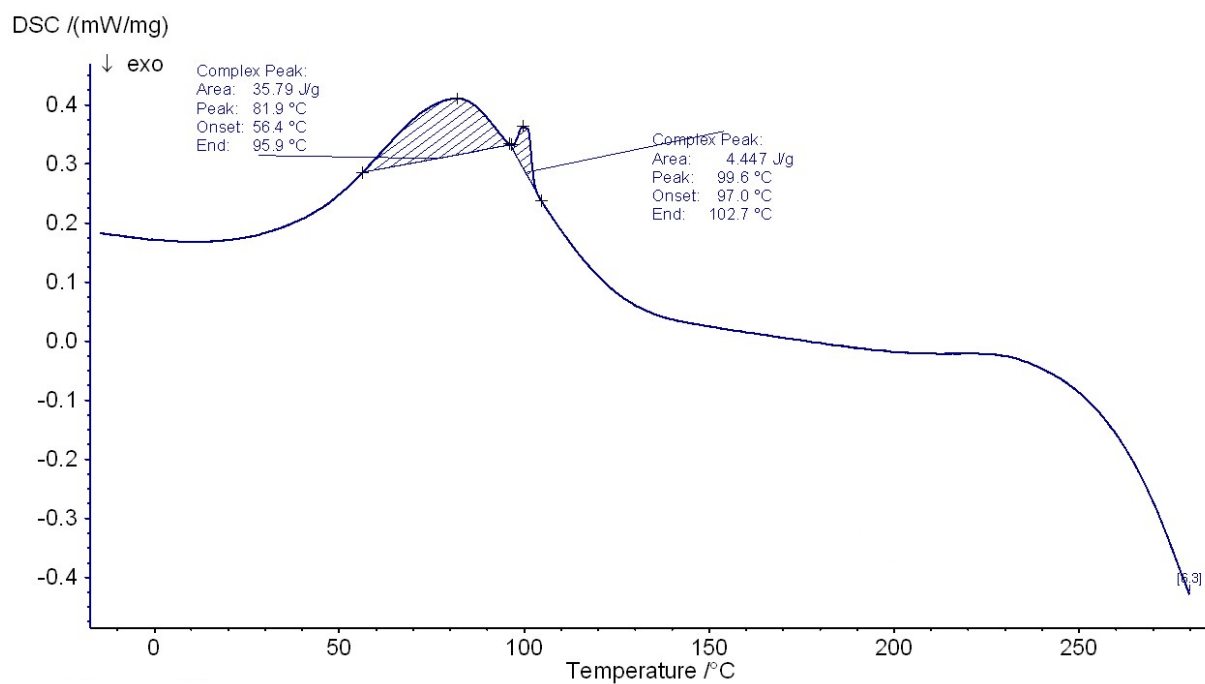
Obrázek 41: DSC termogram vzorku s 20 mg meloxicamu sušeného při 190 °C



Obrázek 42: DSC termogram vzorku s 20 mg meloxicamu sušeného při 190 °C po 6 měsících uchování



Obrázek 43: DSC termogram vzorku s 20 mg meloxicamu sušeného při 210 °C



Obrázek 44: DSC termogram vzorku s 20 mg meloxicamu sušeného při 210 °C po 6 měsících uchování

8.3 Vyhodnocení rychlosti a množství uvolněného léčiva pomocí disoluce a spektrofotometrie

Pro hodnocení rychlosti a množství uvolněného léčiva byla použita metoda disoluce. Množství uvolněného léčiva (meloxicamu) bylo porovnáno mezi sušenými vzorky, fyzikálními směsmi a také se samotným meloxicamem. Dále byly porovnávány i fyzikální směsi s obsahem CTAB a bez. Pro hodnocení disoluce bylo použito množství meloxicamu změřené v připravených vzorcích.

