Farmacie 3/05 12.4.2005 10:57 Stránka 109
proLékaře.cz | 15.3.2025

PŮVODNÍ PRÁCE

ČESKÁ A SLOVENSKÁ FARMACIE
Ročník LIV – Číslo 3 – KVĚTEN 2005

PREDFORMULAČNÉ ŠTÚDIE H_1 – ANTIHISTAMINIKA LORATADÍNU DO TOPICKEJ LIEKOVEJ FORMY

CAPKOVÁ Z, VITKOVÁ Z., VYSOKAIOVÁ V.

Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Katedra galenickej farmácie

SÚHRN

Predformulačné štúdie H_1 – antihistaminika loratadínu do topickej liekovej formy

Práca je zameraná na formuláciu antihistaminika – loratadínu do hydrogélov. V prvej etape tejto štúdie bol hodnoteným polymérom na prípravu hydrogélov Carbopol® 980 o koncentrácii 0,5; 0,8 a 1,0 %. Cieľom príspevku bolo stanovenie optimálnej koncentrácie Carbopolu® 980 pri formulácii hydrogélu na základe hodnotenia reologických vlastností a farmaceutickej dostupnosti loratadínu z pripravených hydrogélov. Z výsledkov štúdie vyplýva, že z hľadiska topickej aplikácie je pre loratadín optimálny 0,5% hydrogél z Carbopolu® 980.

K ľ ú č o v é s l o v á: hydrogély – Carbopol® 980 – loratadín – liberácia – reologické vlastnosti

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 109–113

SUMMARY

Pre-Formulation Studies of the H_1-Antihistamine Loratadine for a Topical Dosage Form

The paper focuses on the formulation of the antihistamine loratadine for hydrogels. In the first stage of this study, the evaluated polymer for the preparation of hydrogels was Carbopol® 980 of concentrations of 0.5, 0.8, and 1.0 %. The paper aimed to determine the optimal concentration of Carbopol® 980 in hydrogel formulation on the basis of the evaluation of the rheological properties and biological availability of loratadine from prepared hydrogels. The results of the study show 0.5% hydrogel of Carbopol® 980 to be optimal for loratadine from the standpoint of topical administration.

K e y w o r d s: hydrogels – Carbopol® 980 – loratadine – liberation – rheological properties

Čes. slov. Farm., 2005; 54, 109–113 *Má*

Úvod

Vzhľadom k narušenému životnému prostrediu sa v posledných rokoch stále častejšie hovorí o alergiách. Naše telo si nestačí zvykať na množstvo nových látok, s ktorými prichádza do styku a voči niektorým sa bráni neprimerane. Vznikajú alergické reakcie, ktoré sa okrem sennej nádchy najčastejšie prejavujú na koži (urtikária). Pri alergických kožných reakciách sa v koži uvoľňuje látka histamín, ktorý je jeden z mediátorov zápalovej reakcie. Zápal sa zvyčajne prejavuje sčervenaním, urtikáriou alebo opuchom, ktorý mierne bolí a svrbí. Tieto nepríjemné obtiaže nás nútia ku škrabaniu, čím ďalej dráždime a poškodzujeme kožu. Kožná alergická reakcia môže vzniknúť napr. po uštipnutí hmyzom, potretím žihľavou alebo medúzou, konzumáciou niektorých druhov ovocia a exotických jedál a pod. Existujú aj alergické reakcie na šperky alebo vyrážky po slnení [1)].

Príznaky kožných alergií môžu byť zmiernené liekmi obsahujúce liečivo, ktoré pôsobí proti histamínu – antihistaminiká. Tieto lieky sú väčšinou podávané perorálne a pretože ovplyvňujú celý organizmus, sú vydávané na lekársky predpis. Miestnu alergickú reakciu ľahšieho stupňa je však vhodné rýchlo tlmiť protialergickým liekom pre lokálne použitie.

