proLékaře.cz | 11.7.2025

Čes. slov. Farm. 2023; 72, 214–222

PŮVODNÍ PRÁCE

Příprava a hodnocení sprejově sušených inhalovatelných mikročástic ze směsí nosičů

Preparation and evaluation of spray-dried inhalable microparticles from carrier mixtures

Andrea Peštálová • Karolína Molatová • Jan Gajdziok

Došlo 4. dubna 2023 / Přijato 29. června 2023

Souhrn

Formulace mikročástic složených ze směsi nosičů představuje inovativní přístup pro podání léčiv do plic ve formě suchého prášku. Použité nosiče mohou významně ovlivnit výsledné vlastnosti mikročástic, jako je velikost, tvar, povrch, hygroskopicita či agregace, a tím zlepšit aerosolizaci léčiv po jejich inhalaci. Zmíněné vlastnosti jsou klíčové pro efektivní pulmonální terapii. Kombinací nosičů povahy sacharidů a gelujících látek je výhodné pro řízené uvolňování léčiva. Cílem experimentální práce bylo sprejovým sušením připravit a následně zhodnotit několik šarží mikročástic složených z nosičů na bázi cukrů (manitol, maltodextrin, dextran) a gelujících sacharidů (chitosan, chondroitin-sulfát) a vybrat vhodnou kombinaci pro navazující experimentální práce zaměřené na inkorporaci léčiva do mikročásticové matrice. Nejvhodnější parametry vykazovaly šarže, jejichž aerodynamický průměr se blížil 5 µm, a to částice připravené z kombinace manitolu a dextranu, chitosanu a chondroitinu nebo maltodextrinu a chondoitinu. U těchto šarží byla také naměřena nejvyšší hodnota frakce jemných částic (> 43 %). Z pohledu zpracovatelnosti je vhodná šarže se zastoupením maltodextrinu a chondroitinu vzhledem k nižší viskozitě vstupní disperze a pravidelnějšímu tvaru finálních mikročástic.

Klíčová slova: inhalační podání • mikročástice • nosiče • směsi • sprejové sušení

Summary

The formulation of microparticles composed of a mixture of carriers represents an innovative approach for lung drug delivery of dry powder. The carriers used can significantly influence the properties of the microparticles, such as size, shape, surface area, hygroscopicity, or aggregation, thus improving the aerosolization of the drugs after inhalation. The properties mentioned above are crucial for effective pulmonary therapy. The combination of carriers of a carbohydrate nature and gelling agents is advantageous for controlled drug release. The experimental work aimed to prepare by spray drying and subsequently evaluate ten batches of microparticles composed of sugar-based carriers (mannitol, maltodextrin, dextran) and gelling polymers (chitosan, chondroitin sulfate) and to select a suitable combination for follow-up experimental work aimed at drug incorporation into the microparticle matrix. The most suitable parameters were exhibited by batches whose aerodynamic diameter was close to 5 µm, particles prepared from a combination of mannitol and dextran, chitosan and chondroitin, or maltodextrin and chondroitin. These batches also showed the highest fine particle fraction value (> 43%). From a processability point of view, the batch with maltodextrin and chondroitin is preferable due to the lower viscosity of the dispersion and the more regular shape of the final microparticles.

Key words: inhalation administration • microparticles • carriers • mixtures • spray drying

Úvod

Inhalačnímu podání se v posledních letech dává přednost v léčbě plicních onemocnění při lokální terapii např. asthma bronchiale či chronické obstrukční plicní nemoci nebo v léčbě plicních projevů cystické fibrózy. Této cesty se však využívá i v léčbě systémových onemocnění (podání insulinu[1)], oxytocinu[2)]) z důvodu velké absorpční plochy plic, nízkým bariérovým vlastnostem, bohatému prokrvení a omezené enzymatické aktivitě, umožňujícím rychlý nástup účinku léčiva

PharmDr. Andrea Peštálová (✉) • K. Molatová • J. Gajdziok
Masarykova univerzita, Farmaceutická fakulta
Ústav farmaceutické technologie
Palackého třída 1946/1, 612 00 Brno
e-mail: 514924@muni.cz

proLékaře.cz | 11.7.2025

a jeho vysokou biodostupnost. Pro optimální účinek přípravku je však nutné, aby měly inhalované částice vhodné parametry[3]. Jedná se především o aerodynamický průměr (1–5 µm), tvar či tokové a aerosolizační vlastnosti[4–6]. Mezi inovativní přístupy v inhalační léčbě pomocí mikročástic patří využití tzv. velkých porézních částic (LPP – large porous particles). Oproti konvenčním, neporézním částicím se vyznačují velmi nízkou hustotou < 0,4 cm^3 a větším geometrickým průměrem > 10 µm při zachování aerodynamického průměru < 5 µm. Jejich aplikace je výhodná z hlediska lepšího rozptýlení částic v plicích, a tedy efektivnější léčby onemocnění, která jsou lokalizovaná hluboko v plicích za současného omezení nežádoucích účinků na okolní tkáně. Pro svoji velikost mají LPP tendenci vyhnout se ochranným mechanismům v plicích, zejména činnosti alveolárních makrofágů. To je výhodné zejména při systémovém podání pomalu se vstřebávajících léčiv s řízeným uvolňováním z důvodu delšího setrvání částic v dýchacím traktu[7, 8].

Za účelem formulace moderních plicních aplikačních systémů se využívá mikročástic tvořených vhodným nosičem a účinnou látkou, kterou lze buď sorbovat na povrch částice, nebo enkapsulovat do její matrice[6, 9, 10]. Ideální nosič a částice z něj formulované by měly mít vhodné mechanické a fyzikálně-chemické vlastnosti, měly by být stabilní a po expozici by v těle neměly vyvolat lokální ani systémové nežádoucí účinky. Nejčastěji se využívají látky přírodního (laktóza, dextran, manitol), polosyntetického (chitosan) nebo syntetického původu (kopolymer kyseliny mléčné a glykolové = PLGA, polyvinylalkohol)[11]. Mimo jiné bývají nosiče v inhalačních systémech využívány ke zvýšení účinnosti aerosolizace léčiv. Aerosolizací se rozumí rozptýlení částic léčiva v proudu vzduchu během nádechu tak, aby bylo dosaženo maximálního terapeutického účinku v dolních cestách dýchacích. Aerosolizační účinnost se hodnotí především pomocí frakce jemných částic (FPF), vyjádřené jako množství částic < 5 µm, které jsou schopny pronikat hluboko do plic. Lepších aerosolizačních vlastností je možné dosáhnout směsí nosičů, které mohou příznivě ovlivňovat výsledné vlastnosti částic, jako je velikost, tvar, hygroskopicita, povrch nebo agregace[12–15].

