

STANOVENIE FYZIKÁLNO-CHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ A SLEDOVANIE STABILITY SKVALÉNOVÝCH EMULZIÍ

EVA SLEPECKÁ^a, JUDIT SÜLI^b, JANA RADOVÁ^b, ANNA ONDREJKOVÁ^a, RÓBERT ONDREJKA^a, MARIÁN PROKEŠ^a, ĽUBOŠ KORYTÁR^a, PETER ČECHVALA^a a JARMILA HARVANOVÁ^c

^a Ústav epizootológie a preventívnej veterinárskej medicíny, ^b Ústav lekárskej chémie, ^c Ústav farmaceutickej chémie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice
eva.slepecka@centrum.sk

Došlo 8.1.13, prijaté 15.2.13.

Rukopis byl zařazen k tisku v rámci placené služby urychleného publikování.

Kľúčové slová: emulzia, skvalén, stabilita emulzií

Úvod

Skvalén je prírodná olejovitá látka obsiahnutá v rastlinných a živočíšnych zdrojoch; je aj súčasťou ľudského organizmu. Skvalénové emulzie typu o/w našli uplatnenie ako adjuvansy pre potencovanie účinku inaktivovaných vakcín nielen vo veterinárnej, ale aj v humánnej medicíne¹. Skvalénové emulzie majú vyhovujúci imunogénny účinok, vysokú potenčnú schopnosť, sú stabilné a biokompatibilné.

Stabilita emulzií je rovnako dôležitá ako ich účinnosť. Po čase ju strácajú a podliehajú fyzikálnym zmenám. Tento nedostatok môžeme pozitívne ovplyvniť už pri výbere správnych emulzifikátorov, vzájomného pomeru a koncentrácie všetkých zložiek, spôsobu prípravy a uchovávaní. Vhodne zvolenými podmienkami uchovávaní môžeme viac či menej predĺžiť dobu použiteľnosti.

Termín skvalén sa zaviedol v roku 1916, keď bola objavená vysoká koncentrácia nenasýteného uhľovodíka s molekulovým vzorcom C₃₀H₅₀ v oleji zo žraločej pečene. Okrem toho je obsiahnutý v značných množstvách v olivovom oleji, v palmovom oleji, v pšeničných klíčkoch, v amarantovom oleji a v ryžových otrubách². Skvalén je hlavným komponentom ľudského podkožného tuku^{2,3} a nachádza sa aj v prirodzených sekrétoch mazových žliaz⁴, kde je jednou z jeho úloh aj antioxidantná ochrana kože pred UV žiarením⁵.

Skvalén je prekursorom v biosyntéze cholesterolu, a teda aj ostatných steroidných látok, ako sú hormóny kôry

nadobličiek a gonád, vitamíny skupiny D a žľožové kyseliny.

Skvalénové emulzie sú heterogénne dvojfázové disperzné systémy zložené z dvoch nemiešateľných alebo obmedzene miešateľných kvapalín. Obvykle je jedna fáza vodná – hydrofilná a druhá olejová – hydrofóbná. Podľa toho rozlišujeme emulzie olej-vo-vode (o/w), voda-v-oleji (w/o), či voda-v-oleji-vo-vode (w/o/w). Emulzia je obvykle do určitej miery stabilizovaná emulgátorom a inými pomocnými látkami⁶.

Vo všeobecnosti sú emulzie o/w vyvíjané pre parenterálnu a lokálnu administráciu, ale aj pre perorálnu a okulárnu spôsob aplikácie⁷. Podávanie niektorých účinných látok inkorporovaných do emulzií vyriešilo problém s ich nerozpustnosťou a nestabilitou a tým sa zvýšila ich biologická dostupnosť¹. Emulzie teda pomáhajú solubilizovať lipofilné liečivá. Znižujú nestabilitu vodného roztoku pri asociácii s hydrofóbnou olejovou fázou⁸.

Emulzie sa fagocytujú efektívnejšie ako vodné formulácie a tiež uľahčujú prenos liečiva do bunky^{1,4}.

Materiál a metodika

Skvalénové emulzie

Emulzie sme pripravovali v rôznych variáciách. Vodnú fázu predstavuje destilovaná voda alebo bunkové médium. Emulzie, ktoré ako vodnú fázu obsahujú niektoré bunkové médium, sa môžu používať na prípravu adjuvantných inaktivovaných vakcín v jednom kroku, spolu s antigénom.