V súčasnej dobe sa čoraz väčšia pozornosť venuje hydrogélom, ktoré sa stali medzi pacientmi veľmi obľúbené, hlavne z hľadiska ľahkej aplikácie na kožu, minima nežiadúcich účinkov a možnosti aplikovať ich kedykoľvek v priebehu dňa, pretože sa dobre vstrebávajú a nezane-

proLékaře.cz | 15.3.2025

chávajú mastný pocit. Týmito vlastnosťami disponujú predovšetkým polyakrylátové hydrogély, ktoré na svoju tvorbu potrebujú podstatne menej gélotvornej látky (Carbopolu®), na koži nezanechávajú zvyšok, sú transparentné, a tým vzhľadovo atraktívne a pôsobia chladivo. Polyakryláty sú biele prášky, vo vode takmer nerozpustné. Ich disperzie vo vode majú pH 2,7–3,5, viskozitu približne rovnakú ako voda a koloidný charakter získavajú až po neutralizácii organickou alebo anorganickou zásadou. Ich výroba je teda časovo málo náročná, pretože odpadá dlhý čas potrebný na napučiavanie.

Predmetom tohto príspevku je formulácia loratadínu do hydrogélov. Loratadín (etylster 4-(8-chlóro-5,6-dihydro-11H-benzo[5,6]cyklohepta[1,2-b]pyridín-11--ylidén-1-piperidín karboxylovej kyseliny), H_1-antihistaminikum 2. generácie, ktorý sa vyznačuje vysokou terapeutickou účinnosťou podmienenou vysokou afinitou a selektivitou kompetitívne obsadzovať H_1-receptory v cieľových tkanivách, je v súčasnosti základným liekom v stratégii antialergickej liečby [2]. Patrí medzi liečivá, ktoré všeobecne majú nízku incidenciu nežiadúcich účinkov, predovšetkým sedatívnych. V incidencii sedatívnych nežiadúcich účinkov je pravdepodobne najbezpečnejším a ekonomicky najmenej náročným antihistaminikom, ktorý je v súčasnej dobe používaný v klinickej praxi [3].

Loratadín je biela kryštalická látka dobre rozpustná v metanole, chloroforme, toluéne, éteri a v zriedených minerálnych kyselinách. Veľmi ťažko je rozpustný vo vode, avšak jeho hydrochlorid je rozpustný vo vode. Jeho teplota topenia je 134–136 °C. Má výrazné ultrafialové spektrum, ktoré sa dá výhodne využiť na jeho kvantitatívne stanovenie. Hlavnou indikačnou oblasťou loratadínu je liečenie príznakov spojených s alergickou sennou nádchou, žihľavkou (urtikáriou) a kožných alergických ochorení, pri ktorých zmierňuje príznaky svrbenia, začervenania ako aj počet a veľkosť žihľavových eflorescencií. Klinické testy dokázali, že je účinný na všetky alergické ochorenia nosa, kože alebo očí. Pri liečení pôsobí protiedematózne, protiexsudatívne, spôsobuje dekongesciu slizníc a výrazne zmierňuje svrbenie [4].

Problematika formulácie antihistaminík do hydrogélu nebola zatiaľ u nás ani vo svete riešená v dostatočnej miere. Doteraz nebola publikovaná žiadna práca, ktorá by sa venovala formulácii antihistaminika loratadínu do topickej liekovej formy, predovšetkým do hydrogélu. Bolo publikované len niekoľko prác [5–8], ktoré sa zaoberali klinickou farmakológiou H_1-antihistaminík na kožu, medzi ktorými bolo skúmané aj naše použité liečivo – loratadín. Bolo skonštatované, že distribúcia H_1-antihistaminík do kože a antihistamínová aktivita v koži sú klinicky významné v liečbe alergických kožných prejavov.

