

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**  
**Katedra farmaceutické technologie**

**Diplomová práce**

Hodnocení disoluce tablet obsahujících theofylin a směsi dvou  
typů hydrogenfosforečnanu vápenatého a laktosy

Dissolution testing of tablets containing theophylline and  
mixtures of two types of calcium hydrogen phosphates and  
lactose

Autor: Lucie Dušková

Studijní obor: Farmacie

Vedoucí práce: Doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.

Hradec Králové

2015

## **Prohlášení**

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

V Hradci Králové dne 15.5.2015

.....

## **Poděkování**

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí diplomové práce Doc. PharmDr. Zdeňce Šklubalové, Ph.D. Dále bych velmi ráda poděkovala Mgr. Pavlovi Ondřejčkovi za odborné vedení a pomoc při realizaci a vypracování této práce.

# Obsah

<b>1</b>	<b>Abstrakt</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Abstract</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Zadání</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Úvod</b>	<b>4</b>
<b>5</b>	<b>Teoretická část</b>	<b>5</b>
5.1	Charakteristika surovin . . . . .	5
5.1.1	Laktosa . . . . .	5
5.1.2	Hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát . . . . .	6
5.1.3	Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát . . . . .	7
5.1.4	Stearan hořečnatý . . . . .	8
5.1.5	Theofylin . . . . .	8
5.2	Disoluce . . . . .	9
5.2.1	Typy disolučních metod . . . . .	11
5.2.2	Parametry ovlivňující průběh disolučních testů . . . . .	27
<b>6</b>	<b>Experimentální část</b>	<b>31</b>
6.1	Použité suroviny . . . . .	31
6.2	Použité přístroje a zařízení . . . . .	32
6.3	Použité metody . . . . .	33
6.3.1	Příprava tabletovin . . . . .	33
6.3.2	Lisování tablet . . . . .	33
6.3.3	Příprava kalibrační přímky theofylinu . . . . .	35

6.3.4	Disoluční testy a jejich hodnocení . . . . .	37
6.3.5	Zpracování výsledků . . . . .	38
<b>7</b>	<b>Výsledky</b>	<b>39</b>
7.1	Vysvětlivky k tabulkám a grafům . . . . .	39
7.2	Absorpční spektrum a kalibrační přímka theofylinu . . . . .	40
7.3	Disoluční testy . . . . .	43
<b>8</b>	<b>Diskuze</b>	<b>53</b>
8.1	Hodnocení uvolnění theofylinu v závislosti na poměru plniv . .	53
8.2	Hodnocení uvolnění theofylinu v závislosti na typu hydrogen- fosforečnanu vápenatého . . . . .	55
<b>9</b>	<b>Závěry</b>	<b>57</b>
<b>10</b>	<b>Seznam použité literatury</b>	<b>60</b>

# 1 Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Farmaceutické technologie

Školitel: Doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.

Posluchač: Lucie Dušková

Název diplomové práce: Hodnocení disoluce tablet obsahujících theofylin a směsi dvou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého a laktosy

Cílem této diplomové práce bylo studium vlivu složení tabletoviny na disoluci tablet. K lisování tablet byly použity směsi, které se skládaly ze třech druhů plniv - laktosa, hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát a dihydrát, theofylinu jako modelového léčiva a stearanu hořečnatého jako kluzné látky. U lisovaných tablet byly provedeny disoluční testy. Byla využita košíčková metoda (USP-1) a jako disoluční médium byla použita 0,1 M kyselina chlorovodíková.

Výsledky této práce ukazují, že rozličná plniva mají na průběh disolučních testů různý vliv. Různým poměrem laktosy a obou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého je možné ovlivnit celkové množství a rychlost uvolňování theofylinu z tablet. Nejrychleji se uvolňuje léčivo z tablet lisovaných ze směsí, které obsahují vysoký podíl laktosy. Se snižujícím se množstvím laktosy a zvyšujícím se množstvím obou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého se snižuje jak rychlost uvolnění, tak i množství uvolněného theofylinu. Typ hydrogenfosforečnanu vápenatého neovlivňuje celkové množství uvolněného theofylinu, ale ovlivňuje jeho rychlost uvolňování z tablet.

## 2 Abstract

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradci Králové

Department of: Pharmaceutical technology

Consultant: Doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.

Student: Lucie Dušková

Title of Thesis: Dissolution testing of tablets containing theophylline and mixtures of two types of calcium hydrogen phosphates and lactose

The aim of this diploma thesis was to study effect of the composition of powders on the tablets dissolution. The mixtures that had been used to prepare the tablets that were composed of three types of fillers - lactose, calcium hydrogen phosphate anhydrous and dihydrate, theophylline as model drug and magnesium stearate as lubricant. Dissolution tests were performed using those prepared tablets. Basket dissolution method was used (USP-1) with 0.1M hydrochloric acid as dissolution medium.

The results of this work show that different fillers have different effect on the dissolution tests. Total amount and release speed of theophylline from tablets can be influenced by the ratio of lactose and one of two used types of calcium hydrogen phosphate. The fastest drug release was observed in tablets containing high percentage of lactose. The release speed and also the amount of released drug is decreasing with the increasing amount of both types of calcium hydrogen phosphate and decreasing amount of lactose. Type of calcium hydrogen phosphate is not influencing total amount of released drug but rather its release speed from tablets.

### 3 Zadání

Na katedře farmaceutické technologie je dlouhodobě studována teorie přípravy tablet a hodnocení jejich vlastností. Disoluční testy, kterými se hodnotí uvolňování účinných látek z lékových forem, mají nezastupitelnou roli i při hodnocení vlastností tablet i dalších lékových forem.

V teoretické části této diplomové práce bude zpracován přehled disolučních metod, které se používají k hodnocení uvolňování léčiv z různých lékových forem, včetně faktorů, které mohou ovlivnit disoluční testy. Dále budou charakterizovány suroviny použité v experimentální části.

Cílem experimentální části této práce bude hodnocení disolučních profilů tablet obsahujících theofylin jako modelovou účinnou látku. Ten bude mísen s několika plnivy a kluznou látkou stearanem hořečnatým. Jako plniva bude použita laktosa SpheroLac® 100, hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát DI-CAFOS A150 a hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát DI-CAFOS D160. Z různých směsí theofylinu a pomocných látek budou lisovány tablety. U těchto tablet budou provedeny disoluční testy za účelem porovnání disolučních profilů a zhodnocení vlivu složení tabletovací směsi na průběh a míru uvolňování theofylinu.



## 4 Úvod

Tablety patří v současnosti mezi nejběžněji využívané lékové formy. Mezi jejich hlavní výhody patří snadné a pohodlné použití. Poskytují přesnou dávku aktivní substance a mohou mít speciální vlastnosti, jako například enterosolventní obal nebo modifikované uvolňování. Na druhou stranu je třeba brát na zřetel, že nemusí být vhodné pro každého pacienta (potíže s polykáním, zvracení), některé látky nemohou být podávány perorální cestou (inzulín), mohou mít více nežádoucích účinků, než při podání lokálně (salbutamol), a nakonec biologická dostupnost některých léčiv může být při perorálním podání malá. V takových případech stojí za uvážení použití alternativní lékové formy nebo jiného způsobu podání. U tablet se hodnotí mnoho kritérií, jako například doba rozpadu, hmotnostní stejnoměrnost a pevnost. Mezi další metody jejich hodnocení patří také testy disoluce. [1]

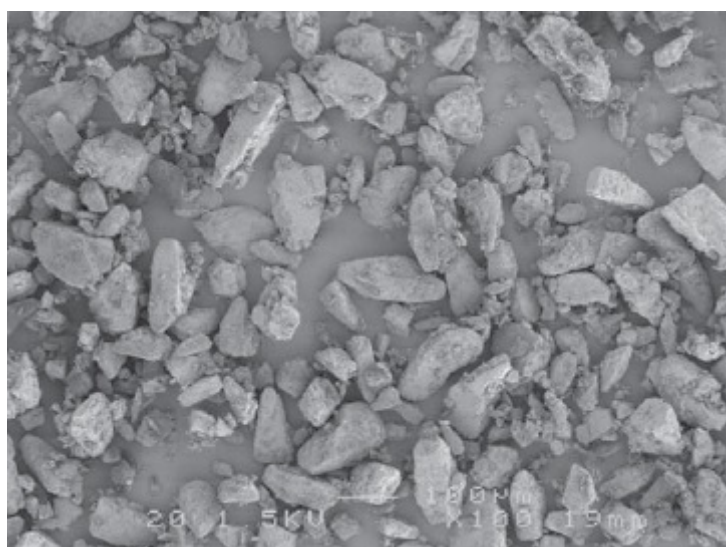
Disoluční studie patří k jednomu z nejdůležitějších metod používaných ve farmacii. Jejich základním principem je hodnocení uvolněného množství účinné látky v daném disolučním médiu za předepsaný čas. Tomuto říkáme disoluční profil léčiva. Testování disoluce se používá napříč celým spektrem farmaceutického průmyslu. Najdeme ho jak ve výzkumu a vývoji nových léčiv, tak při kontrole jakosti během výroby. Na základě disolučních testů můžeme usoudit, jak se bude z dané lékové formy uvolňovat účinná látka v živém organismu. Podle získaných výsledků, zda se léčivá látka uvolňuje příliš pomalu nebo naopak rychle či nedostatečně, můžeme provést úpravu parametrů dané lékové formy, aby vyhovovala našim požadovaným záměrům.

## 5 Teoretická část

### 5.1 Charakteristika surovin

#### 5.1.1 Laktosa

Laktosa (obr. 1) je přírodní disacharid, který je někdy označován jako mléčný cukr, jelikož se nachází v mateřském mléce savců. Její molekula se skládá z galaktosy a glukózy spojených glykosidickou vazbou. V pevném stavu je to bílá krystalická látka nebo prášek, který je bez zápachu a chutná mírně sladce. Vyskytuje se ve dvou krystalických polymorfních formách  $\alpha$  a  $\beta$ , ale může být také amorfní. [2]



Obrázek 1: Lactosa monohydrát - zvětšeno 100x, převzato z [3]

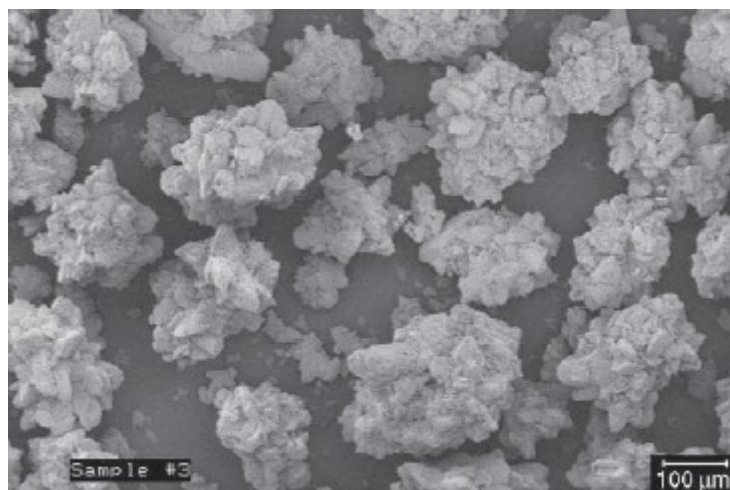
Existuje v několika různých formách, mezi které patří laktosa anhydrát, monohydrát, laktosa určená pro inhalaci a sprejově sušená laktosa, které se liší ve fyzikálních vlastnostech, díky odlišným velikostem částic a tokovým charakteristikám. Čím se dá zajistit výběr nejvhodnější formy pro dané užití. Krystalický monohydrát  $\alpha$ -laktosy o velikosti částic nad  $150 \mu\text{m}$  má dobrou sypnost a špatnou lisovatelnost. Pokud zmenšíme velikost částic, tak se lisovatelnost zlepšuje, ale sypnost se naopak zhoršuje. Proto se tato forma laktosy

modifikovala procesem sprejového sušení, která má výbornou sypanost a lisovatelnost, a proto se dá použít pro přímé lisování. [2] Anhydrát laktosy má díky méně pravidelnému tvaru horší sypanost než sprejově sušená laktosa a díky malému průměru pórů delší dobu rozpadu. [4]

Průmyslově se získává z kravského mléka. Laktosa je díky nízké toxicitě široce využívána i ve farmaceutické praxi. Je nejčastěji využívaným plnivem při výrobě tablet a tobolek. Dále může být použita jako nosič účinné látky v inhalačních přípravcích, také ji můžeme najít v intravenózních injekcích nebo jako součást roztoků případně suspenzí určených k obalování tablet. [3]

### 5.1.2 Hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát

Bezvodý hydrogenfosforečnan vápenatý (obr. 2) bílý prášek nebo krystalická látka, bez chuti a bez zápachu. Povrch mletého hydrogenfosforečnanu vápenatého je alkalický, a tudíž by se neměl používat u látek, které jsou citlivé na alkalické pH (pH vyšší než 7). Má abrazivní vlastnosti na trny a matrice tabletovaček a při tabletování je potřebné použít kluznou látku.