Zložky skvalénových emulzií

Vodnú fázu (91,5 % w/v) predstavovala destilovaná voda alebo niektoré bunkové médium MEM, D-MEM, RPMI 1640. Olejovou fázou (2,5 % w/v) bol skvalén. Ako emulzifikátory sme použili zmes dvoch detergentov v konečnej koncentrácii 6 % (w/v): netoxický, dobre resorbovateľný Poloxamer 105 s HLB = 18,5 v konečnej koncentrácii 4 % (w/v) a Abil-Care 85 s HLB = 10 v konečnej koncentrácii 2 % (w/v), ktorý je vhodný na prípravu emulzie za zníženej teploty (do 37 °C).

Príprava skvalénových emulzií

Vodnú fázu, skvalén a detergenty sme sterilizovali 1 hodinu v autokláve pri 120 °C a tlaku 200 kPa. Tieto podmienky sterilizácie sú dostatočné na dosiahnutie sterilných komponentov emulzií⁹. Bunkové média sme sterilizovali filtráciou cez membránový filter 45 µm Minisart Plus (Sigma-Aldrich, USA). Olejovú zložku a detergenty sme zmiešali na magnetickej miešačke, pridali sme po častiach vodu a predmiešali asi 5 min. Pripravenú zmes sme homogenizovali buď v sklenenom homogenizátore Yellow line DDI18 (IKA Labtechnik, Nemecko) pri otáčkach 15 000 rpm alebo sme vykonávali homogenizáciu ultrazvukom na prístroji Soniprep 150 MSE (MSE, Veľká Británia) so sondou ULT-210-515D pri frekvencii 23 kHz. Emulzie sme počas prípravy temperovali vodným kúpe-

lom na teplotu 37 °C. Z homogenizovanej zmesi sme do skúmaviek postupne odoberali vzorky po 2, 4, 6 a 8 minútach. U týchto emulzií sme stanovili veľkosť kvapiek. Emulzie boli skladované pri 4 °C a pri laboratórnej teplote.

Na základe prvých výsledkov sledovania stability emulzií sme zvolili na ďalšiu prípravu emulzií ultrazvukový spôsob homogenizácie.

Stanovenie fyzikálno-chemických vlastností pripravených emulzií

Analýza rozmeru častíc

Z pripravených emulzií sme vyhotovili preparáty na mikroskopické sledovanie, následne sme ich pozorovali pod mikroskopom Nikon Labophot 2 (Nikon, Japonsko) s kamerovým adaptérom DS Camera Control Unit DS-U2 (Nikon, Japonsko) pri 400násobnom zväčšení. Fotografie a samotné merania rozmeru častíc sme robili pomocou programu NIS-Elements verzia 3.0. Rozmer kvapiek sme vyjadrili ako priemernú hodnotu zo stanovenia rozmeru 20 kvapiek. Výsledky sme štatisticky vyhodnotili Studentovým párovým t-testom.

Stanovenie hustoty emulzií

Hustotu pripravených emulzií sme stanovili pyknometrickým meraním pri 23 °C. Výsledok sme vyjadrili ako priemernú hodnotu z troch meraní.

Stanovenie pH

pH pripravených emulzií sme stanovili pomocou prístroja Acidimeter 333 (Druopta, Česká republika) pri 23 °C. Na stanovenie sme použili kombinovanú sklenenú elektródu.

Stanovenie vodivosti

Vodivosť pripravených emulzií sme stanovili pomocou konduktometra Inolab Cond 720-SET (WTW, Nemecko) pri 23 °C.

Stanovenie dynamickej viskozity

Dynamickú viskozitu pripravených emulzií sme stanovili pomocou Höpplerovho viskozimetra (Fisher, Slovenská republika) pri teplote 23 °C. Hodnotu sme získali ako priemer z troch meraní.

Sledovanie stability pripravených skvalénových emulzií

Stabilita pri centrifugácii

Centrifugačnú stabilitu sme sledovali 10minútovou centrifugáciou v centrifúge Mikrocentrifuga Z216 MK (Hermle Labtechnik, Nemecko) pri 1500 rpm (201 x g) a teplote 4 °C. Sledovali sme prípadné rozdelenie fáz.