Vzhľadom na to, že účinok liečiv, ktoré sú spracované do liekovej formy – hydrogélu, závisí od ich liberácie z hydrogélu a tá následne od jeho štruktúrnej viskozity, výskum je zameraný na výber optimálnej koncentrácie Carbopolu® 980. Koncentrácia použitého polyméru sa optimalizovala na základe hodnotenia štruktúrnej viskozity hydrogélov Carbopolu® 980 bez a s loratadínom a hodnotenie liberácie loratadínu z hydrogélov.

POKUSNÁ ČASŤ

Použité liečivo, pomocné látky

Loratadín (Quimica Sintetica S. a., Španielsko), Carbopol® 980 (Slovakofarma, a.s., Hlohovec), Etanol 96 % (Leopold, SR), Chlorid sodný (SPOLCHIM, spol. s r.o., Bratislava, SR), Trietanolamín (Lachema a.s., Brno, ČR), Octan sodný (Lachema, Brno, ČR), Kyselina octová (Centralchem, Bratislava, SR), čistená voda.

Prístroje

Permeačná aparatúra (Katedra galenickej farmácie FaF UK, Bratislava, SR); permeačná membrána – celofán (Chemosvit, a.s., Svit, SR), spektrofotometer (Philips Pyll Unicam 8625 Ltd., Cambridge, Veľká Británia); termostat U 10 (VEB MLW Prüfgeräte – Werk Medingen, Nemecko SRN); rotačný viskozimeter Viscotester VT 500 s merným systémom SV DIN (Haake, Nemecko); pH meter (Metrohm Ltd., Švajčiarsko); analytické váhy (Mettler – Toledo AG, Greifensee, Švajčiarsko); elektrická miešačka (VEB MLW Prüfgeräte – Werk Medingen, Nemecko SRN).

Príprava hydrogélov

Do vytárovanej kadičky s potrebným množstvom čistenej vody sa postupne pridávalo navážené množstvo gélotvornej látky – Carbopol® 980 za stáleho miešania automatickým miešadlom do vzniku rovnorodej zmesi, pridalo sa 20 % (m/m) ethanolu a nakoniec sa rovnorodá zmes zneutralizovala trietanolamínom. Vzorky sa nechali stáť 24 h a uchovávali sa pri teplote 5 °C. Takto sa pripravili hydrogély s obsahom Carbopolu® 980 o koncentrácii 0,5; 0,8 a 1,0 % (m/m).

Príprava hydrogélov s prísadou loratadínu

Postupovalo sa podľa vyššie uvedeného postupu, pričom v danom množstve etanolu sa rozpustilo navážené množstvo loratadínu. Pripravili sa hydrogély s obsahom gélotvornej látky Carbopolu® 980 o koncentrácii 0,5; 0,8 a 1,0 % (m/m) s prísadou liečiva loratadínu v 0,1 % koncentrácii. Pripravené hydrogély sa nechali stáť 24 h a uchovávali sa pri teplote 5 °C.

Príprava fyziologického roztoku

Pripravil sa 0,9% roztok NaCl v čistenej vode.

Príprava tlmivého octanového roztoku

Pripravil sa tlmivý octanový roztok podľa ČSL 4 [9].

Metódy hodnotenia

Meranie pH hydrogélov

Hodnoty pH hydrogélov Carbopolu® 980 bez a s prísadou loratadínu sa merali prostredníctvom sklenenej elektródy – pH metrom METROHM. Prístroj sa kalibroval dvoma referenčnými tlmivými roztokmi – ftalanovým s pH 4±0,02 (20 °C) a boritanovým s pH 9±0,02 (20 °C). Merania sa robili po 1, 7 a 14 dňoch.