U některých typů nosičů (např. u laktózy) dochází ke kondenzaci vody na povrchu částic vedoucí k vyššímu působení kohezivních a adhezivních sil. Tyto hygroskopické látky představují riziko z hlediska fyzikální a chemické nestability z důvodu tvorby pevných můstků (a tedy aglomerátů), což může negativně ovlivnit tvorbu aerosolu a depozici v plicích. Právě směsi nosičů mohou vyřešit problém těchto látek, a zvýšit tak účinnost aerosolizace léčiv[15]. Za účelem zvýšení aerosolizace práškové směsi obsahující laktózu připravili Zhao et al.[15] metodou sprejového sušení mikročástice ze směsi laktózy s cyklodextrinem. V rámci experimentu zkoumali pohlcení vzdušné vlhkosti, které dosahovalo u směsí nosičů 2,8 %. Oproti samotné laktóze byl však zaznamenán významný rozdíl (50,1 %) značící podstatné snížení jejich hygroskopických vlastností. Směs s cyklodextrinem navíc vykazovala velmi vysokou hodnotu FPF (59,16 ± 1,41 %), což bylo téměř čtyřikrát více než u samotné laktózy. Prokázalo se tedy, že formulace směsných nosičů umožňuje zpracování hygroskopických látek a navíc vede k účinnější aerosolizaci finálního inhalovaného prášku.

Formulace směsí nosičů může být přínosná také z hlediska tvorby nepravidelného zvrásněného povrchu částic. Tato výhodná nepravidelnost povrchu umožňuje částicím léčiva adherovat k povrchu nosiče. Účinná látka je pak schopna oddělit se během inhalace od nosiče a dostat se hlouběji do plic s tím, že nosič se kvůli jeho velikosti usadí v horních cestách dýchacích. Zabrání se tak případné toxicitě nosiče vstupem do dolních cest dýchacích. Vytvořením zvrásněného povrchu směsných nosičů dojde k lepšímu prostupu vzduchu, vedoucímu ke snížení adhezivních sil mezi účinnou látkou a nosičem. Tyto látky jsou pak snadněji rozptylovány v proudu vzduchu a léčivo se během inhalace dostane lépe na místo účinku[14]. Ke stejnému závěru dospěli i Zhao et al.[13], jejichž cílem bylo připravit formulace obsahující budesonid a směsi nosičů manitolu a chitosanu v různých poměrech. Následně sledovali vliv složení na povrch připravených částic a účinnost aerosolizace. Zjistili, že částice samotného manitolu byly hladké a se vzrůstajícím zastoupením chitosanu docházelo k tvorbě nerovností na povrchu částic. Nejvíce zvrásněného povrchu bylo dosaženo formulací manitolu a chitosanu v poměru 70 : 30. Výsledky navíc ukázaly, že FPF této směsi byla výrazně vyšší (43,56 %) než u samotného manitolu (21,67 %). Lepší aerosolizace bylo navíc docíleno díky přítomnosti pórů zvrásněných částic a následnému snížení adhezivních sil mezi budesonidem a nosiči.

Z hlediska ovlivnění morfologie částic, uvolňování a stability léčiva, nebo maskování chuti je výhodná kombinace látek gelující povahy (např. chitosan, chondroitin-sulfát nebo pektin) a látek na bázi sacharidů (např. manitol, laktóza, maltodextrin). Gelující látky umožňují enkapsulaci léčiv, formují fyzikální bariéru chránící látky před vnějším prostředím (zejména vzdušnou vlhkostí) a brání jejich enzymatické a chemické degradaci. Vzhledem k enkapsulaci léčiva do gelující struktury dochází také k jeho následnému prodlouženému uvolňování. Sacharidy zajišťují vhodnou dispergovatelnost a tokové vlastnosti prášku. Snižují navíc viskozitu vstupního kapalného média, a usnadňují tak atomizaci např. během procesu sprejového sušení[17–20]. Kombinací gelujícího (jablečný pektin) a sacharidového (maltodextrin) nosiče k enkapsulaci rostlinných extraktů obsahující polyfenoly se zabýval Sansone et al.[20]. Pozorovali, že se aerodynamický průměr směsných částic pohyboval v rozmezí 3,2–5,5 µm, zatímco u částic pouze s maltodextrinem byl výrazně vyšší, a to 22,9–59,9 µm. Navíc byly u směsi nosičů na základě SEM snímků patrné sférické nedeformované částice bez přítomnosti aglomerátů. Ani v náročných podmínkách skladování se bioaktivní

proLékaře.cz | 11.7.2025

polyfenoly, obsah vlhkosti v částicích a ani antioxidační aktivita výrazně nezměnily. Částice byly také schopny maskovat nepříjemný zápach extraktů. Výsledné formulace proto vykazovaly vhodné technologické vlastnosti pro výrobu funkčních potravin a doplňků stravy.

Prezentovaná práce se zabývá formulací mikročástic složených ze směsí nosičů s potenciálem modifikace uvolňování léčiva z této lékové formy. Cílem experimentu je najít poměr jednotlivých složek formulace tak, aby výsledné sprejově sušené mikročástice vykazovaly parametry vhodné pro podání do požadované oblasti hluboko do plic, u nichž je inhalační léčba klíčová. Tímto přístupem dochází k minimalizaci vlivu léčiva na okolní zdravé tkáně a snižuje se riziko výskytu nežádoucích účinků, četnost dávkování, čímž je zajištěna vysoce efektivní léčba.

Pokusná část

Materiály

Pro přípravu inhalovatelných směsných mikročástic se jako sacharidové nosiče vybraly: D-manitol (Penta s. r. o., Česká republika), dále maltodextrin (DE 9) (Roquette Frères, Francie) a dextran (Carl Roth, Německo). Z nosičů vytvářejících gelující strukturu se pro přípravu použil chondroitin-sulfát (Natural Nutrition, Německo) a chitosan (Sigma-Aldrich, Německo). Pro přípravu kapalných disperzí obsahující chitosan se jako rozpouštědlo použila zředěná 1% kyselina octová (Penta s. r. o., Česká republika). Ke stanovení velikostní distribuce testovaných vzorků laserovou difrakcí se použil isopropylalkohol (Penta s.r.o., Česká republika). Čištěná voda lékopisné kvality byla připravena pomocí přístroje pro úpravu vody pomocí reverzní osmózy (Rodem 4, Aqua Osmotic, Česká republika).