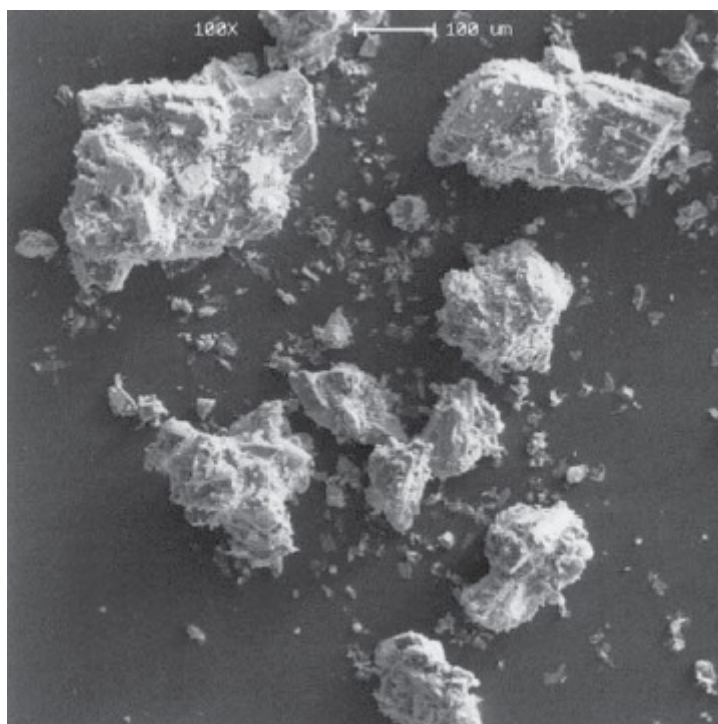
Obrázek 2: Hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát - zvětšeno 200x, převzato z [5]

Ve farmaceutickém průmyslu se používá jako pomocná látka. Díky jeho dobrým tokovým vlastnostem se používá jako plnivo k přímému lisování tablet. Dá se ale také použít při vlhké granulaci, zde se uplatňují částice

menších a středních velikostí. Díky nízké toxicitě je široce používán jako plnivo ve farmaceutických produktech. Pro jeho abrazivní vlastnosti se dá využít při formulaci zubních past. [5]

### 5.1.3 Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát

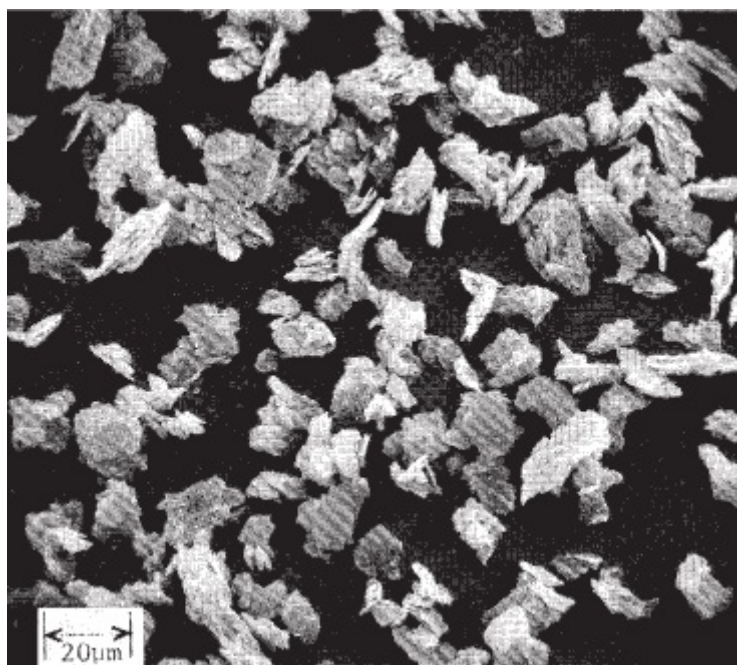
Dihydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého (obr. 3) je bílá krystalická látka nebo prášek bez chuti a bez zápachu. Dihydrát hydrogenfosforečnanu má podobné vlastnosti jako anhydrát co se týká zásaditosti, lisovatelnosti a abrazivity. Na rozdíl od anhydrátu hydrogenfosforečnanu vápenatého nemá dihydrát tendenci, při vysokém tlaku a pokud jeho použito značné množství, víčkovat. [5] Používá se jako plnivo ve farmaceutickém průmyslu, dále v potravinářství a kosmetickém průmyslu. Je relativně netoxický, ale velké množství může vyvolat zažívací potíže. [6]



Obrázek 3: Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát - zvětšeno 100x, převzato z [6]

#### 5.1.4 Stearan hořečnatý

Stearan hořečnatý (obr. 4) je bílý prášek, který slabě zapáchá po kyselině stearové a má charakteristickou chuť. Na dotyk je mazlavý a snadno adhezuje ke kůži. Je široce používán v kosmetice, potravinářství a farmaceutickém průmyslu. Primárně je využíván jako kluzná látka, která v případě tabletování snižuje lepení tabletoviny na trny, zvyšuje sypnost a snižuje tření mezi maticí a vysouvanou tabletou. Stearan hořečnatý má hydrofobní vlastnosti a může zpomalovat disoluci pevných lékových forem, proto je potřeba použít co nejmenší možné množství. [7]



Obrázek 4: Stearan hořečnatý - zvětšeno 600x, převzato z [7]

#### 5.1.5 Theofylin

Theofylin je bílý krystalický prášek, bez zápachu, hořké chuti, který je těžce rozpustný ve vodě. Patří mezi látky ze skupiny methylxantinů a jeho přirozeným zdrojem jsou čajové listy. [8]

Jeho účinky (např. bronchorelaxační, diuretické, stimulace centrálního nervového systému) se vysvětlují inhibicí fosfodiesterázy a antagonistickým

působením na adenosinové receptory. Pro své bronchodilatační účinky se používá k léčbě astmatu a bronchospasmu. Při profylaktické léčbě, k prevenci záchvatů, se podává perorálně, naopak k ukončení akutního záchvatu se podává parenterálně. Dnes se využívá méně zejména díky nežádoucím účinkům a nástupu inhalačních bronchodilatancií a protizánětlivých látek, které jsou výhodné díky lokálnímu působení, čímž mají minimum systémových nežádoucích účinků. Theofylin se obvykle používá jako léčivo do kombinace s dalšími látkami. Mezi nežádoucí účinky patří nauzea, zvracení, bolesti v epigastriu, při předávkování potom křeče a arytmie. Vzhledem k tomu, že je theofylin léčivo s úzkou terapeutickou šíří, tak se mohou projevy předávkování vyskytnout i u pacientů s terapeutickými plazmatickými koncentracemi, a proto je při terapii potřeba kontrolovat hladiny theofylinu v krvi. [9] [10]

## 5.2 Disoluce

Disoluční studie patří mezi základní testy používané ve farmacii při vyhodnocování uvolňování aktivních látek z pevných a polotuhých lékových forem. [11] Základním principem, který se u disoluce hodnotí, je uvolnění léčivé látky z lékové formy v předepsaném disolučním médiu v předepsaném čase (disoluční profil léčiva). Disoluční médium představuje prostředí v žaludku a ve střevech, kde dochází k absorpci většiny léčiv. Hodnoty disoluční kapaliny nejsou zvoleny náhodně, ale jsou vybrány podle hodnoty pH, která se nachází v příslušných částech trávicího traktu, v níž se dané léčivo rozpouští. To v praxi znamená, že pokud budeme chtít nasimulovat prostředí žaludku, které má pH kolem 1 až 2, tak použijeme nejčastěji kyselinu chlorovodíkovou v různé koncentraci nebo pufr s hodnotou pH kolem 1,2. Stejně to platí pro tenké střevo s hodnotou pH větší než sedm a v tlustém střevě, kde se nachází pH kolem 6 až 8, ale díky vysoké koncentraci zbytků potravy je zde vstřebávání léčiv méně významné oproti střevu tenkému. [12]

Disoluční testy patří k široce užívaným metodám napříč celým spektrem farmaceutického průmyslu. Najdeme ji jak ve výzkumu a vývoji nových léčiv,

tak doprovází kontrolu správnosti výrobního procesu, kdy je to jeden ze základních prvků kontroly řízení jakosti. V oblasti jištění jakosti je metoda disoluce využívána ke kontrole, že výrobek dosahuje stanovených specifikací ve všech důležitých krocích výroby a tudíž dochází k produkci konsistentních produktů bez výrobních odchylek. Toto je důležité pro deklaraci, že nedochází k odlišnostem mezi jednotlivými výrobními šaržemi léčivého přípravku. [13] V oblasti výzkumu a vývoje můžeme na základě disolučních testů zčásti odhadnout chování lékové formy při uvolňování účinných látek ve vztahu k in vivo testování. Toto testování je však možné pouze za předpokladu, že in vitro a in vivo chování dané lékové formy je stejné nebo přinejmenším podobné. Nelze jim však nahradit stanovení biologické dostupnosti. [14] Musíme, ale brát v úvahu další faktory jako je potrava, enzymatická aktivita, mechanický stres (motilita gastrointestinálního traktu) a další, které správnost odhadu zkreslují. Disoluční testování je dále součástí registrace každého generického přípravku, kdy se předkládají registrační autoritě disoluční studie, které srovnávají disoluční profily mezi generikem a originálním registrovaným farmaceutickým přípravkem.

Rychlost uvolňování léčivé látky z lékové formy, nebo jestli se vůbec bude uvolňovat, závisí na několika faktorech: [15]

1. Fyzikálně-chemické vlastnosti použitých látek (rozpustnost, krystalinita, tvar krystalů, polymorfie, velikost částic a jejich tvar, porosita)
2. Komponenty formulace (velikost excipientů a jejich poměr, pufrovací látky, surfaktanty, tvorba komplexů)
3. Výrobní postup (postup při míchání surovin, využití vlhké granulace, tlak při tabletování)
4. Fyzikální vlastnosti lékové formy (smáčivost, penetrace disolučního média, bobtnavost, rozpadavost, deagregace)

K tomu, abychom mohli správně provést disoluční zkoušku, je potřeba navrhnout vhodnou analytickou metodu. Její součástí by měly být tyto podmínky: [16]

1. vhodný typ disolučního přístroje v závislosti na lékové formě
2. složení, objem a teplota disolučního média
3. rychlost otáček, případně průtoková rychlost při stanovení disoluce pomocí průtokové cely
4. čas, způsob a množství odebraného vzorku roztoku ke stanovení účinné látky / látek, v případě stanovení disolučního profilu časy a množství odebíraných vzorků, případně podmínky pro automatické vyhodnocování
5. vhodná analytická metoda stanovení množství účinné látky (spektrofotometrie, kapalinová chromatografie)
6. metoda vyhodnocení
7. limity vyhodnocení disoluce daného přípravku v čase (podle lékopisných požadavků)

### **5.2.1 Typy disolučních metod**

Disoluční testy lze provádět několika způsoby, přičemž výběr správné metody závisí na vlastnostech dané lékové formy. Podle amerického lékopisu dělíme disoluční metody na sedm typů: USP1-USP7. Český lékopis pro hodnocení pevných lékových forem používá první 4 typy.