Meranie reologických vlastností

Reologické vlastnosti hydrogélov bez a s prísadou loratadínu sa stanovovali na rotačnom viskozimetri VISCOTESTER VT 500 s merným systémom SV DIN pri konštantnej teplote 20 °C ± 2 °C. Merania sa robili po 1, 7 a 14 dňoch.

proLékaře.cz | 15.3.2025

Tab. 1. Reologické parametre hydrogélov Carbopolu® 980 bez prísady loratadínu pri D=644,4 s-1 po 1, 7 a 14 dňoch

	Po 1 dni		po 7 dňoch		po 14 dňoch	
	η	τ	η	τ	η	τ
0,5% Car	0,895	570,608	0,851	548,084	0,932	600,64
0,8% Car	1,153	743,292	1,229	792,094	1,171	754,554
1,0% Car	1,153	743,292	1,198	765,816	1,206	777,078

Tab. 2. Reologické parametre hydrogélov Carbopolu® 980 s prísadou loratadínu pri D=644,4 s-1 po 1, 7 a 14 dňoch

	Po 1 dni		po 7 dňoch		po 14 dňoch	
	η	τ	η	τ	η	τ
0,5% Car + 0,1% Lor	0,877	564,977	0,929	598,763	0,836	538,699
0,8% Car + 0,1% Lor	1,066	686,982	0,970	625,041	1,197	771,447
1,0% Car + 0,1% Lor	1,194	769,57	1,075	692,613	1,200	773,324

Viskozita sa vypočítala podľa vzťahu:

$$\eta = \frac{\tau}{D} \qquad \text{(Pa.s)}$$

$$\tau = \frac{Md \times f}{10} \qquad \text{(Pa)}$$

τ – tangenciálne napätie (Pa)
D – rýchlostný spád (s^{-1})
M_d – točivý moment (N.cm)
F – systémový faktor [10)]

Popis permeačnej aparatúry a pracovný postup pokusu in vitro

Permeácie loratadínu z hydrogélov cez semipermeabilnú membránu do zmesi fyziologického roztoku NaCl a tlmivého octanového roztoku pri teplote 37 °C ± 2 °C sa robili na permeačnej aparatúre, ktorú vyrobila Katedra galenickej farmácie FaF UK v Bratislave. Zariadenie sa skladá z 8 permeačných komôrok z organického skla zoradených za sebou. Každá komôrka má dve časti – donátorovú a akceptorovú, ktoré sú spojené skrutkami. Do donátorovej časti sa navažuje 3 g hydrogélu. Akceptorová časť komôrky o objeme cca 20 ml má v hornej časti otvor a vo vnútri sa nachádzajú miešadlá, ktoré premiešavajú obsahy komôrok. Medzi donátorovú a akceptorovú časť sa vkladá semipermeabilná membrána dotýkajúca sa oboch častí komôrky plochou 19,635 cm^2. Na vonkajšej strane permeačného prístroja je umiestnený výhrevný plášť, ktorým cirkuluje voda o teplote 37 °C ± 2 °C vyhrievaná termostatom.

Na membránu sa navážilo 3,00 g hydrogélu. Jedna navážka bola bez liečiva – blank a 6 navážok s liečivom. Do akceptorovej časti komôrky sa napipetovalo 20,00 ml pripravenej zmesi fyziologického roztoku NaCl a tlmivého octanového roztoku. Po celý čas, kým sa sledovalo uvoľňovanie, obsah komôrok sa premiešaval a temperoval. V časových intervaloch 15; 30; 45; 60; 90; 120 a 180 minút sa pipetou odoberalo 5 ml vzorky z akceptorovej časti. Odobratý objem vzorky (5 ml) sa nahradil rovnakým množstvom zmesi fyziologického roztoku NaCl a tlmivého octanového roztoku (5 ml). Odobratá vzorka sa podľa potreby riedila čistenou vodou v pomere 1:1. Robilo sa 6 paralelných stanovení.

Spektrofotometrické stanovenie obsahu

Uvoľnené množstvo liečiva loratadínu sa stanovilo spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke λ = 240 nm vybranej na základe použitých vlnových dĺžok v prácach [11–12)] a na základe nami nameranej najvyššej absorbancie. Koncentrácia sa vypočítala podľa SL 1 [13)].