Příprava mikročástic

Pro přípravu suchých práškových mikročástic se zvolila metoda sprejového sušení pomocí sprejové sušárny (LabPlant SD-06, Velká Británie). Připravily se formulace směsných nosičů ze skupiny sacharidů (manitol (MAN), maltodextrin (MAL), dextran (DEX)) a gelujících látek (chondroitin-sulfát (CHON), chitosan (CHIT)) tak, aby každá látka tvořila směs s ostatními, jak je uvedeno v tabulce 1. U formulací obsahující směsi nosičů bez gelující látky byla zvolena koncentrace vstupní disperze 10 %. V případě směsí obsahující gelující látky byla koncentrace 6 % a směs složená ze dvou gelujících látek obsahovala pouze 2 % pevného podílu. Směsi obsahující jeden či dva gelující nosiče se nechaly přes noc nabobtnat. Z důvodu vytvoření viskózní disperze se u nich volila nižší koncentrace. Pro většinu formulací se jako rozpouštědlo použila destilovaná voda. U směsí obsahující chitosan se kvůli jeho omezené rozpustnosti ve vodě zvolila 1% kyselina octová. Sprejové sušení probíhalo za procesních podmínek uvedených v tabulce 2. U všech formulací byla použita dvoukapalinová tryska o průměru 1 mm opatřená deblockerem (nastaveným na střední rychlost), který bránil případnému ucpání trysky pravidelným prorážením. Vysušené částice byly cyklonou sbírány do sběrné nádoby a uloženy do exsikátoru za účelem ochrany před vzdušnou vlhkostí.

Hodnocení připravených mikročástic

Tokové vlastnosti a hustota

Tokové vlastnosti byly u vysušených mikročástic hodnoceny prostřednictvím sypných a setřesených hustot, ze kterých se následně vypočítal Hausnerův poměr (HP) a index stlačitelnosti (IS). Charakter toku prášku byl na základě HP a IS zhodnocen dle Českého lékopi-

Tab. 1. Složení formulací

Šarže	MAN	MAL	DEX	CHIT	CHON	Čištěná voda	1% kyselina octová	Koncentrace pevného podílu (%)	Hmotnost disperze (g)
MAN_MAL	25	25	–	–	–	450	–	10	500
MAN_CHON	25	–	–	–	5	470	–	6	500
MAN_DEX	50	–	50	–	–	900	–	10	1000
MAN_CHIT	25	–	–	5	–	–	470	6	500
MAL_DEX	–	25	25	–	–	450	–	10	500
MAL_CHON	–	25	–	–	5	470	–	6	500
MAL_CHIT	–	25	–	5	–	–	470	6	500
DEX_CHON	–	–	25	–	5	470	–	6	500
DEX_CHIT	–	–	25	5	–	–	470	6	500
CHIT_CHON	–	–	–	10	10	–	980	2	1000

Tab. 2. Parametry sprejového sušení

Vstupní teplota (°C)	Výstupní teplota (°C)	Rychlost pumpy (ml/h)	Průtok vzduchu (m/s)	Atomizační tlak (bar)
150	83–89	900	4,3	3

proLékaře.cz | 11.7.2025

su[23]. Dále se stanovila pravá hustota testovaného vzorku použitím heliového pyknometru. Sypná a setřesná hustota byly stanoveny na základě sypného a setřesného objemu získaných sklepáváním odměrného válce, který byl upevněn ke sklepávacímu přístroji (SVM 102, Erweka GmbH, Německo). Po nasypání vzorků do odměrného válce byl přístroj nastaven na 10, 500 a 1250 sklepnutí. Pravá (pyknometrická) hustota byla změřena pomocí heliového pyknometru (Pycnomatic ATC, Porotec, GmbH, Německo). Všechna měření byla provedena třikrát.

Stanovení pórovitosti částic

Pórovitost je definována jako poměr mezi celkovým objemem pórů ve struktuře materiálu a zdánlivým celkovým objemem práškové směsi. Uvnitř materiálu představuje pórovitost volný prostor vyplněný vzduchem a vypočítá se podle vzorce [1] na základě hodnoty setřesné a pyknometrické hustoty[24].

$$\textit{pórovitost} = (1 - \rho_{setřesná}/\rho_{pyknometrická}) \times 100\ (\%) \qquad [1]$$

Morfologie částic

Pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) (Mira 3, Tescan, Česká republika) se hodnotila morfologie připravených částic se zaměřením zejména na jejich tvar, povrchovou strukturu, velikost a pórovitost. Na předem připravené stuby (držáky vzorků) se nalepila vodivá, uhlíková páska, na kterou se následně štětcem nanesla tenká vrstva měřeného vzorku. V naprašovačce (Quorum technologies, typ Q150R ES, Velká Británie) byly poté vzorky potaženy 10 nm vrstvou zlata, za účelem získání vodivého povrchu. Pracovalo se při režimu vysokého vakua s urychlovacím napětím 5 kV. Byl detekován signál sekundárních elektronů a u každého vzorku se pořídily snímky při zvětšení 5000krát.

Velikost částic měřená laserovou difrakcí

Laserovou difrakcí (Partica LA-690, Horiba, Japonsko) byla analyzována velikost a velikostní distribuce měřených částic. Jedná se o jednoduchou, spolehlivou a rychlou metodu, při které je potřeba jen malé množství vzorku. Princip laserové difrakce je založený na působení laserového paprsku na částice, které kontinuálně procházejí měřící celou pod určitým úhlem. Světlo laserového paprsku se v případě větších částic rozptyluje intenzivněji a pod menším úhlem, zatímco u menších částic je tomu naopak. Z hodnot úhlu a intenzity rozptýleného světla se podle Mieho teorie přepočítají signály na informace o velikosti částic. Kromě geometrické velikosti částic jsou částice charakterizovány i percentilními D hodnotami (D_{10} a D_{90}), což jsou statistické parametry, udávající velikosti, do které spadá 10 % popřípadě 90 % všech měřených částic[25, 26]. K přípravě kapalných disperzí byl použitý izopropylalkohol jako dispergující činidlo a každý ze vzorků byl před samotným měřením sonikován po dobu 5 minut za účelem rozrušení aglomerátů. Pro každý vzorek se provedla tři měření.

Aerodynamická velikost částic

Ke stanovení aerodynamické velikostní distribuce mikročástic a hmotnostního mediánu aerodynamického průměru (MMAD) se použil aerodynamický spektrometr částic (APS = The Aerodynamic Particle Sizer 3321, TSI, Inc., St. Paul, USA), včetně dispergátoru částic (Small-scale powder disperser 3433, TSI, Inc., St. Paul, USA) a dilutoru (Aerosol Diluter 3302A, TSI, USA), který ředil vzorek v poměru 20 : 1. Aerodynamický průměr, který je charakterizován jako velikost částic vzhledem k jejich chování v proudu vzduchu, se metodou APS určuje na základě tzv. „time-of-flight“ techniky. Měří se při ní zrychlení jednotlivých částic (v reakci na zrychlení skrz zúženou trysku) vztažené na jejich hmotnost a plochu povrchu. Velké částice mají obecně vyšší setrvačnost a jejich zrychlení je pomalejší oproti menším částicím s menší setrvačností. Při měření poté dochází k zaznamenání doby průletu jednotlivých částic mezi dvěma laserovými paprsky, a velikostní distribuce částic je tak zaznamenána v reálném čase. Na základě doby průletu je pomocí kalibrační křivky v programu Aerosol Instrument Manager Software přepočtem získán MMAD a dopočítána hodnota FPF[27, 28].