Na obrázku 45 je graf disoluce vzorků s nejnižší použitou koncentrací meloxicamu 10 mg/100 ml. Z tablet připravených ze samotného meloxicamu se po 60 minutách uvolnilo pouze 1,08 % léčiva. Oproti samotnému meloxicamu se u vzorku sušeného při teplotě 190 °C uvolňování léčiva zvýšilo. Disoluční profil však není úplně plynulý a docházelo zde k výkyvům během celé doby měření. Nejvyšší množství léčiva (11,26 %) se uvolnilo ve 25. minutě. V druhé půlhodině se množství uvolňovaného léčiva začalo snižovat. U teplot 170 °C a 210 °C byly hodnoty uvolněného léčiva pod hladinou detekovatelnosti, a proto nejsou tyto záznamy v grafu zaneseny. Uvolněné množství léčiva nebylo možné spolehlivě určit. Nízké množství uvolněného léčiva může být způsobeno např. celkově nižším obsahem meloxicamu ve vzorku. Během sprejového sušení dochází k lepení materiálu na stěny sušicí komory a tím ke ztrátám, které se následně projeví jako nižší výtěžek. Velmi nízké hodnoty absorbancí, a tedy i množství léčiva, které nelze na základě kalibrační křivky spolehlivě určit, bylo zaznamenáno i u fyzikální směsi. Vliv zde neměl ani přídatek tenzidu. Malý podíl uvolněného léčiva by mohl být způsoben tím, že chitosan v kontaktu s disolučním médiem mírně nabobtná a nedojde k úplnému rozpadu tablety (Obr. 49). Léčivo je tak uzavřeno ve struktuře tablety a nedojde k jeho úplnému uvolnění. Podobná situace nastala také u fyzikálních směsí s vyšší koncentrací léčiva (15 a 20 mg). I u těchto koncentrací je teda množství uvolněného léčiva ze sprejově sušených vzorků vyšší než z fyzikálních směsí.

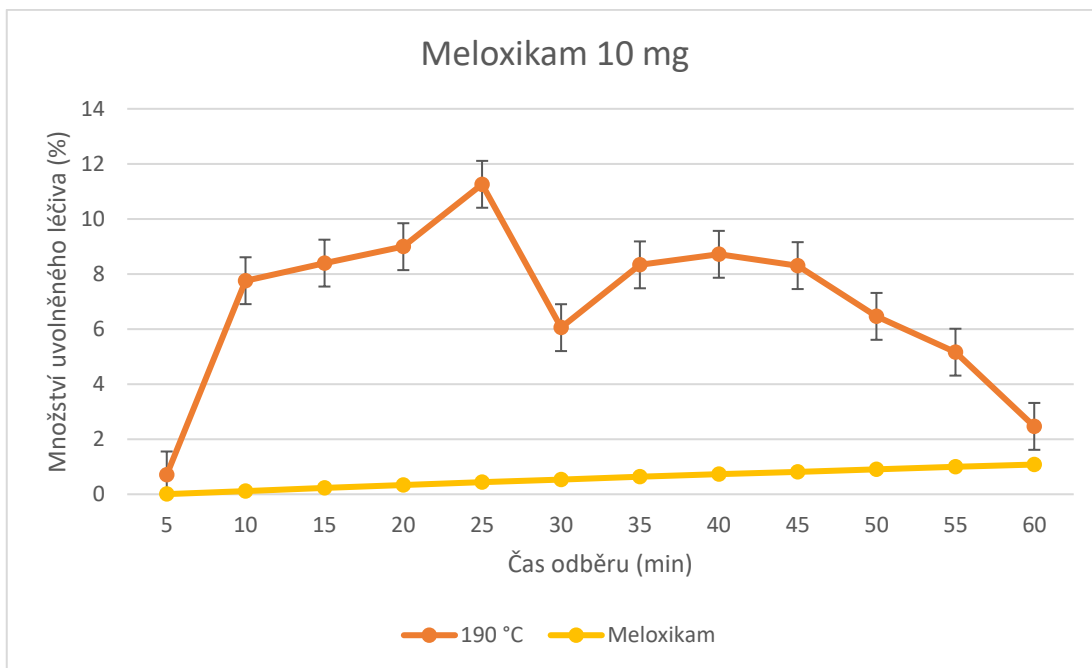
Při použití vyšších koncentrací meloxicamu 15, 20 a 25 mg (Obr. 46-48) se oproti sušenému vzorku s nejnižší koncentrací uvolnilo větší množství léčiva, a to u všech teplot použitých během sušení.

U koncentrace meloxicamu 15 mg (Obr. 46) nejvyšší hodnoty uvolněného léčiva vykazoval opět vzorek sušený při teplotě 190 °C, kdy se po 60 minutách uvolnilo až 34,56 % léčiva. Následoval vzorek sušený při 170 °C, kde ale po 35. minutě došlo k výraznému poklesu množství uvolněného léčiva. Pokles a nerovnoměrné uvolňování by mohlo být způsobeno např. tím, že vzorek nebyl úplně homogenní a v některých částech tablety se nacházelo méně léčiva. Během disoluce, kdy se do nádob doplňoval po odebrání vzorků čistý pufr, tak došlo k naředění obsahu, byly změřeny nižší hodnoty absorbancí a potažmo i nižší obsah léčiva. U teploty 210 °C došlo k rychlému uvolnění meloxicamu během prvních 10 minut a po zbytek času už se disoluční profil příliš neměnil.