#### **5.2.1.1 USP 1: Aparát s košíčkem**

Přístroj pro košíčkovou metodu, který můžeme vidět na obrázku 5, je tvořen z nádoby s víkem, které zabraňuje vypařování disolučního média a je vyrobena z chemicky inertního materiálu. Z tohoto materiálu musí být vyrobeny



všechny části aparatury, které se dotýkají disolučního média či přímo hodnocené lékové formy. Vhodný materiál nereaguje, neinferuje ani neabsorbují disoluční kapalinu ani zkoušené látky. Vhodnými materiály se jeví například sklo nebo nerez.



Obrázek 5: Přístroj pro košíčkovou metodu, převzato z [17]

Nádoba je naplněna čistou vodou, v které je částečně ponořeno sedm válcových nádob s kulatým dnem vyrobených ze skla, jenž mají objem 1000 ml, a které mohou nebo nemusí být zakryty víkem. Nádoby musí být ponořeny svisle, což zajišťuje správnou práci disolučního zařízení. Ke kontrole se používá vhodné měřidlo, které stanovuje svislost na dvou místech, které by měly svírat úhel 90 °C. Rozměry nádob jsou dány lékopisem: výška se musí nacházet mezi 160 mm až 210 mm a vnitřní průměr mezi 98 mm až 160 mm. [1]

Další součástí aparatury je hřídel, která je ukončena válcovitým košíčkem, který je viditelný na obrázku 6. Košíček se skládá ze dvou částí. Vrchní část košíčku tvoří horní příruba, jež spojuje košíček s hřídelí, která je poháněna motorem. K přírubě jsou připevněna tři pružná péra, která ji spojují s tubem košíčku, do kterého se vkládá zkoušený přípravek. Košíček je tvořen sítkou válcového tvaru, která je nahoře a dole zasazena do úzkých prstenců. Průměr drátu tvořící sítku a velikost otvorů sítky je definován lékopisem a musí mu odpovídat. Košíček je vyroben z nerezů nebo jiného inertního kovu. Upevnění košíčku k hřídeli musí být velice pevné, aby nemohlo dojít buď k vychýlení od středové osy vnější nádoby během zkoušení, anebo přímo pádu košíčku na dno nádoby. Vychýlení košíčků se opět kontroluje vhodným měřidlem. [1]



Obrázek 6: Detailní pohled na košíček, převzato z [17]

Na začátku testování musí být stanoveny parametry, kterými jsou teplota, otáčky a čas analýzy. Testování probíhá při částečném ponoření vnější nádoby do vodní lázně, která by měla být vytemperovaná na danou teplotu. Teplota disolučního média by po celou dobu měření měla být  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , což je kontrolováno teploměrem. Disoluční médium, jenž simuluje gastroin-

testinální šťávy, je po dobu zkoušky ve stálém a plynulém pohybu bez značného chvění, košíček je umístěn  $25 \pm 2$  mm ode dna nádoby. Celá aparatura musí být umístěna pevně, aby nemohlo docházet k třesení, vibracím a pohybu žádné části zařízení, což by mělo za následek chybné výsledky. [18]

Zkoušení začíná vložením zkoušené jednotky do suchého košíčku. Během zkoušení se tablety rozpouštějí a uvolňuje se testovaná látka, v předepsaný čas se pomocí kanyl odebírají vzorky, které se následně vyhodnocují pomocí vhodných analytických metod. Tento aparát patří spolu s aparátem s míchadlem k nejčastěji využívaným přístrojům pro testování disoluce pevných lékových forem. Mezi výhody patří snadná manipulace, standardizace a poměrně dlouhodobé zkušenosti. Nevýhodou aparátu s košíčkem je jeho limitovaný (fixní) objem a dá se tak použít pouze pro uzavřený model hodnocení léčiv. To znamená, že se rozpuštěné léčivo kumuluje v systému. Naproti tomu v in vivo systému se léčivo dále absorbuje a distribuuje do dalších systémů. Dále může docházet k plavání zbytku na povrchu, lepení na dno, případně nestejně hydrodynamice v různých částech, což způsobí mylné výsledky. Výsledky jsou také signifikantně ovlivnitelné vibracemi, třesením, správným vycentrováním středové osy a lokací.

Aparát podle USP 1 použil Adrover a kolektiv. [19] Studie pojednává o orálně dispergovatelných filmech, které by v dnešní době mohly představovat alternativu k pevným lékovým formám. Mezi jejich výhody patří zvýšená biodostupnost a vysoká compliance, tudíž by se orální filmy daly použít jako alternativa pro nonkompliantní pacienty, jako jsou děti, senioři, pacienti upoutaní na lůžko a obecně všechny, kteří mají problém s polykáním klasických pevných lékových forem. Orální filmy vyrobené z polymerního materiálu jsou obvykle tenčí než  $100 \mu\text{m}$  a mají velikost a tvar poštovní známky. Při styku se slinami dochází k rychlé hydrataci a film vytváří gel. V této studii bylo pro hodnocení disoluce těchto filmů použito disoluční zařízení s košíčkem (USP 1) a pádlem (USP 2), které byly srovnávány s aparátem s průtokovou celou (USP 4), která díky laminárnímu proudění o rychlosti 1 ml/min napodobuje

fyziologické podmínky v ústech. Pro testy byly použity komerční orální filmy s melatoninem o dvou silách, a to 1 mg a 5 mg.

K testování podle USP 1 a USP 2 byl použit disoluční přístroj Sotax AT6 při rychlosti 50 a 100 otáček za minutu. Jako disoluční médium byla zvolena destilovaná voda a pufr o pH 6,7, který napodobuje sliny, o množství 500 ml a teplotě  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . U průtokové cely byly použity rychlosti 2, 5, 10, 14, 20 ml/min a jako disoluční médium byla použita pouze voda o stejném objemu a teplotě jako u předchozích zařízení. Ve stanovený čas (1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30 minut pro USP 1 a 2, u USP 4 další odběr probíhal v 45, 60, 90, 120 a 150 minut) byly odebrány vzorky o objemu 5 ml, které byly následně přefiltrovány a analyzovány UV/VIS spektrofotometrem Lamda 25 o vlnové délce 279 nm. Výsledky byly zpracovány do kalibračních křivek (závislost množství uvolněné látky v procentech na čase).

Pokud budeme shrnovat výsledky, tak se dá říci, že při použití aparátu podle USP 1 při vyšším počtu otáček dochází k rychlejšímu uvolňování léčiva, kdy k uvolnění 80 % potřebujeme jen pár minut (méně než 5 minut) v obou disolučních médiích. Pokud ale budeme srovnávat rychlost uvolňování léčivé látky v závislosti na disolučním médiu při stejné rychlosti otáček, tak je disoluce v médiu napodobujícím sliny pomalejší, což je více patrné u použití přístroje podle USP 2. Při použití vody jako disolučního média nedochází k žádným signifikantním rozdílům mezi aparáty podle USP 1 a USP 2. Dále byly srovnávány disoluční profily USP 1 a USP 2 při rychlosti 50 otáček za minutu s výsledky z průtokové cely o rychlosti 20 ml/min (vyšší než normální průtoková rychlost slin) ve vodě jako disolučním médiu. Rychlost disoluce u přístroje s průtokovou celou byla signifikantně pomalejší než rychlost v prvních dvou zmiňovaných aparátech, a to přibližně o 10 minut. Z toho vyplývá, že dochází ke kvantitativnímu rozdílu mezi aparátem s košíčkem / pádlem a aparátem s průtokovou celou, která by měla co nejpřesněji napodobovat fyziologické podmínky. Kdy dochází k významnému přeceňování kinetiky uvolňování a naopak podceňování potřebného času k celkovému uvolnění zkoumané látky. To naznačuje, že bychom měli být více obezřetní

při použití aparátu USP 1 a USP 2 k předpovědi uvolňování léčiva z orálních filmů v prostředí stimulujícím podmínky v ústech.

### 5.2.1.2 USP 2: Aparát s míchadlem (pádlem)

Přístroj s míchadlem (pádlem), který můžeme vidět na obrázku 7, pracuje na stejném principu a vypadá podobně jako přístroj s košíčkem. Košíček je však nahrazen lopatkovitým míchadlem, které musí odpovídat rozměrům uvedeným v lékopise a opět musí být pevně uchyceno k hřídeli, aby nedocházelo k vibracím a chvění, které by mohlo ovlivnit průběh analýzy a konečné výsledky. Lopatkovité míchadlo, viditelné na obrázku 8, je vyrobeno z inertního kovu a jeho hlavní funkcí je regulace rychlosti otáčení, což by mělo zaručit rovnoměrné proudění disoluční kapaliny a tudíž homogenní prostředí uvnitř nádoby. Stejně jako u aparátu s košíčkem je potřeba stanovit vstupní parametry jako otáčky, teplotu, čas analýzy.

V případě aparátu s pádlem se jednotka zkoušeného přípravku vloží na dno skleněné nádoby, ještě před spouštěním míchadla. Je potřeba zajistit, aby tableta nebo tobolka neplavala na hladině nebo se nevznášela v disolučním médiu, což se dělá přidržením tablety u dna pomocí malého spirálovitě zatočeného drátku, kterému se říká sinker. Průběh analýzy probíhá stejně jako u metody podle USP 1.

Klady a zápory jsou stejné jako u metody podle USP1. Metoda jednou z metod první volby pro hodnocení pevných lékových forem, žvýkacích tablet, tobolek, orálně dispergovatelných lékových forem. [20]

Aparát s míchadlem byl využit u studie zmiňované u aparátu podle USP 1, dalším příkladem je studie, kterou provedl Kilen a kolektiv. [21] Tato studie prozkoumává možnost použití mastných kyselin jako nosiče léčiv. V tomto případě se jedná o využití kyseliny stearové vzhledem k její biokompatibilitě, biodegradabilitě, nízké finanční náročnosti a nízké toxicitě. Studie sleduje závislost uvolnění léčiva na rychlosti otáčení, tlaku vyvinutém při lisování tablety a velikosti částic.



Obrázek 7: Celkový pohled na aparát s míchadlem, převzato z [17]

Nejprve byly lisovány tablety skládající se z kyseliny benzoové, která je zde použita jako modelová účinná látka a kyseliny stearové, která je zde nosičem. K testování disoluce byl použit aparát podle USP 2 při variabilní rychlosti otáček (50, 100, 150, 200 otáček za minutu). Jako disoluční médium byl použit fosfátový pufr o pH 7,4 a teplota byla udržována na 37°C. Vyhodnocení odebraných vzorků proběhlo spektrofotometricky.

Pokud budeme shrnovat výsledky studie, zjistíme, že uvolnění kyseliny benzoové bylo nezávislé na rychlosti otáčení v intervalu 50 - 150 otáček za minutu. Při zvednutí rychlosti na 200 otáček za minutu došlo k zvýšení uvolnění účinné látky v pozdějším čase, kdy se závislost uvolnění stala nelineární. Po pěti hodinách při rychlosti 200 otáček za minutu bylo množství uvolněné látky



Obrázek 8: Pohled na míchadlo, převzato z [17]

vyšší o 40 % oproti nižším rychlostem. Uvolnění účinné látky bylo nezávislé na lisovacím tlaku. Naproti tomu velikost částic kyselin benzoové a stearové disoluci značně ovlivňuje. Částice o velikosti 250 - 500  $\mu\text{m}$  mají konstantu uvolnění ( $\text{g}/\text{cm}^2$  za  $\text{min}^{0,5}$ ) 1,5 x větší než malé částice o velikosti 63 - 125  $\mu\text{m}$ . Množství uvolněné látky roste s větším poměrem účinné látky k celkové hmotnosti tablety.