Tab. 3. Výsledky sypné, setřesné a pyknometrické hustoty, pórovitosti a zhodnocení charakteru toku na základě HP a IS

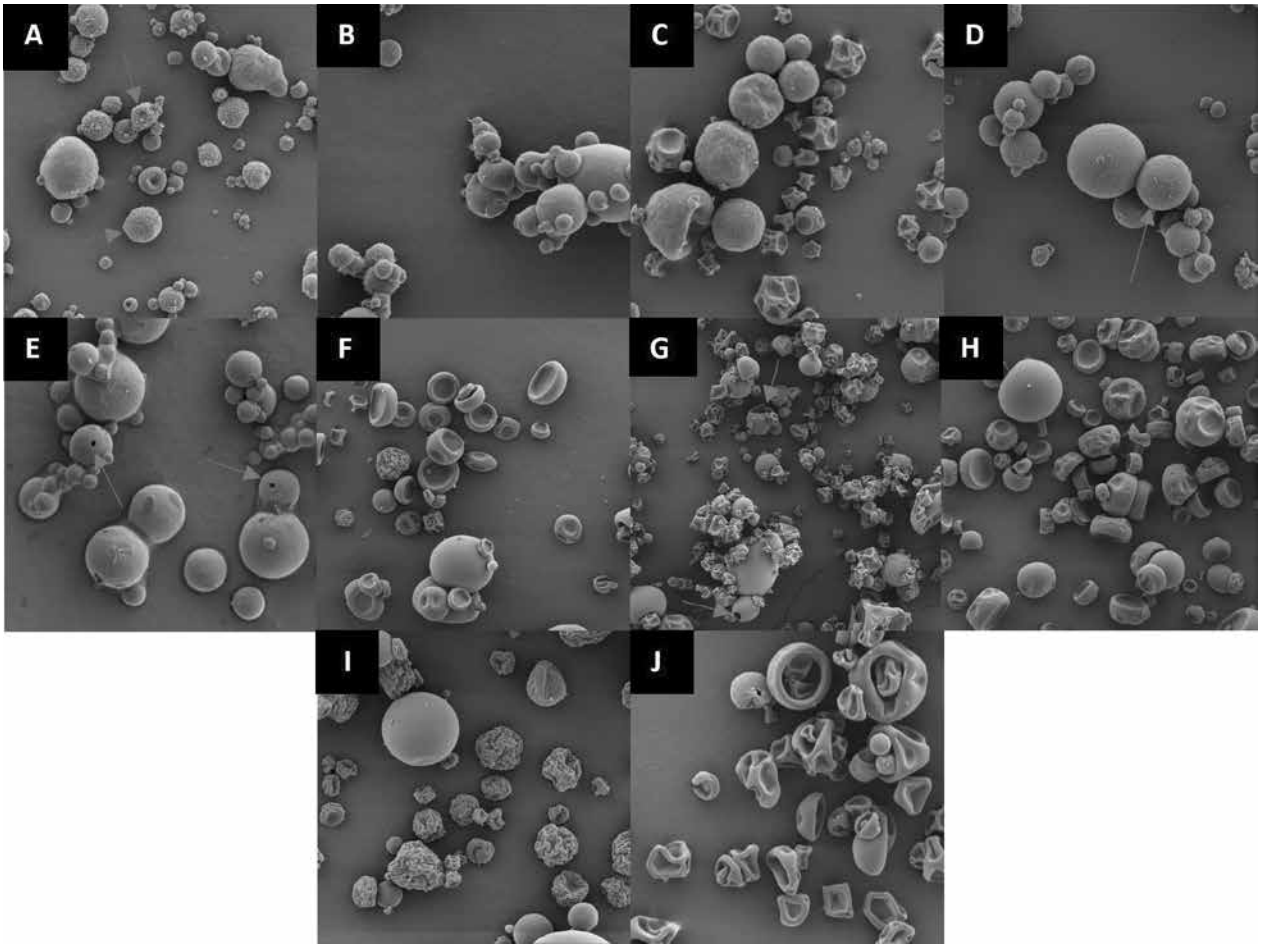
Šarže	Sypná hustota ρ_0 (g/cm³)	Setřesná hustota ρ_{1250} (g/cm³)	Pyknometrická hustota (g/cm³)	Pórovitost částic (%)	Hausnerův poměr	Index stlačitelnosti (%)	Charakter toku
MAN_MAL	0,40 ± 0,00	0,53 ± 0,00	1,75 ± 0,01	69,60	1,33	25,00	průměrný
MAN_CHON	0,22 ± 0,00	0,30 ± 0,00	1,59 ± 0,01	80,91	1,39	28,21	špatný
MAN_DEX	0,62 ± 0,00	0,79 ± 0,02	1,41 ± 0,00	43,62	1,29	22,50	průměrný
MAN_CHIT	0,24 ± 0,00	0,34 ± 0,02	1,24 ± 0,00	73,18	1,36	26,67	špatný
MAL_DEX	0,33 ± 0,00	0,38 ± 0,00	1,43 ± 0,00	73,24	1,16	14,00	dobrý
MAL_CHON	0,31 ± 0,00	0,35 ± 0,01	1,37 ± 0,00	74,47	1,14	12,50	dobrý
MAL_CHIT	0,17 ± 0,00	0,23 ± 0,01	1,36 ± 0,00	82,76	1,38	27,50	špatný
DEX_CHON	0,35 ± 0,00	0,38 ± 0,00	1,32 ± 0,01	70,88	1,11	10,00	výborný
DEX_CHIT	0,25 ± 0,00	0,31 ± 0,00	1,31 ± 0,01	76,17	1,25	20,00	přiměřený
CHIT_CHON	0,24 ± 0,00	0,29 ± 0,02	2,21 ± 0,02	86,42	1,25	20,00	přiměřený