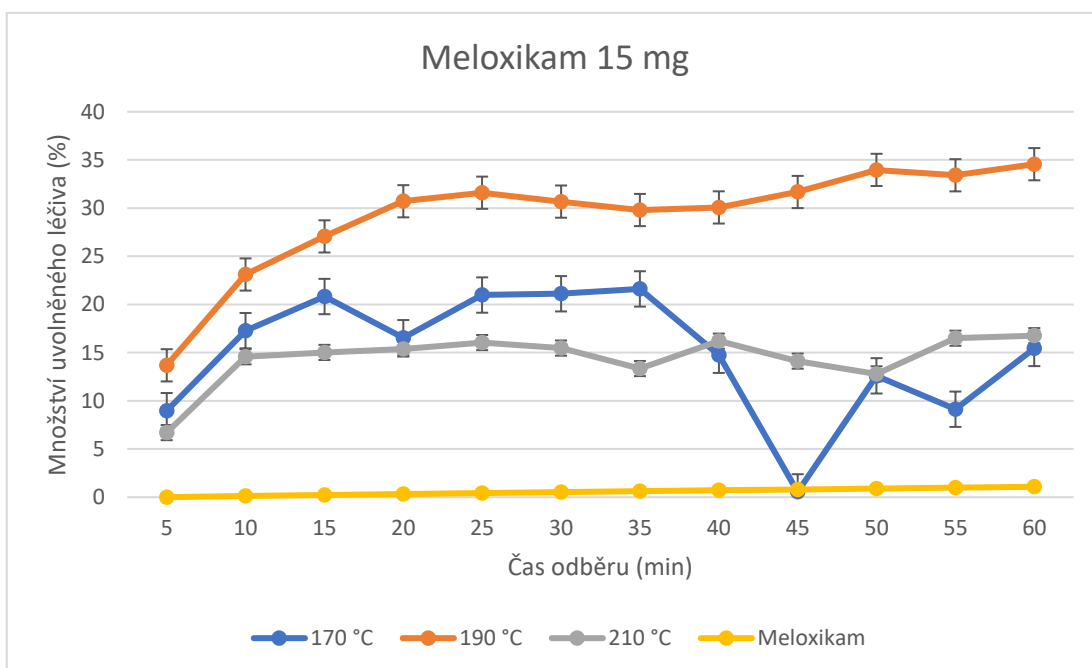
U vzorku s 20 mg meloxicamu (Obr. 47) bylo naměřeno nejvyšší množství uvolněného léčiva u vzorku sušeného při 170 °C, následovala teplota 190 °C a nejméně léčiva se uvolnilo ze vzorků sušených při 210 °C. U všech teplot jsou disoluční profily bez výrazných výkyvů v hodnotách. Nejvíce léčiva se vždy uvolnilo během prvních 10 minut a poté došlo k ustálení.

Při použití nejvyšší koncentrace meloxicamu 25 mg (Obr. 48) jsou disoluční profily jednotlivých sušených vzorků srovnatelné. Mírně nižší hodnoty můžeme sledovat u teploty 210 °C. Provedením disoluce u vzorku sušeného při teplotě 190 °C bylo uvolněno až 51,88 % léčiva. U všech směsí došlo k rychlému uvolnění léčiva (více než 30 %, u teploty 210 °C to bylo 35,68 %) během prvních 5 minut, poté ještě dalších 10 minut množství rostlo a následně došlo k ustálení profilu. Ve studii Pomázi a kol. [59] došlo k uvolnění až 100 % meloxicamu během prvních 5 minut ze sprejově sušených tablet s přidavkem dalších látek (Mannitol, Tween 80, Polyvinylpyrrolidin). Také ve studii El-Badry a kol. [60] se rychlost rozpuštění meloxicamu v kombinaci s povrchově aktivní látkou Gelucire zvýšila 3,4krát oproti samotnému meloxicamu. U fyzikálních směsí s nejvyšším obsahem léčiva bylo také v porovnání s nižšími koncentracemi změřeno malé množství uvolněného meloxicamu. Pro směs s CTAB byly hodnoty zaznamenány po 20 minutách a pro směs bez CTAB po 30 minutách disoluce. Konečné hodnoty po 60 minutách jsou vyšší než pro samotný meloxicam, ale výrazně nižší než u sprejově sušených směsí.