### 5.2.1.3 USP 3: Aparát s vratným válcem

Přístroj s vratným válcem, který je zobrazen na obrázku 9, se skládá z několika řad skleněných válcovitých nádob, které jsou částečně ponořeny ve vodní lázni vytemperované na  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , a které jsou naplněny disolučním kapalinou. Na začátku každé řady válcovitých nádob se nachází skleněný vratný válec,

který vidíme detailněji na obrázku 10, který je z obou stran překryt sítkou. Rozměry skleněných nádob i vratného válce jsou dány lékopisem. [1]



Obrázek 9: Aparát s vratným válcem, převzato z [17]

Testovaná jednotka se vkládá dovnitř vratného válce za suchého stavu. Při samotném průběhu zkoušky se vratný válec pohybuje svisle nahoru a dolů po dráze 10 cm. Obvyklá rychlost činí 5 až 25 ponoření za minutu. Válec se může pohybovat horizontálně do dalších nádob ve vedlejší řadě. Pohybem nahoru a dolů dochází k uvolnění léčivé látky.

Zařízení se původně používalo k testování disoluce lékových forem s prodlouženým uvolňováním, tobolek naplněných peletami. Zařízení se dá také použít u pevných nerozpadajících se lékových forem.





Obrázek 10: Pohled na vratný válec, převzato z [17]

Mezi klady tohoto aparátu patří možnost jednoduší stimulace podmínek gastrointestinálního traktu, jelikož můžeme stimulovat změny pH a tranzitních časů. Díky většímu množství nádob je možno sledovat uvolňování účinné látky v několika médiích najednou. Můžeme mít například v několika nádobách pH 1,2, což odpovídá prostředí v žaludku a postupně ho zvedat až třeba do pH 7,5, což odpovídá pH v tlustém střevě. Přičemž můžeme řídit rychlost a čas v jednotlivých fragmentech. Další výhodou je, že se média dají jednoduše měnit. Výhodou se také může zdát možnost ověření odolnosti lékové formy vůči silnému mechanickému stresu. Mezi nevýhody aparátu s vratným válcem patří malý objem disolučního média. To je problematické při použití surfaktantů, které mohou způsobit pění. Dále není vhodný pro

lékové formy, které se rozpadají na malé části, které by mohly propadnout sítkou do disolučního média a tudíž by se nedostaly do prostředí s jiným pH. Při dlouhém testování dochází k vypařování médií. [15]

Aparát s vratným válcem byl použit například ve studii, kterou provedl Wong a kolektiv [22], kde vyhodnocoval chování několika lékových forem s cíleným uvolňováním léčiva, přesněji řečeno uvolněním v tračníku při léčbě ulcerativní kolitidy. K cílení léčiva do tračníku zde byla použita guarová guma, což je polysacharid, který degraduje až v tlustém střevě díky působení zdejších mikrobakterií. Dochází k štěpení glykosidických vazeb.

Jako účinné látky byly použity dexamethason a budesonid, které byly zakomponovány do 4 různých formulací (3 s dexamethasonem, 1 s budesonidem), které se lišily přidanými pomocnými látkami (různé druhy hydroxypropylmethylcelulosity HPMC). Při testu byly použity tři disoluční média, jejichž cílem bylo napodobit prostředí gastrointestinálního traktu o objemu 250 ml. V prvním médiu napodobujícím žaludeční šťávy (SGF) zůstaly tablety 2 hodiny, v druhém představujícím střevní šťávy (SIF) 4 hodiny a konečně v posledním médiu napodobujícím prostředí v tračníku (SCF) zbylých 18 hodin. Celkově byly tablety sledovány 24 hodin. V určených časech byly odebrány vzorky o objemu 6 ml, které byly posléze vyhodnoceny chromatograficky.

Výsledky disolučních profilů této práce ukazují, že uvolnění léčivé látky je závislé, jak na formulaci tablety, tak na rychlosti ponoru při disoluci. Obecně se dá říci, že tablety s vyšší koncentrací HPMC byly relativně nezávislé na rychlosti ponoru v prostředí SGF, SIF. Naproti tomu u tablet s nižší koncentrací HPMC při rychlosti 30 ponorů za minutu došlo k rozpadu během prvních dvou hodin testu. V prostředí SCF byla rychlost ponoru snížena na 2 - 5 ponorů za minutu, kdy uvolnění léčiva bylo stále závislé na rychlosti. Další závislost rychlosti uvolnění byla na koncentraci enzymů hydrolyzujících guarovou gumu. Čím vyšší koncentrace guarové gumy, tím rychlejší uvolnění účinné látky, jak budesonidu, tak dexamethasonu, přičemž budesonidu se pravděpodobně díky malé solubilitě ve vodě dostane do tlustého střeva více než dexamethasonu. Výsledky naznačují, že by lékové formulace na bázi gu-

arové gummy mohly být použitelné v léčbě ulcerózní kolitidy nebo Crohnovy choroby.

#### 5.2.1.4 USP 4: Aparát s průtokovou celou

Aparát s průtokovou celou, který vidíme na obrázku 11, se skládá ze zásobní nádoby na disolučním médium a průtokové pumpy, která vytlačuje disolučním médium přes vlastní průtokovou celu. Doba průtoku může být například 4 ml/min, 8 ml/min a 16 ml/min s pulzací  $120 \pm 10$  pulzů/min nebo s nepulzujícím průtokem. Průtoková cela je během analýzy vložena ve vodní lázni, která udržuje teplotu disolučního média. Vodní lázeň je temperována na  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .



Obrázek 11: Příklad přístroje s průtokovou celou, převzato z [17]

Průtoková cela je tvořena z průhledného, inertního materiálu. V horní části je cela svisle spojena s filtračním systémem, který zabraňuje úniku nerozpuštěných částic z horní části cely. Do filtrační jednotky se vkládají papírové

filtry, skleněné nebo celulosové. Dolní část, která je kuželovitého tvaru, je naplněna malými skleněnými kuličkami o průměru 1 mm a jednou kuličkou o průměru 5 mm, jež je umístěna do špičky kužele. Větší kulička slouží k zabránění vniknutí tekutiny do průtokové cely. [1]

Při disoluci pomocí aparátu s průtokovou celou se zkoušená jednotka vloží do držáku pro dávkovou jednotku nebo se položí na skleněné kuličky. Po zahájení testování se čerpá disoluční médium skrz dno nádoby, tak aby se dosáhlo požadované rychlosti průtoku. Přípravek se rozpadá v disolučním médiu podle svých fyzikálně-chemických vlastností. Vzorky se odebírají při výstupu z cely.

Tento aparát se dá použít jako systém uzavřený, tak jako systém otevřený. Dále se dá nastavit teplota a průtokový čas. Různorodost nastavení průtokové cely vede k tomu, že se aparát dá použít pro testování široké palety lékových forem. Můžeme ji použít pro tablety, tvrdé želatinové tobolky, granule, implantáty, čípky, masti, měkké želatinové tobolky a suspenze. [15]

Mezi klady tohoto zařízení patří, v případě použití otevřeného systému, neomezené množství disolučního média, které může být použito pro testování. Další výhodou je použitelnost aparátu pro špatně rozpustné produkty, pro které je přístroj s průtokovou celou metodou volby. Aparát charakterizují mírné hydrodynamické podmínky a je v něm možno simulovat gastrointestinální transit, jako je adsorbční proces, který probíhá po koncentračním gradientu. A nakonec mezi klady patří i použitelnost u forem jako jsou např. implantáty, granule a prášky. Vzhledem k omezeným zkušenostem s přístrojem s průtokovou celou, nejsou známi všechny faktory ovlivňující přesnost měření.

Zařízení podle USP 4 použil J. R. Medina a kolektiv, viz [23]. Jejich studie srovnává disoluční profily čtyř generických přípravků s karbamazepinem (500 mg) s rychlým uvolňováním s jedním referenčním přípravkem pomocí aparátu s míchadlem (USP 2) a aparátu s průtokovou celou (USP 4). Karbamazepin, který se používá k léčbě epilepsie a dalších neurologických poruch, patří mezi špatně rozpustná léčiva. Oficiálně, podle amerického lékopisu, se karbamazepin testuje pomocí aparátu s pádlem, kdy se musí během prvních

15 minut uvolnit 45 - 75 % účinné látky a po 60 minutách musí být uvolněno více než 75 % karbamazepinu. Aparát s průtokovou celou by mohl díky svým výhodám představovat alternativu k tradičně používanému aparátu podle USP 1 a 2.

Při testování na aparátu s pádlem bylo použito 900 ml disolučního média 1% vodný roztok laurylsulfátu sodného, při teplotě  $37 \pm 0,5$  °C a rychlosti otáčení 75 otáček za minutu. Celkový čas testu byl stanoven na 60 minut a vzorky byly odebírány po 5 minutách. U testu na aparátu s průtokovou celou bylo použito stejné disoluční médium, teplota a časy odběrů, průtoková rychlost byla 16 ml/min. K vyhodnocení byl použit spektrofotometr s nastavenou vlnovou délkou 875 nm.

Za použití oficiálních podmínek, to znamená aparátu USP 2, mají všechny čtyři generické produkty podobný disoluční profil jako referenční produkt a uvolnění karbamazepinu v čase splňuje požadavky dané americkým lékopisem. Na druhou stranu při použití zařízení s průtokovou celou (USP 4) žádný z produktů nesplňuje požadavky na množství karbamazepinu, které by se mělo uvolnit po 15 minutách a u jednoho z generik nedojde k uvolnění více než 75 % karbamazepinu ani po 60 minutách. Při této metodě žádný z disolučních profilů generik neodpovídá disolučnímu profilu referenční látky. Disoluce všech pěti testovaných přípravků při použití průtokové cely probíhá pomaleji než při použití aparátu s míchadlem. Výsledky ukazují, že přístroj s průtokovou celou, na rozdíl od přístroje s míchadlem, dokáže identifikovat signifikantní rozdíly mezi rychlostí a uvolněným množstvím karbamazepinu s rychlým uvolňováním. Rozdíly v disoluci by mohly naznačovat rozdíly v bioekvivalenci, což by bylo potřeba potvrdit in vivo testy.

#### **5.2.1.5 USP 5: Aparát s pádly nad diskem**

Aparát s pádly nad diskem (disková metoda) se podobá aparátu podle USP 2. Je to ve své podstatě disoluční přístroj s míchadlem, který je vybaven diskem z nerezové oceli ve formě síčky. Otvory síčky jsou dány lékopisem. Hlavní

funkcí disku je přidržování zkoušeného přípravku u dna nádoby a v rovné poloze. Disk je orientován rovnoběžně se spodní hranou listu míchadla, kdy vzdálenost mezi listem míchadla a povrchem disku je  $25 \pm 2$  mm. Teplota vodní lázně je udržována na  $32 \pm 0,5$  °C. [1]

Při testování disoluce se transdermální náplast připevní tak, aby strana náplasti, z níž dochází k uvolňování účinné látky, byla orientována směrem vzhůru a povrch byl rovný a nepřesahoval velikost disku. Náplast je přichycena pomocí předepsaného lepidla nebo oboustranné lepicí pásky, které stejně jako všechny části aparátu musí být chemicky indiferentní. V předepsaný čas se odebírají vzorky z předepsané části aparátu.

Aparát se používá k testování transdermálních náplastí. [15]

Tento aparát použil Ming Man a kolektiv, viz [24]. Studie se zabývá srovnáním disolučních profilů transdermálních systémů s nitroglycerinem při použití třech typů modelů disků. Jako disoluční přístroj byl použit aparát s pádly nad diskem (USP 5). K testování bylo použito pět transdermálních systémů s nitroglycerinem o dvou velikostech. Nádoby byly naplněny 500 ml neionizované vody o teplotě  $32 \pm 0,3$  °C, rychlost otáčení byla 50 otáček za minutu. Vzorky byly odebrány po 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 14 a 24 hodinách a byly vyhodnoceny pomocí HPLC.

Výsledky ukazují, že všechny tři typy modelů disků (držáků pro transdermální systémy) mají velice podobné disoluční profily a že jsou všechny tyto metody reprodukovatelné a použitelné pro charakterizaci všech transdermálních systémů. Jednotlivé modely disků jsou podle výsledků této studie zaměnitelné.