proLékaře.cz | 11.7.2025

Výsledky a diskuse

Tokové vlastnosti prášku a hustota částic

Hodnoty pyknometrické hustoty u jednotlivých šarží byly naměřeny pomocí heliového pyknometru a jsou uvedeny v tabulce 3. Z tabulky je možné určit, že nejnižší pyknometrická hustota byla zjištěna u MAN_CHIT, a to 1,24 ± 0,00 g/cm^3. Vyšší hodnoty byly naměřeny u směsí částic, které dle snímků SEM vykazovaly lehce zvrásněný povrch (výjimkou je svraštělý povrch CHIT_CHON s hustotou 2,21 ± 0,02 g/cm^3). Vyšší hustota je také patrná u šarží, které obsahovaly vyšší zastoupení pevného podílu v disperzi (10 %), což jsou zejména směsi bez obsahu gelující látky. Nižší hodnoty pyknometrické hustoty u směsných nosičů s přítomnou gelující látkou mohou být způsobené tím, že vzniklé mikročástice obsahovaly více dutých než plných částic (viz MAL_CHIT) (obr. 1G). Pro práškové částice určené pro plicní podání je vhodná nízká sypná hustota z důvodu lepší dispergovatelnosti prášku, a s tím spojené vyšší účinnosti po inhalaci. Jak lze pozorovat v tabulce 3, hodnoty sypné a pyknometrické hustoty spolu nekorespondují. Značně rozdílné hodnoty jsou důsledkem odlišného principu měření. Při měření pyknometrické hustoty dochází k vyplnění přístupných, otevřených pórů, ale i prostoru mezi částicemi molekulami helia. Při stejné hmotnosti prášku je tedy získaný objem nižší ve srovnání se sypným objemem, což vede k rozdílným hodnotám výsledné hustoty[23]. Z hodnot sypné a setřesné hustoty se vypočítal Hausnerův poměr a index stlačitelnosti. Oba parametry charakterizují chování prášku ve smyslu tokových vlastností. U nejlépe tekoucího prášku je rozdíl mezi sypnou a setřesnou hustotou zanedbatelný, respektive hodnota HP je v rozmezí 1,00 až 1,11 a IS se pohybuje od 1 do 10 %[21], což splňuje pouze šarže DEX_CHON (tab. 3.). Jako „dobrý" byl charakter toku dále stanoven u šarží MAL_DEX a MAL_CHON. Ve srovnání s ostatními šaržemi byly směsi obsahující dextran z hlediska charakteru toku nejvhodnější. Čím je rozdíl mezi hustotami větší, tím horší má prášek tokové vlastnosti, což je patrné u šarží MAN_CHON, MAN_CHIT nebo MAL_CHIT, jejichž charakter toku byl charakterizován jako „špatný" (tab. 3). Výsledky nejsou v úplném souladu s experimentální studií Aquina et al.[17] zabývající se přípravou a hodnocením mikročástic složených z manitolu a chitosanu v poměru 10 : 1. U směsi byly hodnoceny tokové vlastnosti, kdy bylo možné z výsledných hodnot Hausnerova poměru (1,12) a indexu stlačitelnosti (10,67 %) určit dobrý charakter toku práškové směsi, pravděpodobně v důsledku znatelně vyššího zastoupení manitolu ve směsi s chitosanem oproti formulacím v této studii.



Obr. 1. Snímky SEM vzorků: MAN_MAL (A), MAN_CHON (B), MAN_DEX (C), MAN_CHIT (D), MAL_DEX (E), MAL_CHON (F), DEX_CHON (H), DEX_CHIT (I), CHIT_CHON (J) při zvětšení 5000× a MAL_CHIT (G) při zvětšení 2000×

proLékaře.cz | 11.7.2025

Pórovitost částic

Vytvoření porézní struktury částic je příznačné pro samotnou metodu přípravy sprejovým sušením, kdy dochází k tvorbě pórů v důsledku odpaření rozpouštědla během sušení. Výsledky naznačují (tab. 3), že pórovitost mikročástic dosahovala až 86,42 % (CHIT_CHON). Pórovitost byla také ovlivněna složením dané formulace, kdy nejvíce porézní částice byly pozorovány u šarží obsahující gelující nosič. Ve studii Torrese et al.[29], která se zabývala formulací chitosanových mikročástic pomocí sprejového sušení, byla stanovena vysoká pórovitost (89,30 %). Je tedy možné konstatovat, že zvolením vhodné gelující látky (např. chitosanu) lze ovlivnit pórovitost směsných částic.

Skenovací elektronová mikroskopie

Snímky ze SEM poskytují charakteristiku týkající se morfologie částic, zejména tvaru, povrchu, velikosti, pórovitosti a přítomnosti případných aglomerátů. Pro všechny šarže jsou jednotlivé snímky SEM zobrazeny na obrázku 1A–J při zvětšení 5000×. Šarže MAN_MAL (obr. 1A) obsahuje především sférické částice s mírnými povrchovými nerovnostmi, které jsou zapříčiněné přítomností drobných krystalů (znázorněno červenými šipkami). K odlišnému výsledku dospěli Xua et al.[30], kteří ve své studii pozorovali tvar a povrch částic složených z manitolu a maltodextrinu v poměru 1 : 13. U takto formulovaných šarží byly pozorovány oddělené mikročástice nepravidelného tvaru s výraznými prohlubněmi a povrchovými nerovnostmi. Z hlediska tvaru částic vhodných k inhalačnímu podání je tedy vhodnější poměr manitolu a maltodextrinu 1 : 1 formulované šarže MAN_MAL. Naopak u šarže MAN_CHON (obr. 1B) jsou zřetelné aglomeráty sférických částic s výraznými nerovnostmi na povrchu. Vzniklé částice jsou také značně popraskané. Na snímku šarže MAN_DEX (obr. 1C) jsou viditelné dva typy částic – velké, sférické a malé svraštělé. Důvodem může být nerovnoměrné sušení vstupní disperze. Částice šarže MAN_CHIT (obr. 1D) jsou sférické s patrnými drobnými krystaly na jejich povrchu (znázorněno červenými šipkami). Na snímku jsou viditelné jak oddělené částice, tak shluky, nicméně jsou zde přítomné i rozbité struktury částic. U všech šarží obsahující MAN jsou na snímcích viditelné velké, sférické částice. Tvorbu sférických částic u směsných nosičů manitolu s chitosanem v různém poměru zaznamenali i Huang et al.[14]. U všech poměrů nosičů byly částice sférické, nicméně jejich povrch se značně lišil. V případě poměru manitolu ku chitosanu (1 : 9 a 9 : 1) byly částice mírně zvrásněné a u šarží vzniklých ze srovnatelných poměrů složek (1 : 1 nebo 7 : 5) byly pozorovány částice s velmi drsným povrchem. Částice šarže MAL_DEX (obr. 1E) jsou převážně sférického tvaru, místy duté (znázorněno červenými šipkami) a tvoří aglomeráty. U šarže MAL_CHON (obr. 1F) jsou opět patrné dva typy částic – velké, převážně hladké a menší částice bikonkávního tvaru. U směsi MAL_CHIT (obr. 1G) jsou částice ve formě aglomerátů, které jsou tvořeny nepravidelnými, svraštělými částicemi s četnými prohlubněmi. Ze SEM snímku lze pozorovat i přítomnost sférických dutých částic (znázorněno červenými šipkami) a rozbitých částic. Šarže DEX_CHON (obr. 1H) obsahuje sférické s hladkým povrchem a zvrásněné bikonkávní částice. Jednotlivé částice nevytvářejí shluky, ale ojediněle na sebe přiléhají. Většina částic je však od ostatních separovaná. U šarže DEX_CHIT (obr. 1I) jsou viditelné různé typy částic. Vyskytují se zde sférické částice hladkého povrchu, s hrubým povrchem a také nepravidelné zvrásněné částice. Ojediněle lze pozorovat i zdeformovanou strukturu částic. Obrázek 1I ukazuje velké množství malých částic, ale i přítomnost částic větších velikostí, které ovlivňují celkovou velikostní distribuci. Opět si lze povšimnout, že na všech snímcích šarží obsahující DEX jsou viditelné hladké, sférické částice, zatímco částice CHIT_CHON (obr. 1J) jsou všechny svraštělé s četnými prohlubněmi. Právě přítomnost zborcených částic a částic s výraznými prohlubněmi může vést k horším tokovým vlastnostem prášku a ke zhoršení účinnosti enkapsulace léčiva[31].