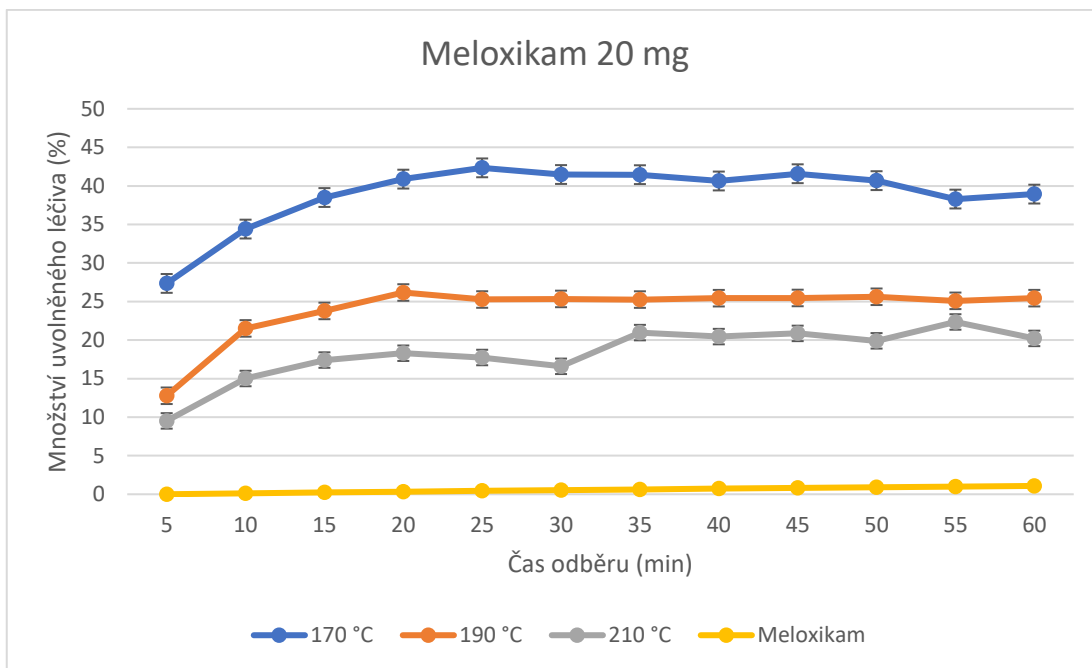
Obecně bylo uvolňování léčiva ze sprejově sušených vzorků vyšší v porovnání s fyzikálními směsmi a samotným meloxicamem, s výjimkou směsí s obsahem meloxicamu 10 mg, kde u teplot 170 °C a 210 °C nebylo možné léčivo detekovat. Při porovnání sušených vzorků ve třech různých teplotách se dosáhlo nejvyššího uvolňování léčiva ve vzorcích sušených při 170 °C a 190 °C. Se stoupající koncentrací léčiva se zvyšovalo i množství uvolněného léčiva. Rychlost uvolňování byla zejména u vyšších koncentrací vyšší v porovnání se samotným meloxicamem. Nejvíce léčiva se uvolňovalo již po 5-15 minutách disoluce.



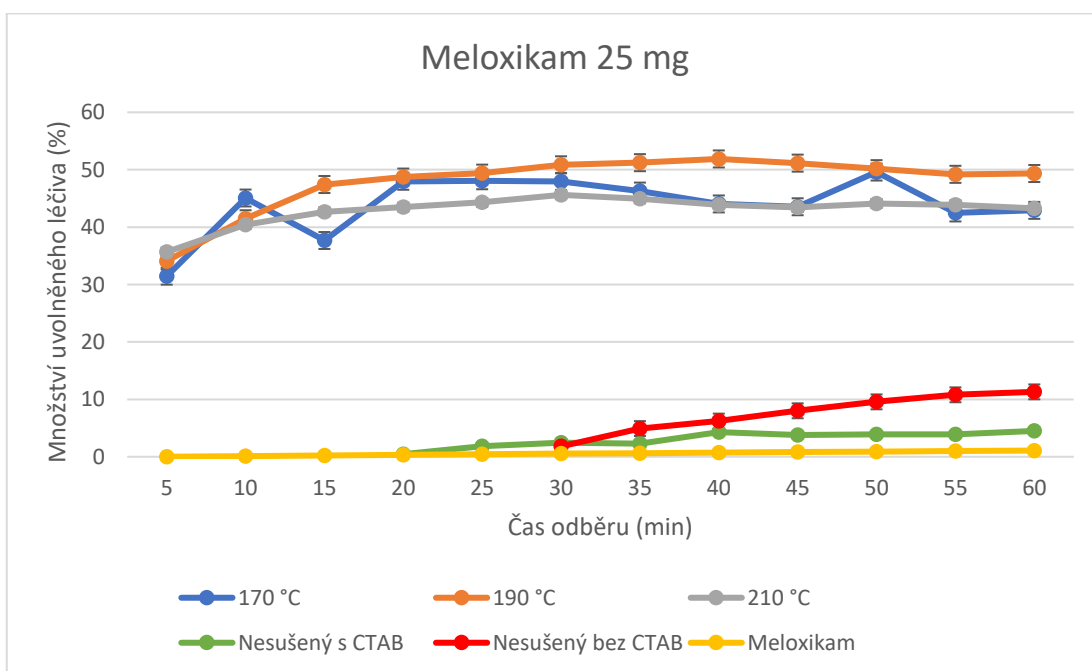
Obrázek 45: Graf závislosti množství uvolněného léčiva na čase u vzorku s obsahem 10 mg meloxicamu