#### **5.2.1.6 USP 6: Aparát s rotujícím válcem**

Při zkoušce disoluce podle USP 6 se použije disoluční aparát s míchadlem, kdy se list míchadla a hřídel nahradí válcem z nerezové oceli. Vzdálenost mezi dnem nádoby a válcem je  $25 \pm 2$  mm. Vodní lázeň je vyhřívána na teplotu  $32 \pm 0,5$  °C. [1]

Před zahájením zkoušky se z náplasti odstraní ochranná krycí vrstva a náplast se přilepí adhezivní stranou na vhodnou membránu, která by měla být z porézního a chemicky inertního materiálu. Membrána musí přesahovat náplast nejméně o 1 cm. Náplast se umístí na vyčištěný povrch válce tak, aby okraje membrány byly ve styku s tímto povrchem. Náplast se nalepí tak, aby strana, ze které se uvolňuje lepidlo, byla ve styku s disoluční tekutinou. Lepidlo se nanese na okraje membrány nebo na zadní stranu náplasti, případně se dá použít oboustranná lepicí páska. Lepidlo i páska musí být indiferentní k použité analytické metodě a nesmí adsorbovat zkoušenou léčivou látku, případně látky.

Válec se připojí k přístroji a posléze se uvede do pohybu. Dochází k rotaci válce, který je charakterizován počtem otáček. V uvedený čas se odeberou vzorky a vhodnou analytickou metodou se vyhodnotí. Přípravek se vyhodnocuje jako množství účinné látky uvolněné z náplasti v určitém čase, kdy se to vyjadřuje jako množství látky na jednotku plochy povrchu náplasti za jednotku času. Přípravek vyhovuje, pokud je výsledek v požadovaném rozmezí.

Metoda podle USP 6 se stejně jako metoda USP 5 používá k hodnocení disoluce transdermálních náplastí. [15]

#### **5.2.1.7 USP 7: Aparát s vratným držákem**

Aparát podle USP 7 je podobný aparátu podle USP 3, s tím rozdílem, že má jiné rozměry. Aparát s vratným diskem byl poprvé představen jako možnost při testování transdermálních náplastí, za předpokladu, že nám stačí malý objem disolučního média. Postupně byly přidány další nástavce, které umožňují použitelnost i u jiných lékových forem za předpokladu možnosti použití malého množství disolučního média. [15]

Teplota vodní lázně se určí podle lékové formy, např. pokud použijeme transdermální náplast, budeme lázeň vyhřívat na  $32 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ , v případě použití tablet pak na  $37 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ . Při zkoušce se aparát pohybuje svisle nahoru a dolů po ose 20 mm o rychlosti 20 až 50 ponoření za minutu.

Aparát se dá použít pro testování lékových forem s modifikovaným uvolňováním např. transdermální náplasti, tablety, tobolky, implantáty.

Aparát podle USP 7 použila Marilyn X. Zhou a kolektiv, viz [25]. Článek se zabývá srovnáním uvolnění skopolaminu z transdermálních náplastí při využití dvou modelů aparátů od různých výrobců dle USP 7. Skopolaminové náplasti se využívají jako prevence nauzei a zvracení v důsledku cestování dopravními prostředky.

Jednotlivé disoluční nádoby byly naplněny 20 ml disolučního média, byla použita destilovaná voda vyhřátá na teplotu  $32 \pm 0,5$  °C. Rychlost ponořování nádob byla 45 ponorů za minutu. Náplasti, kterých bylo použito dvanáct na jeden test, byly připevněny na vratný disk pomocí oboustranné lepicí pásky. Ve stanovené časy byly odebrány vzorky, které byly následně chromatograficky vyhodnoceny.

Výsledky ukazují, že disoluční profily skopolaminu při použití dvou různých modelů aparátů podle USP 7 jsou ekvivalentní.

## **5.2.2 Parametry ovlivňující průběh disolučních testů**

Při průběhu disolučních testů je třeba vždy přesně dodržet podmínky, aby byly výsledky daného testování standartní a tudíž mohly být srovnávány mezi různými pracovišti. První skupinou podmínek jsou ty, které souvisí se složením a vlastnostmi rozpouštěcí kapaliny. Druhou skupinu tvoří podmínky pro technické provedení. [13]

### **5.2.2.1 Podmínky související se složením a vlastnostmi disolučního média**

Do této skupiny podmínek patří: teplota, viskozita, pH kapaliny, přítomnost povrchově aktivních látek a enzymů.

#### **Disoluční médium**

Výběr ideálního disolučního média je pro testování disoluce stejně důležitý jako výběr správného disolučního přístroje. Nejčastější disoluční kapalinou je



čištěná voda nebo tlumivé roztoky, pokud má disoluční kapalina za úkol napodobovat prostředí gastrointestinálního traktu. Celkově se disoluční médium vybírá podle fyzikálně-chemických vlastností léčivé látky/ látek a pomocných látek.

### Hodnota pH

Spolu s výběrem tekutiny souvisí i výběr vhodné hodnoty pH disoluční kapaliny a iontové síly. Musíme zvážit podmínky, kterým bude léková forma nejpravděpodobněji vystavena po jejím podání. Nejčastěji se stanovuje pH 1 až 8 a během analýzy se pH musí udržovat v rozmezí 0,05 jednotky od předepsané hodnoty pH. Nejčastěji používaná disoluční média zobrazuje Tabulka 1. [1] Hodnota pH významně ovlivňuje rychlost rozpouštění slabých kyselin a zásad. Se zvyšováním pH se u slabých kyselin zvyšuje rychlost rozpouštění a u slabých zásad se naopak rychlost rozpouštění snižuje. [13]

Tabulka 1: Nejčastěji používaná disoluční média

<b>pH</b>	<b>Disoluční médium</b>
pH 1	HCl
pH 1,2	HCl, NaCl
pH 1,5	HCl, NaCl
pH 4,5	Fosforečnanový nebo acetátový pufr
pH 5,5 a 5,8	Fosforečnanový nebo acetátový pufr
pH 6,8	Fosforečnanový pufr
pH 7,2 a 7,5	Fosforečnanový pufr

### Teplota

Teplota disolučního média závisí na použité lékové formě. Při stanovení dostupnosti u perorálních, vaginálních, rektálních, očních a implantačních

lékových forem se obvykle používá teplota  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Při stanovení transdermálních lékových forem jako jsou transdermální náplasti je to  $32 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Stanovené teploty dosáhneme, a později ji udržujeme, pomocí vodní lázně. Teplota během analýzy nesmí kolísat. Při růstu teploty obvykle roste rychlost rozpouštění léčivé látky. [13]

### **Objem rozpouštěcí kapaliny**

Objem disolučního média závisí na typu použité metody, která by měla být přizpůsobena množství kapaliny ve fyziologickém prostředí. Nejčastěji to bývá 500, 900 a 1000ml. Zvolený objem se odměřuje při teplotě  $20 - 25^{\circ}\text{C}$ . [1] Po odměření disoluční kapaliny do vhodné nádoby je potřeba připravené médium důkladně promíchat. V případě malého objemu disolučního média by mohlo dojít k nasycení rozpouštěcí kapaliny a nerozpuštění zbylého množství testované látky, a tím k chybnosti výsledků. Podle rovnice rozpouštění se zvyšující koncentrací látky v disolučním médiu klesá rychlost rozpouštění. [13]

### **Povrchově aktivní látky a enzymy**

Enzymy se běžně nachází ve fyziologickém prostředí a většinou zvyšují rychlost rozpouštění. K mírnému zvýšení rychlosti rozpouštění dochází i při přidání povrchově aktivních látek. [13]

#### **5.2.2.2 Podmínky související s technickým provedením**

Při disoluční zkoušce se musí přesně definovat a dodržovat tvar a velikost nádoby, tvar a rychlost otáček míchadla, čas provedení.

#### **Čas analýzy**

Doba trvání disolučního testu dané lékové formy závisí na analytické metodě, kterou je test přesně definován. Nejčastější doba trvání je 30, 45 a 60 minut. Vzorky se odebírají v předepsaném čase, kdy odchylka nesmí přesáhnout  $\pm 2\%$ . Pokud zjišťujeme disoluční profil dané lékové formy, tak odebíráme vzorek v několika časových rozmezích např. 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60 minut. [1]

#### **Otáčky míchadla**

Rychlost otáčení košíčku nebo pádel má významný vliv na průběh analýzy dané lékové formy, kdy ovlivňuje především její rozpadavost. Z toho plyne, že bychom měli zvolit takovou rychlost otáčení, aby se léková forma dobře rozpadala, pokud u ní dochází k rozpadu, ale zároveň musíme respektovat požadavky dané lékopisem. Nejčastější rychlosti otáček pro farmaceutickou analýzu jsou 50, 75, 100, 120 a 150 otáček za minutu. Zároveň je potřeba zajistit, aby se otáčející hřídel nevychylovala ze středové osy a rotovala rovnoměrně. Ověření rychlosti otáčení se provádí pomocí otáčkoměru a povolená odchylka je dána lékopisem ( $\pm 2$  otáčky za minutu). [1] Zvyšováním rychlosti toku kapaliny kolem tablety se snižuje tloušťka difuzní vrstvy, a tím se urychluje rychlost rozpouštění. [1]

## **6 Experimentální část**

### **6.1 Použité suroviny**

#### **Laktosa**

SpheroLac® 100, šarže 5995, Meggle-pharma, Wasserburg, Germany

#### **Hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát**

DI-CAFOS A150, šarže MV 400, Budenheim, Germany

#### **Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát**

DI-CAFOS D160, šarže MV 5030, Budenheim, Germany

#### **Stearan horečnatý**

šarže C334749, JRS pharma, Germany

#### **Theofylin**

šarže TAM/10071, Ph. Eur. 6.0., Dr. Kulich Pharma s.r.o, ČR

#### **Kyselina chlorovodíková 35 %**

šarže 1804150413, Penta, ČR

## **6.2 Použité přístroje a zařízení**

### **Navážovací váhy**

Kern 440-45N (Kern&Sohn GmbH, Německo)

### **Analytické váhy**

Cahn HR-120 (A&D Company, Tokio, Japonsko)

### **Mísící krychle KB 15S**

Umístěna na pohonné jednotce Erweka AR 401 (Erweka, SRN).

### **Lisovací přípravek**

Adamus HT (Machine Factory Group, Szczecin, Polsko) Skládá se z matrice, dolního trnu, horního trnu a zarážky pro usměrnění dolního trnu.

### **Zařízení pro testování pevnosti materiálu v tlaku a tahu**

Zwick/Roell T1-FRO 50 (Zwick GmbH, SRN)

### **Disoluční přístroj**

SOTAX AT-7 Smart (SOTAX AG, CH)

Glass microfiber filters GF/D, diameter 25 mm, CAT No. 1823-025 (GE Healthcare, UK)

### **Spektrofotometr**

Specord 205 (Analytic Jena, SRN)

## 6.3 Použité metody

Nejprve byly připraveny tabletoviny, ze kterých se následně lisovaly tablety. Poté se připravily roztoky s theofylinem o různých koncentracích, u kterých se změřila absorpance a byla sestavena kalibrační křivka theofylinu. U nalisovaných tablet byl proveden test disoluce pomocí aparátu s košíčkem, odebrané vzorky byly vyhodnoceny spektrofotometricky při vlnové délce 270 nm. Výsledky byly stanoveny porovnáním absorpance vzorků s kalibrační přímkou theofylinu.

### 6.3.1 Příprava tabletovin

Celkem bylo připraveno 20 tabletovin, 10 obsahujících theofylin a 10 bez theofylinu, které byly použity jako kontrolní vzorek. Jednotlivé tabletoviny se liší koncentracemi pomocných látek, směs B a D potom také použitým typem hydrogenufosforečnanu vápenatého. Přesné složení tabletovin směsi A a B je uvedeno v tabulce 2. Ze směsi byl připraven vzorek o hmotnosti 100 gramů.

Tabletoviny byly připraveny mísením v mísící krychli KB 15S o rychlosti otáčení 17 otáček za minutu. Nejprve byla mísená laktosa s hydrogenufosforečnanem po dobu 5 minut, poté byl přidán theofylin, a nakonec po dalších 5 minutách mísení stearan hořečnatý, následováno konečným 5 minutovým mísením.