Stabilita pri zmrazovacích cykloch

Sledovali sme 5 zmrazovacích cyklov: 16 hodín pri teplote –21 °C, následne 8 hodín pri laboratórnej teplote 21 ± 2 °C.

Stabilita počas skladovania

Pre potenciálnu možnosť fotooxidácie skvalénu¹⁰ sme emulzie počas skladovania chránili pred svetlom použitím hliníkového obalu.

Analýza rozmeru častíc emulzií skladovaných v sklenenom a plastovom obale

Časť pripravených emulzií sme uchovávali v sklenenom obale, ďalšiu časť v polyetylénovom obale (PE); všetky vzorky pri laboratórnej teplote 21 ± 2 °C. Sledovali sme zmeny rozmeru častíc v závislosti od skladovania v sklenenom alebo plastovom obale po 1, 2, 5, 7 a 8 týždňoch.

Sledovanie vnútornej stability – krémovatenie

Sledovali sme krémovatenie emulzií pripravovaných rôzne dlhou dobou homogenizácie (2, 4, 6 a 8 minút) ultrazvukom. Vzorky boli uchovávané v sklenených alebo polyetylénových (PE) obaloch počas 1, 3, 5, 7 a 8 týždňov.

Percento krémujúceho objemu sme vypočítali zo vzťahu:

$$C = 100 \cdot (1 - V_n / V) \%$$

kde C je percento krémujúceho objemu, V_n objem nekrémujúcej vrstvy, V celkový objem emulzie v skúmavke.

Výsledky

Stanovenie niektorých fyzikálno-chemických vlastností pripravených skvalénových emulzií

Hustota pripravených emulzií

Stanovili sme hustotu emulzií pripravených rôznymi vodnými fázami: vodou, bunkovými médiami MEM, D-MEM a RPMI-1640 (tab. I).

Tabuľka I

Hustoty emulzií (g cm^{-3}) pripravených z vody a bunkových médií pri 23 °C

Emulzia	Voda	MEM	D-MEM	RPMI-1640
Hustota, g cm^{-3}	0,998818	1,006339	1,008487	1,007166

Tabuľka II

Hodnoty pH a vodivosti u emulzií pripravených z vody a bunkových médií

Emulzia	Voda	MEM	D-MEM	RPMI-1640
pH	4,95	7,75	8,70	8,45
pH po 8 týždňoch	4,82	7,70	8,63	8,41
Vodivosť, mS cm ⁻¹	19,20	11,50	11,85	10,04
Vodivosť po 8 týždňoch, mS cm ⁻¹	19,38	11,41	11,92	10,14

pH a vodivosť

U emulzií s vodou, resp. s médiami MEM, D-MEM a RPMI-1640 sme stanovili pH a vodivosť pri teplote 23 °C (tab. II). pH vodnej emulzie bolo výrazne nižšie ako médií, ktoré obsahovali aminokyseliny a ďalšie prídavné látky na stabilizáciu prostredia pre rast buniek. Emulzia pripravená s vodou mala tiež najvyššiu hodnotu vodivosti. Hodnoty sa prakticky nemenili počas 8týždňového skladovania.

Dynamická viskozita

Hodnoty dynamickej viskozity emulzií s rôznymi vodnými fázami sú uvedené v tab. III. Emulzie boli pripravené 8minútovou ultrazvukovou homogenizáciou.

Stabilita pripravených skvalénových emulzií

Použili sme čerstvé emulzie pripravené s vodou, resp. s médiami MEM, D-MEM, RPMI-1640 po 8 minútach homogenizovania.

Po 10minútovej centrifugácii pri 4 °C a 1500 rpm sme ani u jednej zo štyroch emulzií nezaznamenali krémovatenie, ani oddelenie vodnej a olejovej fázy.