Tab. 4. Velikost částic měřená pomocí laserové difrakce

Šarže	Průměrná velikost ± SD* (µm)	Medián ± SD* (µm)	Modus ± SD* (µm)	D10 ± SD* (µm)	D90 ± SD* (µm)	SD** ± SD* (µm)
MAN_MAL	20,43 ± 7,59	11,50 ± 0,57	13,59 ± 0,84	2,85 ± 0,12	45,87 ± 22,51	29,51 ± 19,18
MAN_CHON	24,14 ± 3,48	18,72 ± 0,04	20,32 ± 1,11	8,60 ± 0,11	32,65 ± 0,85	31,46 ± 14,47
MAN_DEX	34,63 ± 12,03	9,37 ± 0,51	9,42 ± 0,02	3,73 ± 0,11	114,30 ± 63,86	69,26 ± 25,54
MAN_CHIT	26,21 ± 3,08	16,91 ± 0,09	18,67 ± 0,02	4,18 ± 0,11	35,09 ± 1,31	43,53 ± 9,41
MAL_DEX	12,45 ± 5,24	8,42 ± 0,93	8,27 ± 0,90	4,12 ± 0,01	15,51 ± 2,98	30,29 ± 23,12
MAL_CHON	17,13 ± 12,02	7,06 ± 0,86	6,89 ± 0,48	4,35 ± 0,31	12,49 ± 3,09	38,23 ± 35,99
MAL_CHIT	23,31 ± 8,44	12,45 ± 0,29	12,44 ± 0,01	5,92 ± 0,07	25,90 ± 4,13	42,47 ± 27,58
DEX_CHON	18,66 ± 7,70	7,83 ± 0,31	7,55 ± 0,46	4,41 ± 0,07	18,25 ± 5,30	37,61 ± 24,38
DEX_CHIT	27,14 ± 0,57	12,39 ± 0,04	12,44 ± 0,00	4,90 ± 0,02	31,54 ± 0,03	52,61 ± 1,61
CHIT_CHON	31,14 ± 5,10	7,97 ± 0,05	7,23 ± 0,00	4,39 ± 0,01	94,46 ± 69,97	69,68 ± 10,88