Obrázek 46: Graf závislosti množství uvolněného léčiva na čase u vzorku s obsahem 15 mg meloxicamu



Obrázek 47: Graf závislosti množství uvolněného léčiva na čase u vzorku s obsahem 20 mg meloxicamu



Obrázek 48: Graf závislosti množství uvolněného léčiva na čase u vzorku s obsahem 25 mg meloxicamu a nesušeného vzorku s a bez CTAB



Obrázek 49: Fotografie nesušených směsí bez CTAB o koncentraci meloxicamu 10mg/100ml (vlevo) a 15mg/100ml (vpravo)

9 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo připravit sprejově sušený prášek s obsahem léčiva (meloxicamu), chitosanu a tenzidu CTAB. Byly připraveny roztoky o koncentraci meloxicamu 10, 15, 20 a 25 mg/100 ml a tenzidu CTAB o koncentraci 320 mg/100 ml, do kterých byl následně suspendován chitosan. Jednotlivé vzorky se sprejově sušily při třech různých teplotách – 170 °C, 190 °C a 210 °C. Pro hodnocení velikosti a tvaru částic byla použita optická mikroskopie a SEM. Teplotní charakteristiky byly hodnoceny pomocí DSC a na závěr byla provedena zkouška disoluce, při které se hodnotilo množství uvolněného léčiva.

Snímky z optické mikroskopie a SEM zachycují velikost a tvar částic. Vzhledem k tomu, že byl chitosan v roztoku léčiva a tenzidu suspendován, vzniklé částice odpovídají velikostně nepravidelným destičkovitým částicím chitosanu. Částice, které jsou zachyceny na povrchu chitosanu, vznikly nejspíše kombinací meloxicamu a tenzidu, vytvářejí shluky a jsou spíše sférické. Ze SEM snímků se potvrdilo, že během sprejového sušení došlo ke změně tvaru meloxicamu i CTAB, kdy vznikly částice s kulovitým tvarem. Mezi jednotlivými vzorky nebyly nalezeny významné rozdíly ve vzhledu částic způsobené změnou teploty a koncentrací roztoku. Velikost částic, kde by se mohly projevit rozdíly mezi vzorky, nebyla v této práci hodnocena.

Na DSC termogramech sušených vzorků došlo při prvním měření k poklesu teplot dehydratace chitosanu až o téměř 26 °C oproti samotnému chitosanu. Při druhém měření byl pokles teplot nižší a předpokládáme, že toto bylo způsobeno hygroskopicitou chitosanu. U CTAB a meloxicamu nebyly na termogramech zachyceny píky teplot tání. U meloxicamu došlo pravděpodobně ke změně krystalické formy v amorfni, avšak na termogramech není rozeznatelný skelný přechod. CTAB vykazovalo pík odpovídající fázovému přechodu CTAB, jehož hodnoty se také posunuly k nižším teplotám oproti samotnému CTAB. Po 6 měsících skladování nedošlo na termogramech sušených vzorků ke změnám a můžeme tak říct, že vzorky jsou stabilní.

Porovnáním disolučních profilů u jednotlivých sušených vzorků s fyzikálními směsmi a samotným meloxicamem bylo zjištěno, že se množství uvolněného

meloxikamu výrazně zvýšilo u sušených vzorků. Nejvyššího množství uvolněného léčiva bylo dosaženo u vzorků sušených při nižší teplotě (170 °C a 190 °C) a zároveň u vzorků s vyšší koncentrací meloxikamu. Nejvíce léčiva se ze sprejově sušených vzorků uvolnilo už po prvních 5-15 minutách.