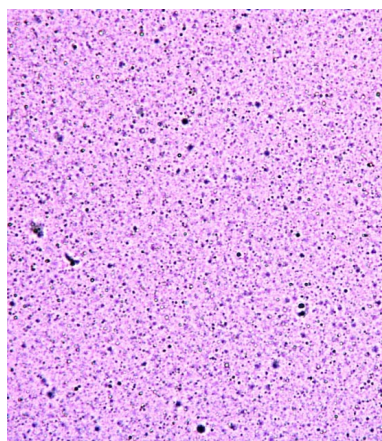
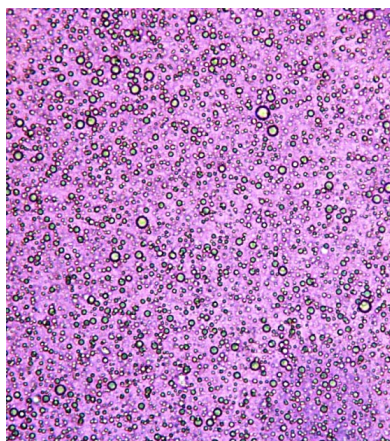
Stabilita pri zmrazovacích cykloch bola dostačujúca, u všetkých štyroch emulzií nastal zlom až po piatom zmrazovacom cykle, kedy došlo k čiastočnému rozdeleniu fáz.

Rozmer kvapiek signifikantne závisí od spôsobu a trvania homogenizácie. Ultrazvukom sme v porovnateľných časoch dosiahli oproti sklenenému homogenizátoru výrazne menšie častice (obr. 1). Po 8 minútach to boli hodnoty $0,59 \pm 0,20 \mu\text{m}$ (ultrazvuk), resp. $1,56 \pm 0,97 \mu\text{m}$ (sklenený homogenizátor).

Stabilita počas 8-týždňového uchovávania

Sledovanie vnútornej stability – krémovatenie

U emulzií pripravených ultrazvukovou homogenizáciou kratšou ako 8 minút sme sledovali krémovatenie, ktoré bolo nezávislé od teploty uchovávania (laboratórna



Obr. 1. Mikroskopický obraz emulzií pripravených skleneným homogenizátorom (vľavo) a ultrazvukovým homogenizátorom (vpravo) hneď po príprave (zväčšenie 400×). Doba homogenizácie 8 min

Tabuľka III

Dynamická viskozita jednotlivých emulzií

Emulzia	Voda	MEM	D-MEM	RPMI
Dynamická viskozita, mPa s	2,6499	2,6762	2,8724	2,7378

teplota, alebo 4 °C). Na krémovatenie emulzií ale mal vplyv obalový materiál: vzorky uchovávané v sklenenom obale vykazovali vyššie percento krémovatenia. U emulzií pripravených 8minútovou ultrazvukovou homogenizáciou nedošlo ku krémovateniu počas 8týždňovej pozorovacej doby, bez ohľadu na to, v akom obalovom materiáli boli uchovávané.

Analýza rozmeru častíc

Zmeny priemernej veľkosti častíc u emulzií sme sledovali v závislosti na teplote a na obalovom materiáli. Namerané výsledky sú prezentované v tab. IV.

U emulzií, ktoré boli pripravené ultrazvukovým homogenizátorom, sa neprejavili zreteľnejšie zmeny rozmerov kvapiek pri skladovaní v PE obale. Emulzie si udržali počas 8 týždňov takmer konštantné priemery kvapiek.

Skladovanie v sklenených skúmavkách malo u ultrazvukom pripravených emulzií väčší vplyv na rozmer častíc ako skladovanie v PE obaloch. Najstabilnejšia bola emulzia E_{U8}; rozmery kvapiek sa nemenili počas skladovania.

Z nameraných hodnôt a zo zmien pozorovaných počas 8týždňového sledovania emulzií sme určili najvhodnejšie podmienky na ich uchovávanie. Najstabilnejšie sa javili emulzie uchovávané pri 4 °C v PE obaloch. Znížená teplota uchovávaní a voľba vhodného obalu stabilizovala nielen emulzie pripravené s destilovanou vodou, ale aj tie, u ktorých vodnú fázu predstavovali rôzne bunkové médiá.

Diskusia

Emulzie typu o/w sú termodynamicky nestabilné. Hodnotenie stability emulzie má veľký význam. Problémom je však zhodnotenie dlhodobej stability v krátkodobom teste. V minulosti bolo testovanie emulzií vykonávané centrifugáciou a izotermickým skladovaním pri vyšších teplotách 45–50 °C. Je to relatívne pomalá metóda a vyžaduje niekoľkotýždňové pozorovanie. V súčasnosti stanovenie stability emulzií uľahčuje meranie

zeta-potenciálu, ktorý je definovaný ako rozdiel potenciálu medzi povrchom s pevne viazanou vrstvou iónov a elektroneutrálnou časťou roztoku⁷. Na meranie zeta-potenciálu boli vyvinuté moderné prístroje, ktoré zároveň vyhodnocujú aj rozmer častíc. V práci sme stabilitu emulzií hodnotili klasickými metodickými postupmi.