Štatistické spracovanie výsledkov

Použil sa Studentov t-test [14)].

VÝSLEDKY A DISKUSIA

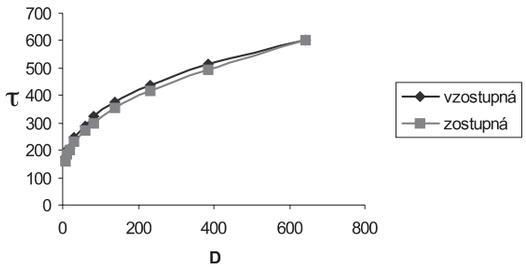
Jedným z krokov na ceste od objavu biologicky aktívnej látky k jej využitiu ako lieku sú predformulačné štúdie a formulácie liekov. Ide pri nich o objasnenie fyzikálnych a chemických vlastností samotného liečiva, resp. liečiva s pomocnými látkami. Z terapeutického hľadiska je najdôležitejšou vlastnosťou liekovej formy jej schopnosť uvoľňovať liečivo tak, aby sa čo najrýchlejšie a v dostatočnej koncentrácii dostalo na miesto pôsobenia, a tým vyvolal potrebnú farmakologickú odpoveď.

Pri spracovaní liečiva do vhodnej liekovej formy, v našom prípade do hydrogélu, teda zohráva dôležitú úlohu výber základu ako aj vhodných pomocných látok, pretože od nich v konečnom dôsledku závisí kvalita hotového lieku, jeho stabilita a účinnosť.

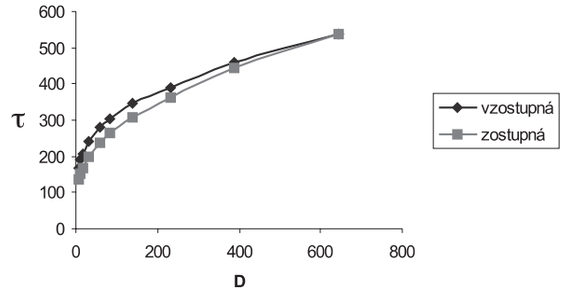
Okrem správnej voľby gélotvornej látky ovplyvňuje dostupnosť liečiva z hydrogélov aj jej koncentrácia, od ktorej závisí aj štruktúrna viskozita hydrogélu.

Tento príspevok predstavuje prvú etapu formulácie antihistaminika – loratadínu do liekovej formy pre účely topickej aplikácie. Na prípravu hydrogélov s obsahom loratadínu sa vybrali ako gélotvorné pomocné látky farmaceuticky použiteľné deriváty kyseliny polyakrylovej, ktoré sa vyrábajú pod názvom Carbopol®. Cieľom bolo vybrať optimálnu koncentráciu Carbopolu® 980 na základe hodnotenia štruktúrnej viskozity hydrogélov

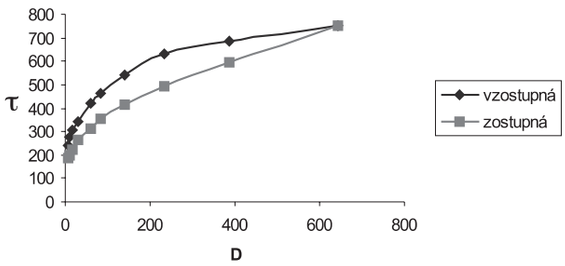
proLékaře.cz | 15.3.2025



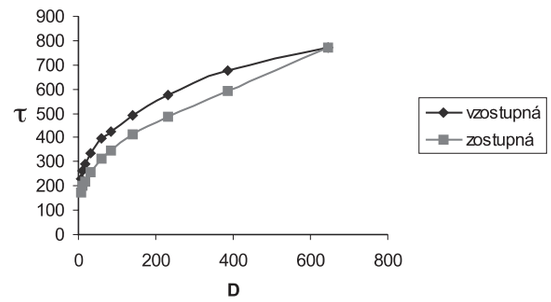
Obr. 1. Toková krivka 0,5 % hydrogélov Carbopolu® 980