### 6.3.2 Lisování tablet

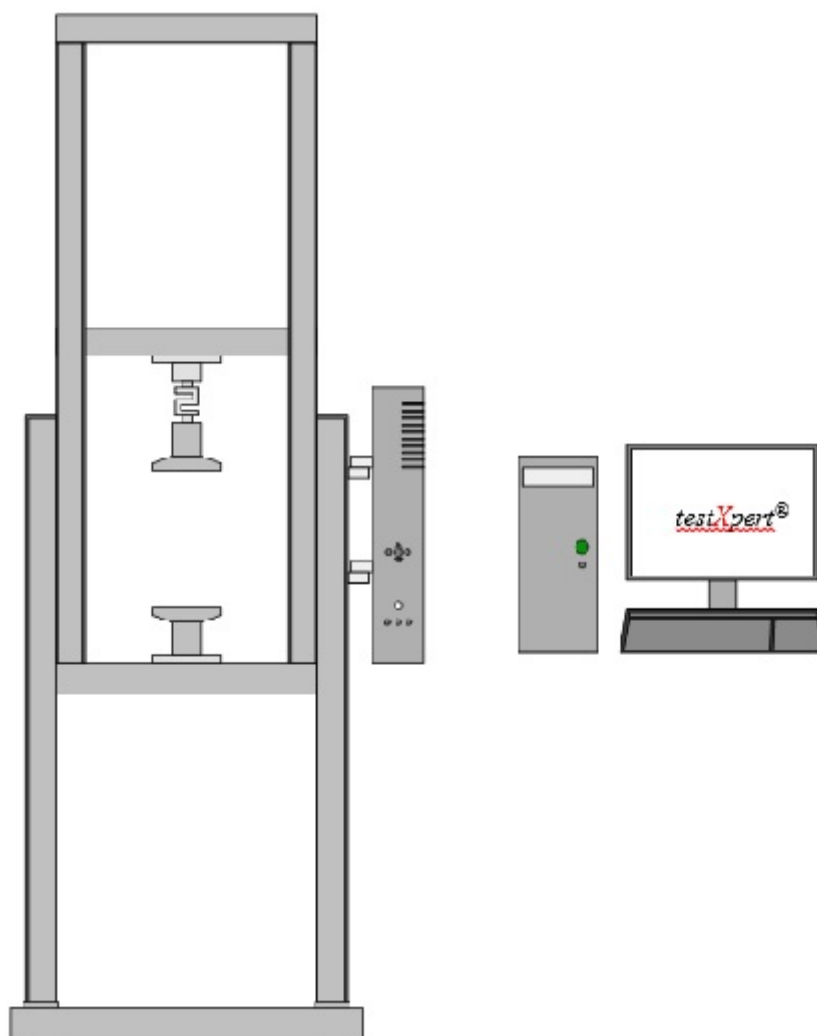
Při lisování tablet byla do matrice, v které byl zasunut dolní lisovací trn, kvantitativně vpravena navážka tabletoviny. Po lehkém sklepnutí následovalo vsunutí horního lisovacího trnu. Takto připravený lisovací přípravek byl vložen mezi čelisti zařízení, v zařízení pro testování pevnosti v tlaku a tahu Zwick/Roell T1-FRO, které je znázorněno na obrázku 12.

Matrice lisovacího zařízení měla průměr 13 mm, navážky tabletovin měly hmotnost 500 mg s přesností  $\pm 0,5$  mg. Tablety byly lisovány za lisovacího

tlaku 5 kN. Z tabletovin s theofylinem bylo nalisováno vždy po 6 tabletách, z tabletovin bez theofylinu po 2 tabletách. Tablety měly klasický cylindrický tvar o průměru 13 mm.

Tabulka 2: Složení tabletovin směsi B a D

	Vzorek číslo				
	<b>Směsi B s theofylinem</b>	B-1	B-2	B-3	B-4
DI-CAFOS D160	0,0	20,0	40,0	60,0	80,0
laktosa	80,0	60,0	40,0	20,0	0,0
Theofylin	19,5	19,5	19,5	19,5	19,5
Stearan hořecnatý	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
<b>Směsi B bez theofylinu</b>	B-1 S	B-2 S	B-3 S	B-4 S	B-5 S
DI-CAFOS D160	0,0	20,0	40,0	60,0	80,0
laktosa	80,0	60,0	40,0	20,0	0,0
Stearan hořecnatý	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
<b>Směsi D s theofylinem</b>	D-1	D-2	D-3	D-4	D-5
DI-CAFOS A150	0,0	20,0	40,0	60,0	80,0
laktosa	80,0	60,0	40,0	20,0	0,0
Theofylin	19,5	19,5	19,5	19,5	19,5
Stearan hořecnatý	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
<b>Směsi D bez theofylinu</b>	D-1 S	D-2 S	D-3 S	D-4 S	D-5 S
DI-CAFOS A150	0,0	20,0	40,0	60,0	80,0
laktosa	80,0	60,0	40,0	20,0	0,0
Stearan hořecnatý	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5



Obrázek 12: Zařízení pro testování pevnosti v tlaku a tahu Zwick/Roell T1-FRO, převzato z [26]

### 6.3.3 Příprava kalibrační přímky theofylinu

Dále byla připravena kalibrační přímka pro theofylin. Nejprve byl připraven základní roztok obsahující theofylin. Vycházelo se z toho, že 100 gramů směsi obsahuje 19,5 g theofylinu, a tudíž 1 tableta (500 mg) obsahuje 0,0975 g theofylinu. Jedna tableta se bude testovat v 1000 ml 0,1 M kyseliny chlorovodíkové. Kyselina chlorovodíková o koncentraci 0,1 M byla připravena v odměrné baňce o objemu 1000 ml z 12,29 gramů 35 % kyseliny chlorovodíkové a destilované vody.



Základní roztok byl připraven v odměrné baňce o objemu 500 ml, kdy se nejprve do baňky vpravilo 48,83 mg theofylinu, a poté došlo k doplnění po rysku 0,1 M kyselinou chlorovodíkovou. Následně byly připraveny kalibrační roztoky, které vznikly smísením základního roztoku a 0,1 M kyseliny chlorovodíkové v odměrných baňkách o objemu 100 ml. Přesné složení jednotlivých roztoků je uvedeno v tabulce 4.

Tabulka 3: Složení roztoků pro kalibrační přímku

	Roztoky pro kalibrační přímku									
	č. 1	č. 2	č. 3	č. 4	č. 5	č. 6	č. 7	č. 8	č. 9	č. 10
c (%)	0,15	0,10	0,08	0,06	0,04	0,02	0,01	0,01	0,004	0,002
ml základního roztoku	75,00	50,00	40,00	30,00	20,00	10,00	5,00	3,00	2,00	1,00
ml 0,1 M HCl	25,00	50,00	60,00	70,00	80,00	90,00	95,00	97,00	98,00	99,00

Poté se na přístroji Specord 205 proměřilo absorpční spektrum theofylinu v rozmezí 260 až 280 nm. Nejvyšší absorbance byla naměřena při vlnové délce 270 nm, viz obrázek 13. Tato vlnová délka byla použita při měření absorbance jednotlivých kalibračních roztoků a potom při měření absorbance disolučních vzorků. Pak bylo proměřeno všech 10 kalibračních roztoků v pěti opakováních. Vysušené křemenné kyvety byly postupně naplněny všemi připravenými kalibračními roztoky. Poté se u každého roztoku měřila absorbance při 270 nm v 5 opakováních proti slepému vzorku, kterým byla 0,1 M kyselina chlorovodíková. Nakonec byla vypracována kalibrační přímka závislosti absorbance na koncentraci theofylinu. Závislost mezi absorbancí  $A$  a koncentrací  $c$  (%) vyjadřuje kalibrační rovnice pro theofylin:

$$A = 25,705c + 0,0057 \quad (1)$$

$$R^2 = 0,9998$$

kde  $A$  je absorbance,  $c$  (%) je koncentrace theofylinu  $R^2$  je hodnota spolehlivosti.

Tabulka absorbance kalibračních roztoků 4 a kalibrační přímka theofylinu 14 budou uvedeny v kapitole Výsledky.

#### 6.3.4 Disoluční testy a jejich hodnocení

Při testování disoluce tablet s theofylinem byl použit aparát podle USP 1, což znamená přístroj s košíčkem. V tomto případě přístroj pro disoluci SOTAX AT-7 Smart.

Jako disoluční médium byla použita 0,1 M kyselina chlorovodíková, která byla připravena naředěním 35 % kyseliny. Pro přípravu 1000 ml disolučního roztoku bylo potřeba 12,29 g koncentrované kyseliny chlorovodíkové, která byla v odměrné baňce o objemu 1000 ml doplněna destilovanou vodou po rysku.

Při disoluci bylo použito 6 disolučních nádob, každá z nich byla naplněna 1000 ml disolučního média vytemperovaného na teplotu  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Košíčky se otáčely rychlostí 100 otáček za minutu, rychlost pumpy byla 32 ml za minutu. Do pěti suchých košíčků byly vloženy tablety, které obsahovaly theofylin a byly lisovány ze stejné tabletoviny. V jednom košíčku byl slepý vzorek, který měl stejné složení pomocných látek jako ostatní testované tablety, ale neobsahoval theofylin.

Celková doba testu byla 2,5 hodiny. V předepsaný čas byly z disolučních nádob odebrány 3 ml vzorku, který byl posléze nahrazen 3 ml čistého disolučního média. Před odběrem a po odběru bylo zařízení propláchnuto 12 ml čistého disolučního média. Vzorky byly odebírány v čase 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90, 120 a 150 minut.

Odebrané vzorky byly po naředění vyhodnoceny spektrofotometricky na zařízení Specord 205. Absorbance se měřila při vlnové délce 270 nm, vždy po 5 opakováních proti slepému vzorku.

Výsledky disolučních testů jsou uvedeny v tabulce a grafech v kapitole Výsledky.

### 6.3.5 Zpracování výsledků

Výsledky získané měřením absorbance byly dále zpracovány programem Excel. Pro posouzení statistické významnosti byl použit matematický a statistický program QC-Expert 3.3. Každý vzorek s theofylinem byl proměřen pětkrát a od každého výsledku měření se odečetla absorbance slepého vzorku. Potom se podle kalibrační rovnice vypočítalo pro každé měření množství uvolněného theofylinu v procentech. Nakonec se zprůměrovalo množství theofylinu pro jeden vzorek a vypočetla se směrodatná odchylka.

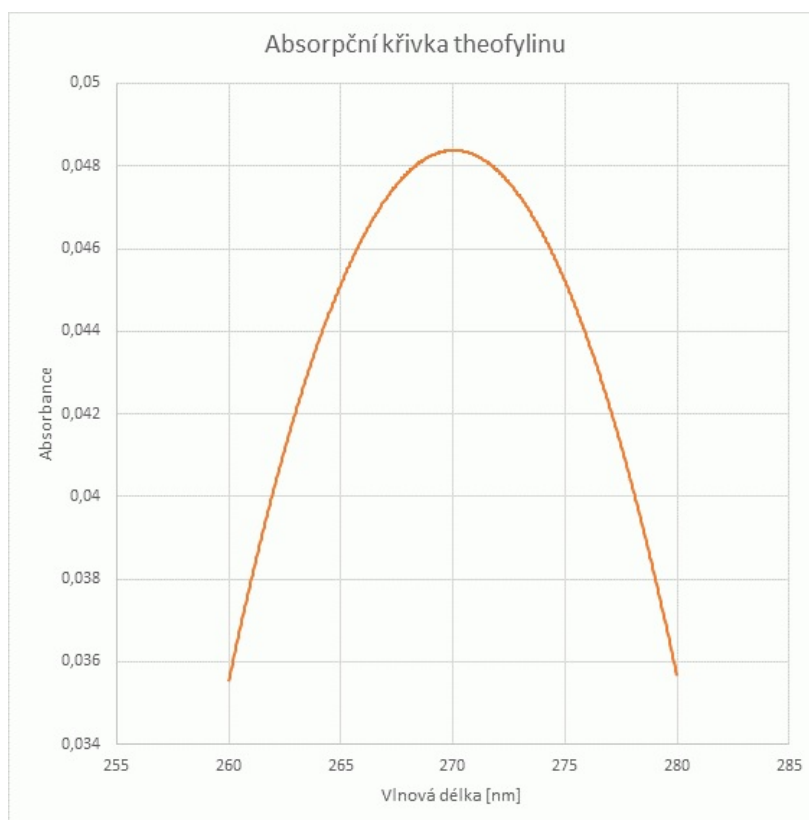
Získané a zpracované hodnoty byly následně vloženy do tabulek a graficky zpracovány. Tabulky a grafy budou uvedeny v kapitole výsledky 7 na straně 39.