Sledovanie stability pri centrifugácii dáva dôležitú informáciu o stabilite systému porovnaním percentuálneho krémujúceho objemu. Môže ukázať rozdiely aj medzi tými emulziami, u ktorých neboli zistené iné rozdiely počas uchovávaní⁷. Význam použitia centrifugačných metód spočíva v urýchlení krémovatenia a v skorom odhalení potenciálnych destabilizačných procesov¹¹.

Pri centrifugácii najstabilnejších emulzií pripravených 8minútovou ultrazvukovou homogenizáciou (23 kHz) sme nezaznamenali oddelenie olejovej a vodnej fázy, ani krémovatenie (10 min, 201 x g). Emulzia je stabilná pri preťaženi 201 x g aj kvôli tomu, že obsahuje veľmi nízky podiel olejovej fázy a jej medzi-povrchové vrstvy sú dostatočne stabilizované vyšším podielom detergentov. K stabilite prispievajú aj malé rozmery skvalénových kvapiek. Vysoká odolnosť týchto emulzií sa potvrdila aj počas 8týždňového skladovania.

Rýchlym a dostatočne účinným testom je okrem centrifugácie aj cyklické zmrazovanie a rozmrazovanie. To môže poskytovať cenné údaje v prípade emulzných systémov, ktoré sú si podobné v iných stabilitných charakteristikách⁷. Napriek tomu, že emulzný skvalénový adjuvans MF59 je veľmi stabilný, nemôže sa zmrazovať¹. Výsledok zmrazovacích cyklov a extrémnych teplotných výkyvov závisí aj od veľkosti kvapiek. V emulziách (> 300 nm) prebiehajú ireverzibilné zmeny, kým u mikroemulzií (3–300 nm) bol pozorovaný návrat k pôvodnému stavu¹². V našom pokuse sme prvé pozorovateľné vonkajšie zmeny zaznamenali až po piatom cykle zmrazenia a rozmrazenia. Došlo k čiastočnému rozdeleniu fáz, pričom bol pozorovateľný súvislý prechod medzi vodnou a olejovou fázou.

Na dosiahnutie dostatočnej adjuvantnej účinnosti stačí 2,5% finálna koncentrácia skvalénu¹³. Pretože naša emul-

Tabuľka IV

Zmeny priemerného rozmeru kvapiek emulzií pripravených ultrazvukovým homogenizátorom v závislosti od obalového materiálu (μm) a skleneným homogenizátorom v závislosti od teploty (μm)

0. deň	1 týždeň		3 týždne		5 týždňov		7 týždňov		8 týždňov		
	PE	sklo	PE	sklo	PE	sklo	PE	sklo	PE	sklo	
E _{U8}	0,59 ± 0,20	0,59 ± 0,21	0,58 ± 0,20	0,60 ± 0,22	0,61 ± 0,20	0,59 ± 0,19	0,63 ± 0,19	0,60 ± 0,20	0,62 ± 0,22	0,63 ± 0,18	0,67 ± 0,22
Emulzia	4 °C		4 °C		4 °C		4 °C		4 °C		
E _{S8}	1,56 ± 0,97	1,57 ± 0,96	1,72 ± 1,01	1,61 ± 0,99	1,70 ± 0,97	1,61 ± 0,98	1,71 ± 0,96	1,65 ± 1,00	1,70 ± 0,98	1,68 ± 0,99	1,70 ± 0,97

^a LT – laboratórna teplota

zia nemá slúžiť na riedenie inaktivovanej vakcíny, ale sa pripravuje adjuvantná vakcína v jednom kroku, na prípravu našich emulzií sme použili skvalén v koncentrácii 2,5 % (w/v) a detergenty v celkovej koncentrácii 6 %. Vzhľadom na tento pomer olejovej fázy a detergentov sme predpokladali pri vhodnom spôsobe homogenizácie výskyt relatívne malých kvapiek, čo sa nám pri analýze rozmerov častíc potvrdilo.