10 BIBLIOGRAFIE

- (1) POOZESH, S. a BILGILI, E. Scale-up of pharmaceutical spray drying using scale-up rules: A review. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019, **562**, 271–292. ISSN 0378-5173.
- (2) ZIAEE, A. et al. Spray drying of pharmaceuticals and biopharmaceuticals: Critical parameters and experimental process optimization approaches. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019, **127**, 300–318. ISSN 0928-0987.
- (3) BROADHEAD, J., EDMOND ROUAN, S. K. a RHODES, C. T. The spray drying of pharmaceuticals. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 1992, **18**(11–12), 1169–1206.
- (4) GIBALDI, M. a FELDMAN, S. Mechanisms of Surfactant Effects on Drug Absorption. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1970, **59**(5), 579–589. ISSN 0022-3549.
- (5) SALAMA, A. H. Spray drying as an advantageous strategy for enhancing pharmaceuticals bioavailability. *Drug Delivery and Translational Research*. 2020, **10**(1).
- (6) SOSNIK, A. a SEREMETA, K. P. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2015, **223**, 40–54.
- (7) JAIN, M. et al. Spray Drying in Pharmaceutical Industry: A Review. *Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology*. 2012, **4**(2). ISSN 0975-234X.
- (8) PATEL, B. B., PATEL, J. K. a CHAKRABORTY, S. Review of Patents and Application of Spray Drying in Pharmaceutical, Food and Flavor Industry. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*. 2014, **8**(1), 63–78. ISSN 1872-2113.
- (9) BETE *Spray dry manual* [online]. [cit. 2022-02-23]. Dostupné z: https://www.bete.com/PDFs/BETE_SprayDryManual.pdf
- (10) *Mini spray dryer B-290*. In: Avantor [online]. [cit. 2022-05-02]. Dostupné z: https://cz.vwr.com/store/product/14452929/mini-spray-dryer-b-290?fbclid=IwAR3e4wKtCh_oKxa92_kcA4EMVuxKir_uSKPAkt05WycZwvo7-T49Jy9HxH8

- (11) ADHIKARI, B., TIMILSENA, Y. a HAQUE, M. A. Spray Drying. *Drying Technologies for Foods Fundamentals and Applications*. New Delhi: New India Publishing Agency, 2015. ISBN 9781138733084.
- (12) CAL, K. a SOLLOHUB, K. Spray Drying Technique. I: Hardware and Process Parameters. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010, **99**(2), 575–586. ISSN 0022-3549.
- (13) PATEL, R. P., PATEL, M. P. a SUTHAR, A. M. Spray drying technology: an overview. *Indian Journal of Science and Technology*. 2009, **2**(10), 44–47. ISSN 0974-6846.
- (14) ŠMIDRKAL, J. Tenzidy a detergenty dnes. *Chemické listy*. 1999, **93**(7), 421–427.
- (15) FARBY, B. Tenside: Eigenschaften, Rohstoffe, Produktion, Anwendungen. *Chemie in unserer Zeit*. 1991, **25**(4), 214–222. ISSN 0009-2851.
- (16) MALMSTEN, M. *Surfactants and Polymers in Drug Delivery*. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002, s. 8–11. ISBN 0-8247-0804-0.
- (17) CLINT, J. H. *Surfactant Aggregation*. New York: Springer Science+Business Media, 1992, s. 1–6. ISBN 978-94-010-5008-1.
- (18) MENGER, F. M. On the Structure of Micelles. *Accounts of Chemical Research*. *American Chemical Society*, 1979, **12**(4), 111–117.
- (19) DAIFA, M., SHMOELI, E. a DOMB, A. J. Enhanced flocculation activity of polyacrylamide-based flocculant for purification of industrial wastewater. *Polymers for Advanced Technologies*. 2019, **30**(10), 2636–2646. ISSN 1099-1581.
- (20) SAVJANI, K. T., GAJJAR, A. K. a SAVJANI, J. K. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. *International Scholarly Research Notices*. 2012. ISSN 2356-7872.
- (21) BHAT, P. A., DAR, A. A. a RATHER, G. M. Solubilization Capabilities of Some Cationic, Anionic, and Nonionic Surfactants toward the Poorly Water-Soluble Antibiotic Drug Erythromycin. *Chemical Engineering Journal*. 2008, **53**(6), 1271–1277. ISSN 1385-8947.
- (22) CHAKRABORTY, T., CHAKRABORTY, I. a GHOSH, S. The methods of determination of critical micellar concentrations of the amphiphilic systems in