SD* – směrodatná odchylka tří provedených měření

SD** – směrodatná odchylka stanovená softwarem od střední velikosti částic

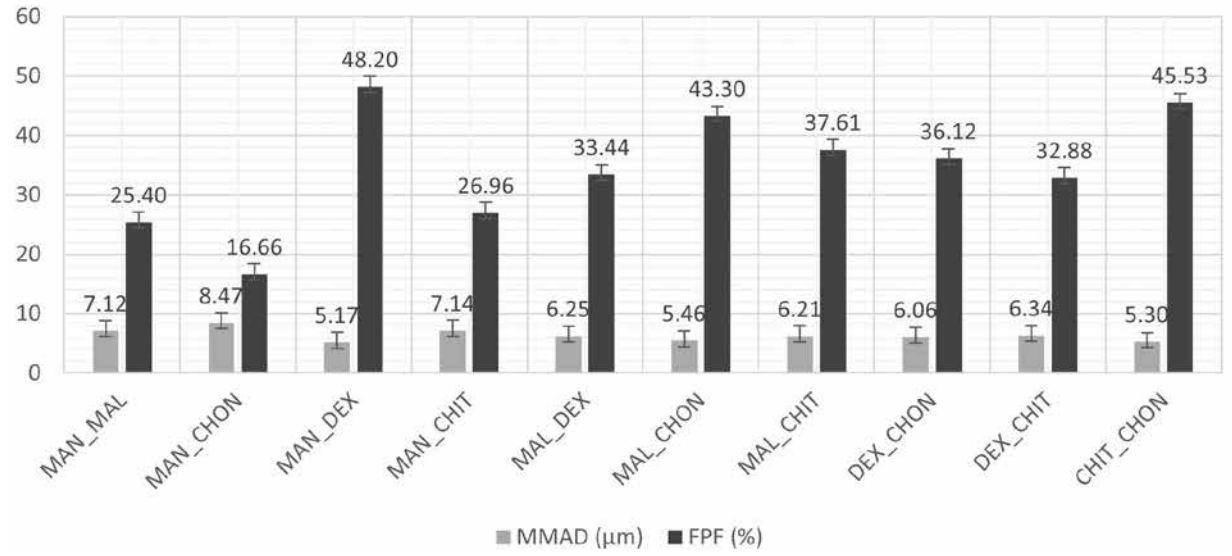
proLékaře.cz | 11.7.2025

Stanovení velikostní distribuce laserovou difrakcí

Výsledky naměřených hodnot střední velikosti částic, mediánu, modu a percentilních D hodnot jsou shrnuty v tabulce 4. U všech šarží byla naměřena výrazně vyšší střední hodnota částic (MMD) oproti MMAD změřeného APS (obr. 2). Tato odchylka může být způsobena tvarem částic, který má na výslednou velikostní distribuci značný vliv. Optická analýza pomocí laserové difrakce je založena na předpokladu, že jsou testované částice sférického tvaru. V opačném případě dochází k odchylkám při rozptylu laserového svazku, což může zkreslit výsledky měření[32]. Navíc byly naměřeny poměrně vysoké směrodatné odchylky, které značí širokou velikostní distribuci, tedy přítomnosti menších i větších částic, popřípadě aglomerátů. Právě tuto skutečnost potvrzují i snímky SEM a hodnoty D_{90}. U směsí obsahujících gelující nosiče lze pozorovat, že velikost částic závisela na použitém nosiči. V případě šarží s obsahem chondroitinu (MAL_CHON, DEX_CHON a CHIT_CHON) byla střední velikost a medián vzniklých částic ve srovnání s ostatními šaržemi menší. Výjimku tvořila šarže MAN_CHON, u které byl naměřen nejvyšší medián ze všech šarží. Naopak u šarží obsahujících chitosan (MAN_CHIT, MAL_CHIT a DEX_CHIT) byla střední velikost i medián částic podstatně vyšší. Na základě výsledků lze navíc konstatovat, že přítomnost manitolu u šarží s obsahem chondroitinu i chitosanu zvyšovala velikost vzniklých mikročástic, jelikož šarže MAN_CHIT a MAN_CHON dosahovaly nejvyšších hodnot mediánu a modu ze všech měřených šarží. Podobný geometrický průměr částic jako u šarže MAN_CHIT byl změřen ve studii Aquina et al.[17], jejichž výsledky laserové difrakce ukazují, že geometrický průměr mikročástic složených z manitolu a chitosanu (10 : 1) dosahoval 14,24 ± 2,66 µm, nicméně na snímcích SEM byly pozorovány sférické částice s průměrem kolem 2 µm. Značný rozdíl ve velikosti lze vysvětlit přítomnými aglomeráty, které ovlivňují velikostní distribuci částic. Zvýšení velikosti vznikajících částic přítomností manitolu ve směsných částicích zaznamenali i Perkušiće et al.[33]. Ve své studii hodnotili vliv koncentrace manitolu (3 %, 4,5 % nebo 6 %) na velikost vznikajících částic. Zjištěný medián částic se pohyboval v rozmezí od 17,1 ± 0,1 µm (při koncentraci manitolu 3 %) do 35,7 ± 1,6 µm (koncentrace manitolu 6 %).

Aerodynamický průměr

Aby částice splňovaly požadavky pro podání do plic, jejich MMAD by se měl pohybovat do 5 µm. Nejblíže tomuto požadavku byla šarže MAN_DEX (5,17 ± 1,75 µm), CHIT_CHON (5,30 ± 1,51 µm) a MAL_CHON (5,46 ± 1,58 µm) (obr. 2). Nízká hodnota MMAD šarže MAN_DEX se pravděpodobně odvíjí od četných prohloubení na povrchu částic, která jsou patrná na snímku ze SEM (obr. 1C). Částice s patrnými prohlubněmi na povrchu byly také pozorovány v experimentální studii Mansera et al.[34]. U částic složených z manitolu a dextranu (1 : 3) naměřili geometrický průměr 8,70 ± 0,50 µm a MMAD 4,5 µm, což jsou hodnoty, které korespondují s výsledky šarže MAN_DEX. Vliv tvaru částic na MMAD je tedy možné potvrdit. U šarží s nejnižšími hodnotami MMAD byly naměřené také nejvyšší hodnoty FPF, a to 48,20 % (MAN_DEX), 45,53 % (CHIT_CHON) a 43,30 % (MAL_CHON) (obr. 2). Je tedy patrný nárůst FPF v závislosti na snižujícím se MMAD částic. Obecně lze tedy říct, že částice o nižším MMAD mají lepší aerosolizační vlastnosti. Na výsledné MMAD má taktéž vliv i tvar částic. Mírně svraštělé částice s nepravidelným tvarem mají obvykle nižší MMAD než částice hladké a sférické, protože jsou aerodynamicky vhodnější. Vyšší hodnoty MMAD lze pozorovat u šarží MAN_CHON (8,47 ± 1,72 µm) a MAN_CHIT (7,14 ± 1,73 µm), u kterých je možné pozorovat právě hladké a sférické částice na základě snímku ze SEM (obr. 1B a 1D). Hodnocení šarže MAN_CHIT je v rozporu s výsledky studie Rohaniho et al.[35], jejichž cílem byla příprava mikročástic složených z manitolu, chitosanu, citrátu a inzulínu (30 : 60 : 4 : 6). Při pozorování částic metodou SEM byly



Obr. 2. Graf znázorňující MMAD a FPF měřených pomocí APS

proLékaře.cz | 11.7.2025

viditelné částice nepravidelného tvaru, které tvořily aglomeráty. Hodnota MMAD dosahovala u této šarže 4,61 ± 0,11 µm a FPF 46,27 %.

Závěr

Předmětem práce byla příprava inhalovatelných mikročástic pomocí sprejového sušení. Jejich formulace je výhodná zejména pro zlepšení aerosolizace léčiv a vytvoření optimálního (zvrásněného) povrchu částic. Za účelem zajištění řízeného uvolňování léčiva je výhodná kombinace sacharidů s látkami gelující povahy (chitosan, chondroitin-sulfát apod.). Připravené částice byly zhodnoceny z hlediska morfologie, tokových vlastností, hustoty a geometrického či aerodynamického průměru. Stěžejním požadavkem pro mikročástice určené k aplikaci do plic je jejich aerodynamický průměr (< 5 µm), kterému se blížily šarže MAN_DEX (5,17 µm), CHIT_CHON (5,30 µm) a MAL_CHON (5,46 µm). U těchto šarží byly také naměřeny nejvyšší hodnoty FPF (> 43,30 %), značící jejich vhodné aerosolizačních vlastnosti a možnost depozice v dolních částech plic. Další optimalizace poměru nosičů či procesních parametrů sprejového sušení bude mít za cíl formulaci matricových mikročástic pro inkorporaci léčiva pro inhalační podání.

Práce vznikla za podpory projektu SVV MUNI/A/1140/2021.

Střet zájmů: žádný.