Zistili sme aj výrazné rozdiely v rozmeroch kvapiek v závislosti od výrobného procesu. Ultrazvukovou homogenizáciou sme v rovnakých časoch dosiahli značne menšie rozmery kvapiek s menším veľkostným rozptylom ako so skleneným homogenizátorom (po 8 min $0,59 \pm 0,20$, resp. $1,56 \pm 0,97 \mu\text{m}$). Monitorovanie rozmeru a rozptylu veľkostí kvapiek patrí medzi štandardné testy stability vo farmaceutickom, kozmetickom a potravinárskom priemysle. Aj napriek niektorým nevýhodám je test veľmi populárny, pretože poskytuje informácie o vnútorných pomeroch v systéme z dlhodobého hľadiska; ak sú emulzie uchovávané v rôznych podmienkach, najčastejšie sa sleduje závislosť od teploty a času skladovania. Vyššia teplota môže zrýchliť mechanizmy nestability¹⁴.

Najväčšie výkyvy v rozmeroch častíc sme pozorovali počas skladovania u tých emulzií, ktoré mali po príprave najväčšiu priemernú veľkosť a najväčší rozptyl vo veľkostiach. Pri 4 °C sme zaznamenali menšie zmeny v rozmeroch častíc ako pri laboratórnej teplote 22 ± 2 °C. Zmeny nastali nielen v priemernej veľkosti, ale zvýšili sa aj hodnoty smerodajných odchýlok.

Nevýhodou monitorovania stability počas uchovávaní je dlhá doba potrebná pre rozlišovanie rozdielov medzi jednotlivými emulziami aj pri extrémnych teplotách. Tento test má význam, ak vyvinutá formulácia má byť určená pre uchovávanie pri vysokých teplotách (napr. tropické oblasti). Uchovávanie pri 4 °C je dôležité v prípade emulzií obsahujúcich aktívne látky, ako napr. vakcinačné antigény⁷. Naše emulzie boli pripravované práve s týmto účelom.

Niektoré fyzikálno-chemické vlastnosti emulzií priamo ovplyvňujú ich stabilitu. Pre kontrolu kvality emulzie je prospešné meranie viskozity a pH⁷. Skvalén má v porovnaní s inými olejmi menšiu viskozitu¹. Na prípravu emulzií sme použili skvalén v nízkej koncentrácii, preto na výslednú viskozitu vplývala najmä vonkajšia fáza. Menšou mierou vplývajú aj emulzifikátory s celkovou koncentraciou 6 % (w/v) – Poloxamer 105 (Pluronic 105) a Abil-Care 85, ktoré sú vysoko viskózne kvapaliny. Ak v systéme dôjde ku krémovateniu, podľa Stokesovho zákona sa u viskóznejších emulzií tento proces spomalí⁷. Teplota má tiež vplyv na viskozitu. So zvyšujúcou sa teplotou klesá viskozita emulzií¹⁵. Znížená viskozita pri laboratórnej teplote by mohla vysvetľovať zrýchlené krémovatenie v porovnaní s emulziami uchovávanými pri 4 °C.

Test krémovatenia sa väčšinou realizuje u emulzií, ktoré destabilizujú v čase kratšom ako týždeň. Nie je však určený na získanie informácií o nekonečne malých zmenách vo veľkosti častíc a ich koncentracie pri dlhodobom skladovaní¹⁴.

Zmeny pH v emulziách môžu byť takisto prejavom nestability. Pripravené emulzie, u ktorých vnútornou fázou boli rôzne bunkové médiá, obsahovali prídavok tlmivých roztokov na udržanie konštantných hodnôt pH. Zmena pH emulzie pripravenej s destilovanou vodou a uchovávanéj pri 4 °C počas 8 týždňov bola takisto nevýrazná.

Vodivosť emulzií typu o/w sa rovná vodivosti roztokov, ale vodivosť emulzií w/o je zanedbateľná. Náhla zmena vodivosti indikuje inverziu fáz⁶. Namerané hodnoty vodivosti potvrdili, že vonkajšou fázou je voda alebo bunkové médium – vodný roztok. U pripravených emulzií nedošlo k inverzii fáz vzhľadom na pomer obsahu olejovej a vodnej fázy.