- aqueous medium. *Arabian Journal of Chemistry*. 2011, **4**(3), 265–270. ISSN 1878-5352.
- (23) MÜLLEROVÁ, M., ŠVÁB, M. a DOS SANTOS, M. M. Měření kritických micelárních koncentrací tenzidů ve vodných roztocích. *Chemické listy*. 2007, **101**(6), 509–514. ISSN 1213-7103.
- (24) MULDER, I., SCHMITTDIEL, M., FREI, H., HOFMANN, L., GERBIG, D. a SIEMENS, J. Soil water solutes reduce the critical micelle concentration of quaternary ammonium compounds. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020, **27**, 45311–45323.
- (25) CHAUDHARY, A., NAGAICH, U., GULATI, N., SHARMA, V. K. a KHOSA, R. L. Enhancement of solubilization and bioavailability of poorly soluble drugs by physical and chemical modifications: A recent review. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*. 2012, **2**(1), 32–67. ISSN 2249-3379.
- (26) RANGEL-YAGUI, C. O., PESSOA, A., Jr., a TAVARES, L. C. Micellar solubilization of drugs. *J Pharm Pharmaceut Sci*. 2005, **8**(2), 147–163.
- (27) RANNEH, A-H., IWAO, Y., NOGUCHI, S., OKA, T. a ITAI, S. The use of surfactants to enhance the solubility and stability of the water-insoluble anticancer drug SN38 into liquid crystalline phase nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2016, **515**(1–2), 501–505. ISSN 0378-5173.
- (28) PARK, S-H. 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 0378-5173.
- (29) KHADKA, P., RO, J., KIM, H., KIM, I., KIM, J. T., KIM, H., CHO, J. M., YUN, G. a LEE, J. Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014, **9**(6). ISSN 1818-0876.
- (30) SOLLOHUB, K. a CAL, K.. Spray Drying Technique: II. Current Applications in Pharmaceutical Technology. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010, **99**(2), 587-597. ISSN 0022-3549.
- (31) AL-OBAIDI, H., LAWRENCE M. J. a BUCKTON, G. Atypical effects of incorporated surfactants on stability and dissolution properties of amorphous

- polymeric dispersions. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2016, **68**(11), 1373–1383. ISSN 2042-7158.
- (32) WONG, S. M., KELLAWAY, I. W. a MURDAN, S. Enhancement of the dissolution rate and oral absorption of a poorly water soluble drug by formation of surfactant-containing microparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006, **317**(1), 61–68. ISSN 0378-5173.
- (33) DI BATTISTA, C. A., CONSTENLA, D., RAMÍREZ-RIGO, M. V. a PIÑA, J. The use of arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying. *Powder Technology*. 2015, **286**, 193–201. ISSN 0032-5910.
- (34) SOSNOWSKI, T. R. a GRADÓN, L. Modification of inhalable powders by pulmonary surfactant components adsorbed on droplets during spray-drying process. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2010, **365**(1–3), 56–61. ISSN 0927-7757.
- (35) ADHIKARI, B., HOWES, T., WOOD, B. J. a BHANDARI, B. R. The effect of low molecular weight surfactants and proteins on surface stickiness of sucrose during powder formation through spray drying. *Journal of Food Engineering*. 2009, **94**(2), 135–143. ISSN 0260-8774.
- (36) OSORIO, J. et al. Effects of spray drying conditions and the addition of surfactants on the foaming properties of a whey protein concentrate. *LWT - Food Science and Technology*. 2014, **58**(1), 109–115. ISSN 0023-6438.
- (37) LALLBEEHARRY, P. et al. Effects of ionic and nonionic surfactants on milk shell wettability during co-spray-drying of whole milk particles. *Journal of Dairy Science*. 2014, **97**(9), 5303–5314. ISSN 0022-0302.
- (38) EL-HACK, M. E. A. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020, **164**, 2726–2744. ISSN 0141-8130.
- (39) ALHALAWEH, A., ANDERSSON, S. a VELAGA, S. P. Preparation of zolmitriptan–chitosan microparticles by spray drying for nasal delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009, **38**(3), 206–214. ISSN 0928-0987.
- (40) ESTEVINHO, B. N., ROCHA, F., SANTOS, L. a ALVES, A. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications – A