Literatura

1. **Amidi M., Pellikaan H. C., de Boer A. H., Crommelin D. J., Hennink W. E., Jiskoot W.** Preparation and physicochemical characterization of supercritically dried insulin-loaded microparticles for pulmonary delivery. Eur. J. Pharm. Biopharm. 2008; 68, 191–200.
2. **McArthur A. J., Oliver V. L., Lambert P., French E., Harker J., McIntosh M. P.** A Design of Experiments approach to optimising spray drying yield and production efficiency of a model inhaled powder for global health applications. J. Aerosol. Med. Pulm. D. 2022; 35, A13–A14.
3. **Kašáková E., Kašák V.** Inhalační systémy na českém trhu pro léčbu pacientů s chronickou obstrukcí průdušek. Praktické lékárenství 2015; 11, 16–18.
4. **Labiris N. R., Dolovich M. B.** Pulmonary drug delivery. Part I: physiological factors affecting therapeutic effectiveness of aerosolized medications. Brit. J. Clin. Pharmaco. 2003; 56, 588–599.
5. **El-Sherbiny I. M., El-Baz N. M., Yacoub M. H.** Inhaled nano-and microparticles for drug delivery. Glob. Cardiol. Sci. Pract. 2015; 1, 2.
6. **Jain H., Bairagi A., Srivastava S., Singh S. B., Mehra N. K.** Recent advances in the development of microparticles for pulmonary administration. Drug Discov. Today 2020; 25, 1865–1872.
7. **Gharse S., Fiegel J.** Large porous hollow particles: lightweight champions of pulmonary drug delivery. Curr. Pharm. Design 2016; 22, 2463–2469.
8. **Yang Y., Bajaj N., Xu P., Ohn K., Tsifansky M. D., Yeo Y.** Development of highly porous large PLGA microparticles for pulmonary drug delivery. Biomaterials. 2009; 30, 1947–1953.
9. **Newman S. P.** Drug delivery to the lungs: challenges and opportunities. Ther. Deliv. 2017; 8, 647–661.
10. **Bajerová M., Dvořáčková K., Gajdziok J., Masteiková R., Rabišková M.** Metody přípravy mikročástic ve farmaceutické technologii. Čes. slov. Farm. 2009; 58, 6.
11. **Alhajj N., O'Reilly N. J., Cathcart H.** Designing enhanced spray dried particles for inhalation: A review of the impact of excipients and processing parameters on particle properties. Powder Technol. 2021; 384, 313–331.
12. **Ferdynand M. S., Nokhodchi A.** Co-spraying of carriers (mannitol-lactose) as a method to improve aerosolization performance of salbutamol sulfate dry powder inhaler. Drug Deliv. Transl. Re. 2020; 10, 1418–1427.
13. **Zhao Z., Wang G., Huang Z., Huang Y., Chen H., Pan X., Zhang X.** Dry Powder Inhalers Based on Chitosan-Mannitol Binary Carriers: Effect of the Powder Properties on the Aerosolization Performance. AAPS PharmSciTech. 2022; 23, 1–11.
14. **Huang Y., Huang Z., Zhang X., Zhao Z., Zhang X., Wang K., Wu C.** Chitosan-based binary dry powder inhaler carrier with nanometer roughness for improving in vitro and in vivo aerosolization performance. Drug Deliv. Transl. Re. 2018; 8, 1274–1288.
15. **Zhao Z., Zhang X., Cui Y., Huang Y., Huang Z., Wang G., Wu C.** Hydroxypropyl-β-cyclodextrin as anti-hygroscopicity agent inamorphous lactose carriers for dry powder inhalers. Powder Technol. 2019; 358, 29–38.
16. **Pilcer G., Amighi K.** Formulation strategy and use of excipients in pulmonary drug delivery. Int. J. Pharm. 2010; 392, 1–19.
17. **Aquino R. P., Auriemma G., Conte G. M., Esposito T., Sommella E., Campiglia P., Sansone F.** Development of chitosan/mannitol microparticles as delivery system for the oral administration of a spirulina bioactive peptide extract. Molecules 2020; 25, 20–86.
18. **Dabbagh A., Abu Kasim N. H., Yeong C. H., Wong T. W., Abdul Rahman N.** Critical parameters for particle-based pulmonary delivery of chemotherapeutics. J. Aerosol Med. Pulm. D. 2018; 31, 139–154.
19. **Sosnik A., das Neves J., Sarmento B.** Mucoadhesive polymers in the design of nano-drug delivery systems for administration by non-parenteral routes: A review. Prog. Polym. Sci. 2014; 39, 2030–2075.
20. **Sansone F., Mencherini T., Picerno P., d'Amore M., Aquino R. P., Lauro M. R.** Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. J.Food Eng. 2011; 105, 468–476.
21. **Inkson B. J.** Scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) for materials characterization. Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods. 1st ed. United Kingdom: Woodhead Publishing 2016; 17–43.
22. **Holzman M.** Laserově indukovaná funkcionalizace porézních titanových povrchů pro biomedicíncké aplik-

proLékaře.cz | 11.7.2025

ace. https://dspace5.zcu.cz/handle/11025/48859 (11. 12. 2022).
23. **Český lékopis.** Praha: Grada Publishing 2017. 4912 s.
24. **Chalabala M.** Technologie léků. 2. vydání. Praha: Galén 2001; 238–250.
25. **Nayak S., Ghugare P., Vaidhun B.** Evaluation of aerodynamic particle size distribution of drugs used in inhalation therapy: A concise review. Int. J. Res. 2020; 7, 264–271.
26. **Ko J. A., Park H. J., Hwang S. J., Park J. B., Lee J. S.** Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery. Int. J. Pharm. 2002; 249, 165–174.
27. **Chen B. T., Cheng Y. S., Yeh H. C.** Performance of a TSI aerodynamic particle sizer. Aerosol Sci. Tech. 1985; 4, 89–97.
28. **Jedelský J.** Dispergátor pevných částic TSI – SSPD 3433. Dostupné na: http://www.energetickeforum.cz/fsi-vut-v-brne/pristrojove-vybaveni/dispergator-pevnych-castic (28. 7. 2022).
29. **Torres M. A., Beppu M. M., Santana C. C.** Characterization of chemically modified chitosan microspheres as adsorbents using standard proteins (bovine serum albumin and lysozyme). Braz. J. Chem. Eng. 2007; 24, 325–336.
30. **Xu D., Xu Y., Liu G., Hou Z., Yuan Y., Wang S., Sun B.** Effect of carrier agents on the physical properties and morphology of spray-dried Monascus pigment powder. Lwt. 2018; 98, 299–305.
31. **Wang X., Wan W., Lu J., Quan G., Pan X., & Liu P.** Effects of L-leucine on the properties of spray-dried swellable microparticles with wrinkled surfaces for inhalation therapy of pulmonary fibrosis. Int. J.Pharm. 2021; 610, 121–223.
32. **Ma Z., Merkus H. G., de Smet J. G., Heffels C., Scarlett B.** New developments in particle characterization by laser diffraction: size and shape. Powder Technol. 2000; 111, 66–78.
33. **Perkušić M., Nodilo L. N., Ugrina I., Špoljarić D., Brala C. J., Pepić I., Hafner A.** Tailoring functional spray-dried powder platform for efficient donepezil nose-to-brain delivery. Int. J. Pharm. 2022; 624, 122038.
34. **Manser M., Morgan B. A., Feng X., Rhem R. G., Dolovich M. B., Xing Z., Thompson M. R.** Dextran Mass Ratio Controls Particle Drying Dynamics in a Thermally Stable Dry Powder Vaccine for Pulmonary Delivery. Pharm. Res. 2022; 39, 2315–2328.
35. **Rohani S. S. R., Abnous K., Tafaghodi M.** Preparation and characterization of spray-dried powders intended for pulmonary delivery of insulin with regard to the selection of excipients. Int. J. Pharm. 2014; 465, 464–478.