## 7 Výsledky

### 7.1 Vysvětlivky k tabulkám a grafům

- $A$  - absorbance
- $\bar{A}$  - průměrná hodnota absorbance
- $c$  - koncentrace (%)
- $s$  - směrodatná odchylka
- $t$  - čas
- $\bar{\varnothing}$  - průměr

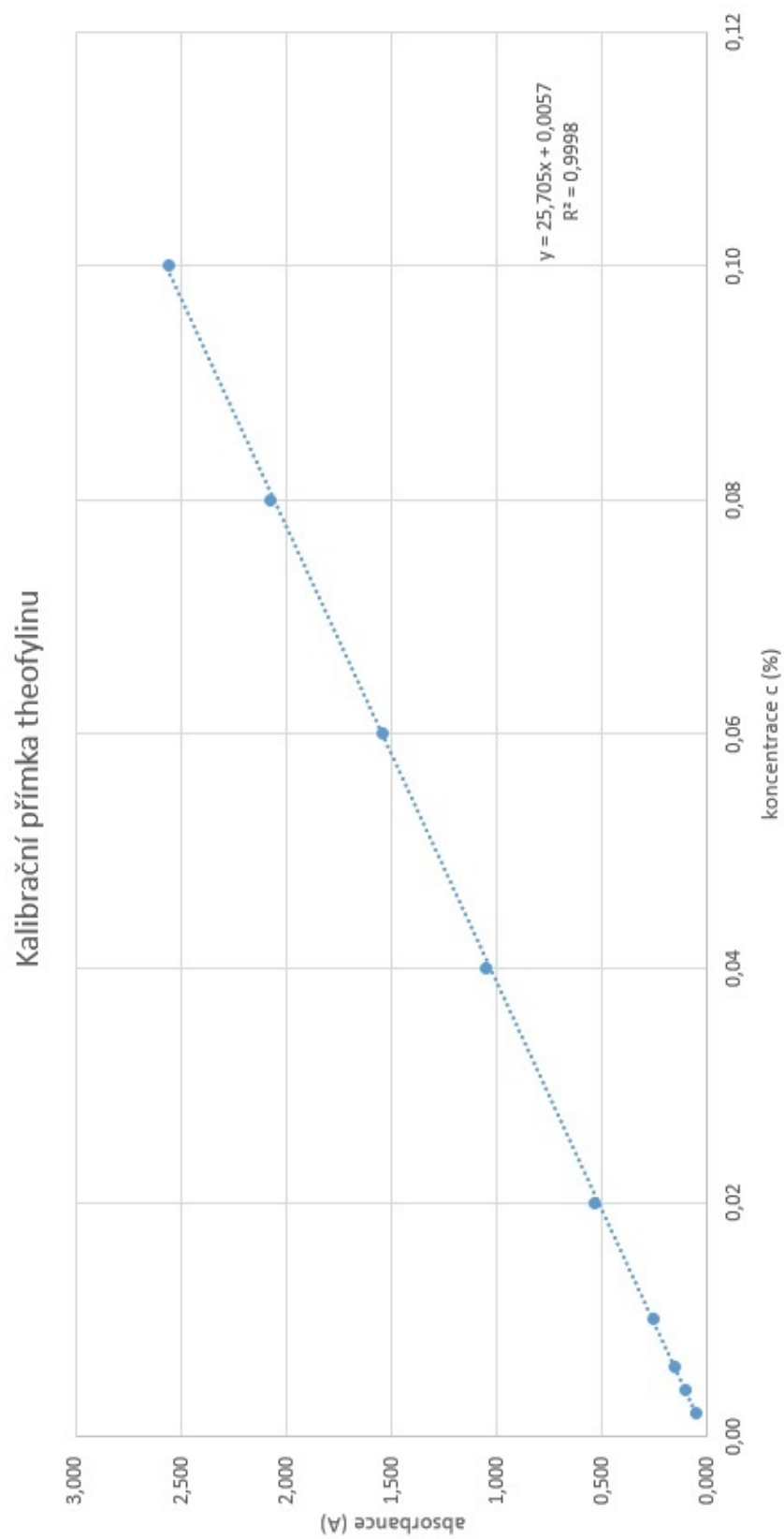
## 7.2 Absorpční spektrum a kalibrační přímka theofylinu



Obrázek 13: Absorpční spektrum theofylinu

Tabulka 4: Absorbance kalibračních roztoků pro theofylin

roztok	c [ %]	Absorbance					
		A1	A2	A3	A4	A5	$\bar{A}$
č.1	0,15	3,472	3,455	3,496	3,713	3,334	3,494
č.2	0,10	2,555	2,557	2,571	2,563	2,561	2,561
č.3	0,08	2,078	2,074	2,075	2,078	2,076	2,076
č.4	0,06	1,541	1,541	1,539	1,540	1,539	1,540
č.5	0,04	1,050	1,050	1,050	1,050	1,051	1,050
č.6	0,02	0,534	0,534	0,534	0,534	0,534	0,534
č.7	0,01	0,256	0,256	0,256	0,256	0,256	0,256
č.8	0,01	0,157	0,157	0,157	0,157	0,156	0,157
č.9	0,004	0,104	0,104	0,104	0,104	0,104	0,104
č.10	0,002	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050



Obrázek 14: Kalibrační přímka theofylinu

### 7.3 Disoluční testy

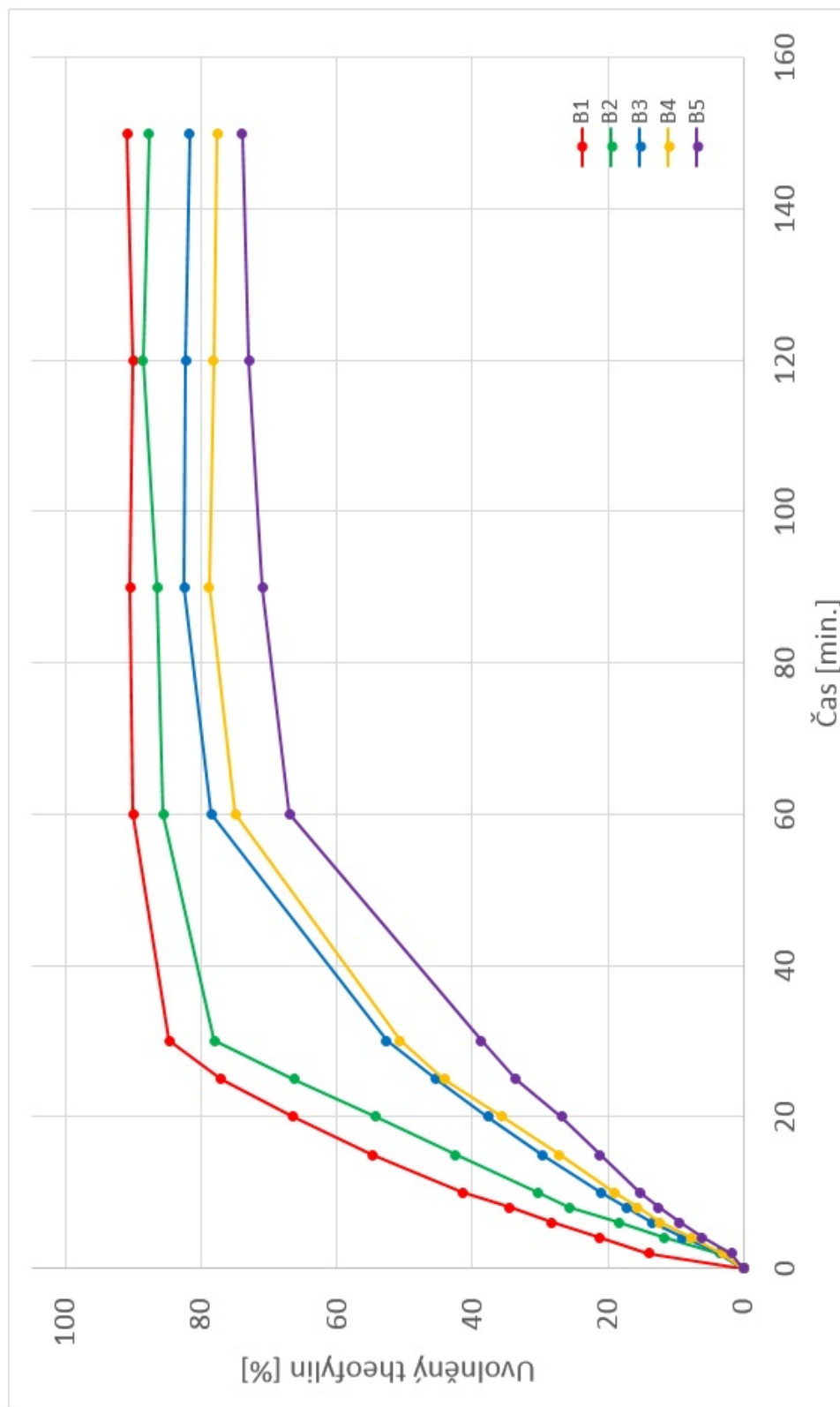
Tabulka 5: Množství theofylinu uvolněného ze směsí B1 až B5

t [min]	Směs									
	B1 [%]		B2 [%]		B3 [%]		B4 [%]		B5 [%]	
	∅	s	∅	s	∅	s	∅	s	∅	s
2,00	13,98	0,68	3,48	2,08	3,29	0,91	3,12	0,39	1,70	0,20
4,00	21,33	0,34	11,77	5,13	8,91	0,98	7,70	0,98	6,05	0,27
6,00	28,30	0,29	18,42	4,06	13,47	1,40	12,23	0,71	9,44	0,43
8,00	34,50	1,20	25,75	5,01	17,25	2,24	15,63	1,46	12,56	0,43
10,00	41,46	0,75	30,36	3,29	21,09	3,28	19,10	1,22	15,29	0,91
15,00	54,78	1,27	42,44	4,10	29,73	5,40	27,15	1,67	21,18	1,72
20,00	66,40	2,36	54,21	4,15	37,68	7,23	35,61	1,67	26,84	1,47
25,00	77,13	2,88	66,27	5,23	45,31	8,11	44,13	2,11	33,57	1,69
30,00	84,72	2,26	78,04	7,72	52,67	9,00	50,70	2,27	38,71	2,00
60,00	90,07	3,00	85,61	5,17	78,53	7,60	74,95	3,98	67,03	3,76
90,00	90,52	3,75	86,49	6,37	82,55	7,43	78,83	1,95	70,99	3,26
120,00	90,07	5,70	88,66	4,47	82,32	7,29	78,24	2,11	72,93	2,89
150,00	90,98	3,16	87,75	5,30	81,77	6,94	77,67	2,15	73,95	3,34