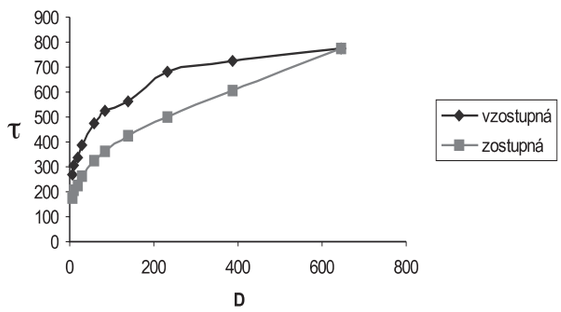
Obr. 2. Toková krivka 0,8 % hydrogélov Carbopolu® 980



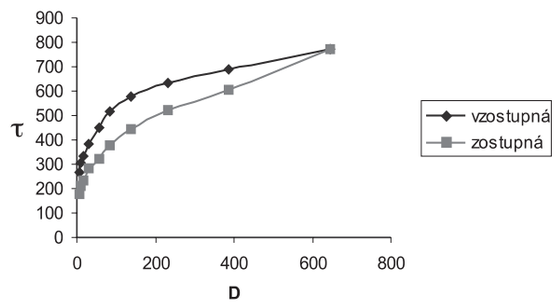
Obr. 3. Toková krivka 1,0 % hydrogélov Carbopolu® 980



Obr. 4. Toková krivka 0,5 % hydrogélov Carbopolu® 980 s prísadou loratadínu



Obr. 5. Toková krivka 0,8 % hydrogélov Carbopolu® 980 s prísadou loratadínu



Obr. 6. Toková krivka 1,0 % hydrogélov Carbopolu® 980 s prísadou loratadínu

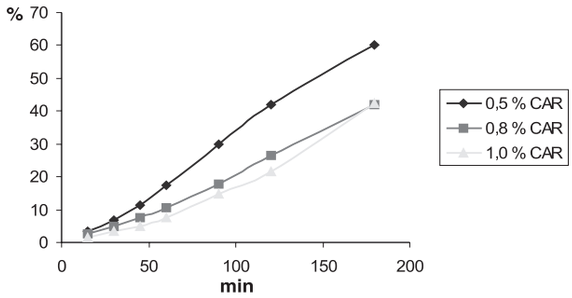
Carbopolu® 980 bez a s prísadou loratadínu a *in vitro* hodnotenie liberácie loratadínu z hydrogélov.

Na základe predchádzajúcich pokusoch uskutočnených na našej katedre [15] a poznatkov sa vybrali tri koncentrácie pomocnej látky, a to 0,5; 0,8 a 1,0 % (m/m). Pretože bola k dispozícii len báza loratadínu, ktorá je veľmi ťažko rozpustná vo vode, muselo sa najskôr nájsť vhodné rozpúšťadlo, aby sa mohol previesť do hydrogélu. Zistilo sa, že loratadín je ľahko rozpustný v etanole. Použitie etanolu bolo výhodné nielen pre jeho antimikrobiálne vlastnosti, ale aj pre jeho chladivý efekt na kožu.

Na obrázkoch 1–6 sú znázornené tokové krivky skúmaných hydrogélov. Pri postupne zvyšovanom rýchlostnom spáde hodnoty štruktúrnej viskozity klesali, ihneď pri postupne znižovanom rýchlostnom spáde hodnoty štruktúrnej viskozity stúpali. Výsledkom sú dve vetvy tokovej krivky, ktoré majú spoločný 1 bod pri maximálnom rýchlostnom spáde (D=644,4 s^{-1}). Reogramy potvrdili, že pripravené hydrogély tvoria nenewtonské, tixotropné sústavy, s časovo závislým tokom, ktoré sú žiadané z hľadiska topickej aplikácie.