- review. *Trends in Food Science & Technology*. 2013, **31**(2), 138–155. ISSN 0924-2244.
- (41) MUXIKA, A. et al. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017, **105**(2), 1358–1368. ISSN 0141-8130.
- (42) HUANG, Y. C., YEH, M. K., CHENG, S. N. a CHIANG, C. H.. The characteristics of betamethasone-loaded chitosan microparticles by spray-drying method. *Journal of Microencapsulation*. 2003, **20**(4), 459–472. ISSN 1464–5246.
- (43) ASADA, M., TAKAHASHI, H., OKAMOTO, H., TANINO, H. a DANJO, K. Theophylline particle design using chitosan by the spray drying. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004, **270**(1–2), 167–174. ISSN 0378-5173.
- (44) MORLANDO, A., SENCADAS, V., CARDILLO, D. a KONSTANTINOV, K. Suppression of the photocatalytic activity of TiO₂ nanoparticles encapsulated by chitosan through a spray-drying method with potential for use in sunblocking applications. *Powder Technology*. 2018, **329**, 252–259. ISSN 0032-5910.
- (45) VARGA, P., AMBRUS, R., SZABÓ-RÉVÉSZ, P. a BARTOS, C. Development of Intranasal Chitosan-Based Drug Delivery Containing Meloxicam. *Proceedings*. 2020, **4**. ISSN 2504-3900.
- (46) ZHANG, Z-L. et al. Preparation and properties of chitosan-based microspheres by spray drying. *Food Science & Nutrition*. 2020, **8**(4), 1933–941. ISSN 2048-7177.
- (47) ENDOH, K. a SUGA, H. Phase behavior of CTAB: *o*-iodophenol binary system. *Thermochimica Acta*. 1999, **334**(1–2), 89–96. ISSN 0040-6031.
- (48) BEZRODNA, T. et al. IR-study of thermotropic phase transitions in cetyltrimethylammonium bromide powder and film. *Journal of Molecular Structure*. 2010, **973**(1–3), 47–55. ISSN 0022-2860.
- (49) RAO, V. a J. JOHNS. Thermal behavior of chitosan/natural rubber latex blends TG and DSC analysis. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2008, **92**(3), 801–806.
- (50) DONG, Y., RUAN, Y., WANG, H., ZHAO, Y. a BI, D. Studies on Glass Transition Temperature of Chitosan with Four Techniques. *Journal of Applied Polymer Science*. 2004, **93**(4), 1553–1558.

- (51) NETO, C. G. T. et al. Thermal Analysis of Chitosan Based Networks. *Carbohydrate Polymers*. 2005, **62**(2), 97–103. ISSN 0144-8617.
- (52) SZYMAŃSKA, E. a WINNICKA, K.. Stability of Chitosan—A Challenge for Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Marine Drugs*. 2015, **13**(4), 1819–1846. ISSN 1660–3397.
- (53) HUANG, P., KAZLAUCIUNAS, A., MENZEL, R. a LIN, L.. Determining the Mechanism and Efficiency of Industrial Dye Adsorption through Facile Structural Control of Organo-montmorillonite Adsorbents. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2017, **9**(31), 26383–26391.
- (54) KI, H-M. a CHOI, H-K. The Effect of Meloxicam/Ethanolamine Salt Formation on Per- cutaneous Absorption of Meloxicam. *Archives of Pharmacal Research*. 2007, **30**(2), 215–221. ISSN 1976-3786.
- (55) NASSAB, P. R., RAJKÓ, R. a SZABÓ-RÉVÉSZ, P. Physicochemical characterization of meloxicam–mannitol binary systems. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2006, **41**(4), 1191–1197. ISSN 0731-7085.
- (56) MOHAMMADI-SAMANI, S., YOUSEFI, G., MOHAMMADI, F. a AHMADI, F. Meloxicam transdermal delivery: effect of eutectic point on the rate and extent of skin permeation. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2014, **17**(2), 112–118.
- (57) KINI, A. G., DIXIT, M. a KULKARNI, P. Enhancement of solubility and dissolution rate of poorly water soluble drug by spray drying using different grade of chitosan. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2011, **3**(2), 231–235. ISSN 0975-1491.
- (58) LI, L., LIU, E. a LIM, CH. H. Micro-DSC and Rheological Studies of Interactions between Methylcellulose and Surfactants. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2007, **111**(23), 6410–6416.
- (59) POMÁZI, A., AMBRUS, R., SIPOS, P. a SZABÓ-RÉVÉSZ, P. Analysis of co-spray-dried meloxicam–mannitol systems containing crystalline microcomposites. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011, **56**(2), 183–190. ISSN 0731-7085.

- (60) EL-BADRY, M. Physicochemical Characterization and Dissolution Properties of Meloxicam-Gelucire 50/13 Binary Systems. *Scientia Pharmaceutica*. 2011, **79**(2), 375–386. ISSN 2218-0532.