V práci sme porovnávali aj vplyv obalového materiálu na stabilitu emulzií. Sledovali sme zmeny v rozmeroch kvapiek a krémovatenie. V sklenených skúmavkách sa prejavilo vyššie percento krémujúceho objemu a v menšej miere sme pozorovali aj intenzívnejšie zväčšovanie častíc v porovnaní s PE skúmavkami u emulzií pripravovaných homogenizáciou kratšou ako 8 min v ultrazvukovom homogenizátore a u všetkých pripravovaných skleneným homogenizátorom.

Príprava emulzií s bunkovými médiami ako vodnej fázy nás utvrdila v predpoklade, že skvalénové emulzie sú vhodné aj na výrobu adjuvantných inaktivovaných vakcín v jednom kroku. Bola pripravená a testovaná parenterálna antirabická vakcína a vakcína proti parvoviróze ošipáných touto technológiou a ukázala sa byť bezpečná a dostatočne účinná aj v porovnaní s komerčnými preparátmi^{9,16}. Vakcína pripravovaná spolu s adjuvansom značne uľahčuje prácu praktického lekára.

Táto práca bola podporená vedeckým grantom VEGA 1/0960/12.

LITERATÚRA

1. Fox C. B.: *Molecules* 14, 3286 (2009).
2. Huang Z. R., Lin Y. K., Fang J. Y.: *Molecules* 14, 540 (2009).
3. Robosky L. C., Wade K., Woolson D., Baker J. D., Manning M. L., Gage D. A., Reily M. D.: *J. Lipid Res.* 49, 686 (2008).
4. Allison A. C.: *Methods* 19, 87 (1999).
5. Das B., Antoon R., Tsuchida R., Lotfi S., Morozova O., Farhat W., Malkin D., Koren G., Yeager H., Baruchel S.: *Neoplasia* 10, 1105 (2008).
6. Komárek P., Rabišková M.: *Technologie léků*. Galén, Praha 2006.
7. Roland I., Piel G., Delattre L., Evrard B.: *Int. J. Pharm.* 263, 85 (2003).
8. Wang J. J., Sung K. C., Yeh C. H., Fang J. Y.: *Int. J. Pharm.* 353, 95 (2008).
9. Süli J., Beníšek Z., Eliáš D., Švrček Š., Ondřejková A., Ondřejka R., Bajová V.: *Vaccine* 22, 3464 (2004).
10. Süli J., Lovásová M., Sobeková A.: *Folia Veterinaria* 56, 56 (2012).
11. André V., Willenbacher N., Debus H., Börger L., Fer-

- andez P., Frechen T., Rieger J.: Cosmetics and toiletries manufacture worldwide. Aston Publishing Group, Florida 1993.
12. Stahl P. H.: The Practice of Medicinal Chemistry. Academic Press, London 2008.
 13. Allison A. C., Byars N. E.: J. Immunol. Methods 95, 157 (1986).
 14. Weiss J.: Current Protocols in Food Analytical Chemistry. J. Wiley, New York 2002.
 15. Ghannam M. T.: Petrol. Sci. Technol. 23, 649 (2005).
 16. Beníšek Z., Süli J., Eliáš D., Lenhardt L., Ondrejková A., Ondrejka R., Švrček Š., Bajová V.: Vaccine 22, 3470 (2004).

E. Slepecká^a, J. Süli^b, J. Radová^b, A. Ondrejková^a, R. Ondrejka^a, M. Prokeš^a, L. Korytár^a, P. Čechvala^a, and J. Harvanová^c (^a Department of Epizootology and Preventive Veterinary Medicine, ^b Department of Medicinal Chemistry, ^c Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Košice): **Determination of Physicochemical Properties and Monitoring Stability of Squalene Emulsions**

The study deals with the preparation of stable emulsions of squalene, which are suitable for production of adjuvant inactivated vaccine. We followed the stability of emulsions prepared at a concentration of squalene 2.5 % (w/v) as well as some of their physical properties. The ideal storage conditions of squalene emulsions were determined by observing the impact of packaging materials on the stability. Higher stability of the emulsions stored in polyethylene compared with those stored in glass containers was observed.

Alerts & Events **Videos & Blogs** **ChemistryViews** **News & Articles**

Join – register – benefit with 300.000+ users on the platform!
 Easy – fast – exciting updated every day for you and your work!

Spot your favorite content:
www.ChemistryViews.org

ChemPubSoc Europe
 WILEY-VCH

PSB_12_39112_5_en