V tabuľke 1 a 2 sú tokové vlastnosti vyjadrené štruktúrnou viskozitou a tangenciálnym napätím pri maximálnom použitom rýchlostnom gradiente, t.j. pri D=644,4 s^{-1}. Jednou z príčin rozdielnej viskozity gélov je koncentrácia gélotvornej látky. Ako možno vidieť z údajov v tabuľkách 1 a 2, po 1 dni od prípravy sa namerala najvyššia štruktúrna viskozita hydrogélov s prísadou loratadínu pri 1,0% carbopolových hydrogéloch a najnižšia pri 0,5% carbopolových hydrogéloch. Pri porovnaní viskozity hydrogélov bez a s liečivom po 1. dni prípravy, sa môže povedať, že liečivo znižovalo viskozitu hydrogélov okrem hydrogélov obsahujúcich Carbopol® 980. Pri sledovaní stability hydrogélov bez prísady liečiva (blankov) počas ich 14 dňového skladovania pri 5 °C sa zistilo, že u 0,5%

proLékaře.cz | 15.3.2025



Obr. 7. Liberačný profil loratadínu z 0,5%; 0,8% a 1,0% hydrogélov Carbopolu® 980 po 14 dňoch
CAR – Carbopol® 980

carbopolových hydrogéloch sa viskozita po 7 dňoch znížila a po 14 dňoch opäť zvýšila, u 0,8% carbopolových hydrogéloch sa viskozita po 7 dňoch zvýšila a po 14 dňoch znížila a u 1,0% carbopolových hydrogéloch sa viskozita zvyšovala. U hydrogéloch s prísadou liečiva to bolo naopak okrem 1,0% carbopolových hydrogéloch, kde sa viskozita po 7 dňoch znížila a po 14 dňoch zvýšila.

Okrem viskozity sa sledovala stabilita pripravených hydrogélov bez a s prísadou loratadínu aj meraním pH. Získané hodnoty pH sú uvedené v tabuľke 3. Hodnoty pH hydrogélov bez a s prísadou loratadínu boli v rozmedzí 5,58–5,89 po 1. dní, v rozmedzí 5,50–6,08 po 7 dňoch a v rozmedzí 5,71–6,07 po 14 dňoch.

Získané výsledky sú priemerom 2 paralelných stanovení, pri ktorých sa smerodajná odchýlka pohybovala v intervale ± 1,00.

Medzi faktory, ktoré ovplyvňujú liberáciu liečiva z dermálnych polotuhých liekov, patrí stupeň disociacie rozpusteného liečiva. Silné kyseliny a zásady sú vysoko ionizované, v lipidickej vrstve sú prakticky nerozpustné, a preto cez membrány prakticky neprechádzajú. V prípade slabých kyselín a zásad rozpustnosť v tukoch závisí okrem stupňa disociácie aj od aktuálneho pH prostredia. Teda zmenou pH je možné regulovať disociáciu liečiva, pri vyššom pH sú rozpustnejšie slabé kyseliny, pri nižšom pH slabé zásady. Pretože je loratadín ťažko rozpustný vo vode, je slabou zásadou a z neho pripravené hydrogély by sa použili na liečbu alergie, teda zápalovej reakcie, pri ktorej dochádza k zníženiu pH pokožky, sa hľadali optimálne podmienky liberácie. Ako vhodné (optimálne) prostredie liberácie sa ukázala zmes fyziologického roztoku NaCl a tlmivého octanového roztoku.

Liberácia loratadínu sa vyhodnotila na základe kumulovaného uvoľneného množstva látky, vyjadreného percentuálne. Na obrázku 7 je znázornený priebeh uvoľňovania loratadínu z 0,5; 0,8 a 1,0 % hydrogélu Carbopolu® 980 v časových intervaloch 15; 30; 45; 60; 90; 120 a 180 min. Liberácia sa sledovala až po 14 dňoch skladovania hydrogélov pri teplote 5 °C. Najviac loratadínu sa uvoľnilo z 0,5% carbopolového hydrogélu (59,98 % po 180 min.), najmenej s 1,0% carbopolového hydrogélu (42,55 % po 180 min.). Výsledky potvrdili skutočnosť, že s narastajúcou koncentráciou gélotvornej látky sa viskozita zvyšuje, čím sa uvoľňovanie liečiva spomaľuje. Na dostupnosť liečiva z liekovej formy má teda výrazný vplyv aj viskozita finálnej liekovej formy.

Tab. 3. Hodnoty pH hydrogélov po 1, 7 a 14 dňoch

	Po 1 dni	po 7 dňoch	po 14 dňoch
0,5% Car	5,85	5,58	5,88
0,8% Car	5,75	5,83	6,07
1,0% Car	5,58	5,58	5,85
0,5% Car + 0,1% Lor	5,71	5,50	5,86
0,8% Car + 0,1% Lor	5,60	6,08	5,84
1,0% Car + 0,1% Lor	5,42	5,57	5,71

Car – Carbopol® 980, Lor – loratadín

V tejto fáze výskumu na základe získaných výsledkov viskozity hydrogélov, liberácie loratadínu a pH hydrogélov možno konštatovať, že pre formuláciu loratadínu do liekovej formy – hydrogélu je optimálna 0,5% koncentrácia Carbopolu® 980.

Práca bola vypracovaná v rámci riešenia grantového projektu 46/2003/UK.

LITERATÚRA

1. **Pátek, M.:** Čas. čes. lekárníků, 1998; 6, 27.
2. **Gazdík, F, Janek, M.:** Slov. Rev., 2000; 10, 68-70.
3. **Urbánek, R.:** Remedia, 1993; 3, 216-221.
4. **Chalabala, M., Špringer, V., Čižmárik, J.:** Pharma J., 1998; 8, 154-159.
5. **Gispert, J., Antonijoan, R., Barbanoj, M. et al.:** Ann. Allerg. Asthma Imm., 2002; 89, 259-264.
6. **Ramboer, I., Bumtbacea, R., Lazarescu, D., Radu, R. R.:** J. Int. Med. Res., 2000; 28, 69-77.
7. **Siergiejko, Z., Chyrek–Borowska, S.:** Pol. Tyg. Lek., 1994; 49, 334-336.
8. **Monroe, E. W.:** Clin. Ther., 1997; 19, 232-242.
9. Československý liekopis, zväzok I. 4. vyd., Praha, Avicenum, 1987, s. 366-371.
10. Haake, Betriebsanleitung Viscotester VT 500/VT 501, Germany, 1994, s. 24.
11. **El Ragehy, N. A., Badawey, A. M., El Khateeb, S. Z.:** J. Pharm. Biomed. Anal., 2002; 28, 1041-1053.
12. **Indrayanto, G., Darmawan, L., Widjaja, S., Noorrizka, G.:** J. Plan. Chrom. – Modern TLC, 1999; 12, 261-264.
13. Slovenský liekopis, zväzok I. 1. vyd., Bratislava, Herba, 1997, s. 74.
14. **Keil, B. et al.:** Laboratórní technika biochemie. Praha, ČSA, 1959, s. 303.
15. **Šubová, M., Vitková, Z., Bírová, M.:** Zborník abstraktov, 32. konferencia Syntéza a analýza liečiv, Bratislava, 16.–19. 9., s. 91.

Došlo 22. 3. 2004.
Přijato ke zveřejnění 26. 5. 2004.

PharmDr. Zuzana Capková
Odbojárov 10, Bratislava 832 32, SR
e-mail: zajkoduracel@seznam.cz