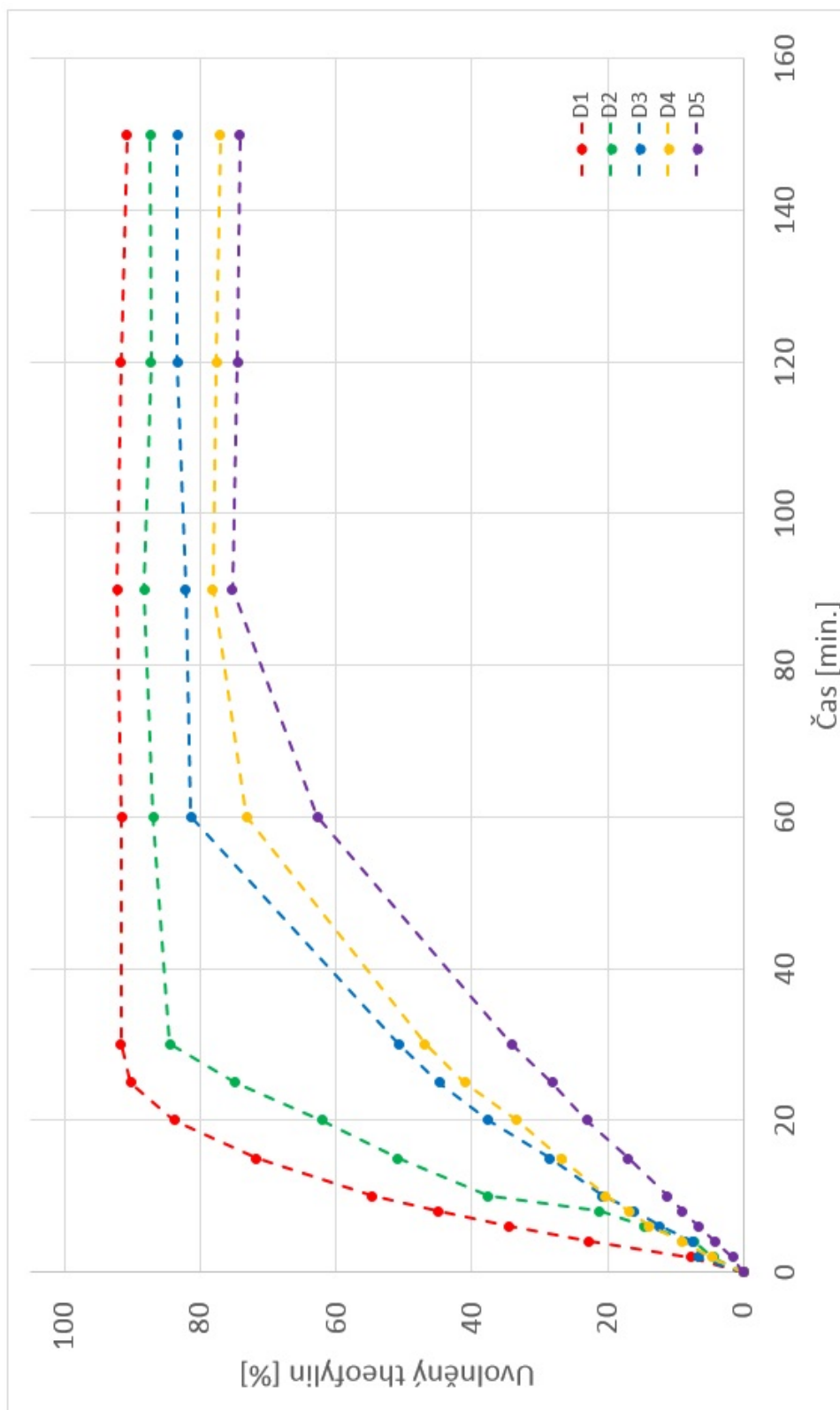


Tabulka 6: Množství theofylinu uvolněného ze směsí D1 až D5

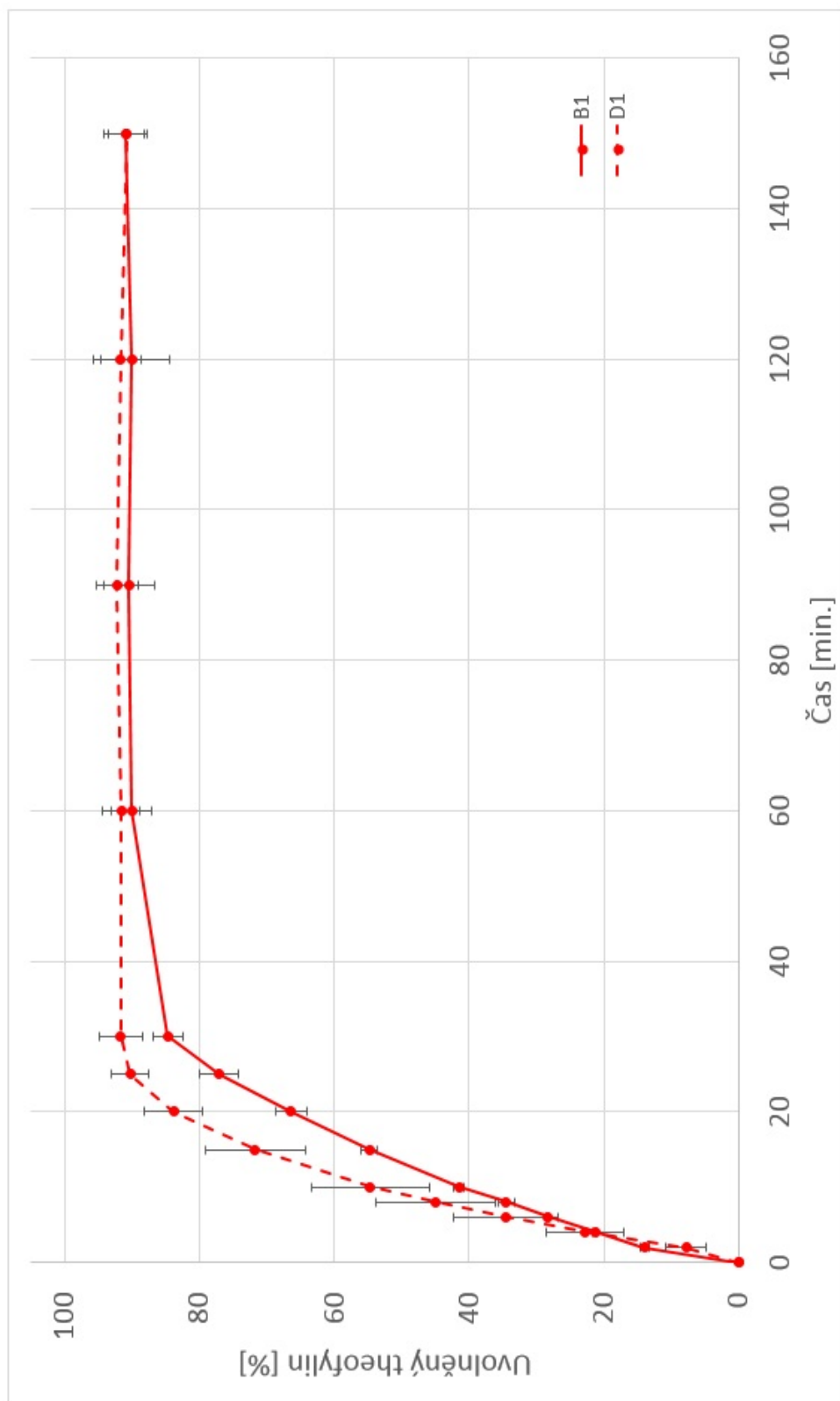
t [min]	Směs									
	D1 [%]		D2 [%]		D3 [%]		D4 [%]		D5 [%]	
	∅	s	∅	s	∅	s	∅	s	∅	s
2,00	7,78	2,99	4,37	3,68	6,67	0,92	4,64	2,79	1,54	0,41
4,00	22,85	5,77	7,33	2,68	7,56	0,49	9,02	2,18	4,23	0,84
6,00	34,56	7,79	14,65	3,32	12,28	0,86	13,84	0,51	6,67	0,23
8,00	44,99	8,83	21,11	4,59	16,10	1,18	16,88	0,75	8,99	0,39
10,00	54,62	8,85	37,61	5,23	20,69	1,30	20,32	1,42	11,16	0,67
15,00	71,73	7,42	50,94	5,52	28,53	1,98	26,80	1,65	16,94	1,09
20,00	83,87	4,35	62,15	6,79	37,53	2,64	33,34	2,50	23,07	1,56
25,00	90,32	2,79	74,86	5,13	44,75	2,42	41,00	2,82	28,18	1,59
30,00	91,69	3,26	84,49	4,26	50,84	3,08	46,96	3,14	34,19	2,26
60,00	91,66	2,80	86,97	5,83	81,43	2,86	73,24	5,17	62,75	4,33
90,00	92,29	3,15	88,32	4,08	82,19	1,87	78,18	4,98	75,26	4,42
120,00	91,70	3,05	87,27	3,99	83,36	1,89	77,60	4,84	74,52	3,97
150,00	90,89	2,75	87,35	5,46	83,41	1,90	77,07	4,83	74,23	4,36



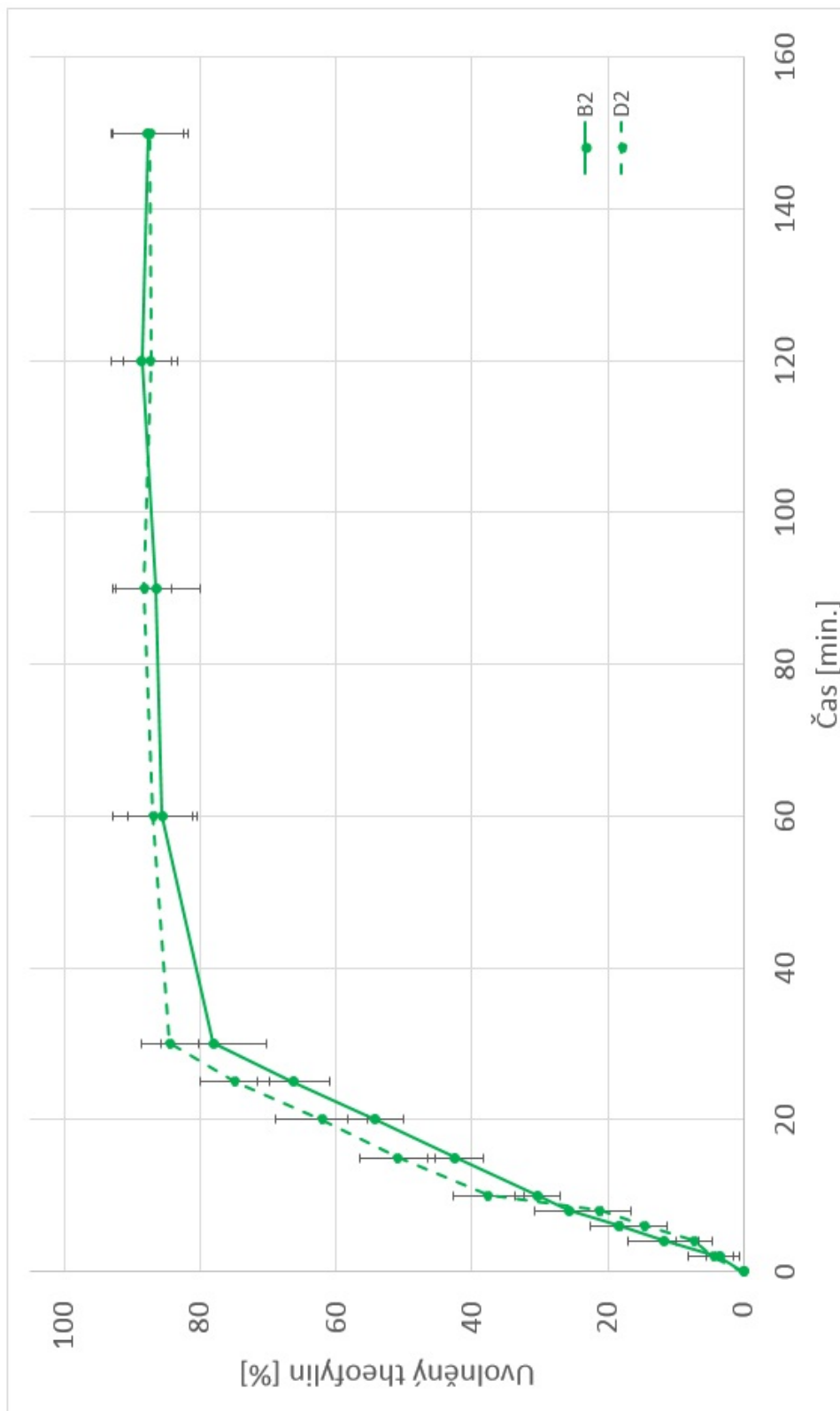
Obrázek 15: Disoluční profily tablet lisovaných ze směsí B1 až B5



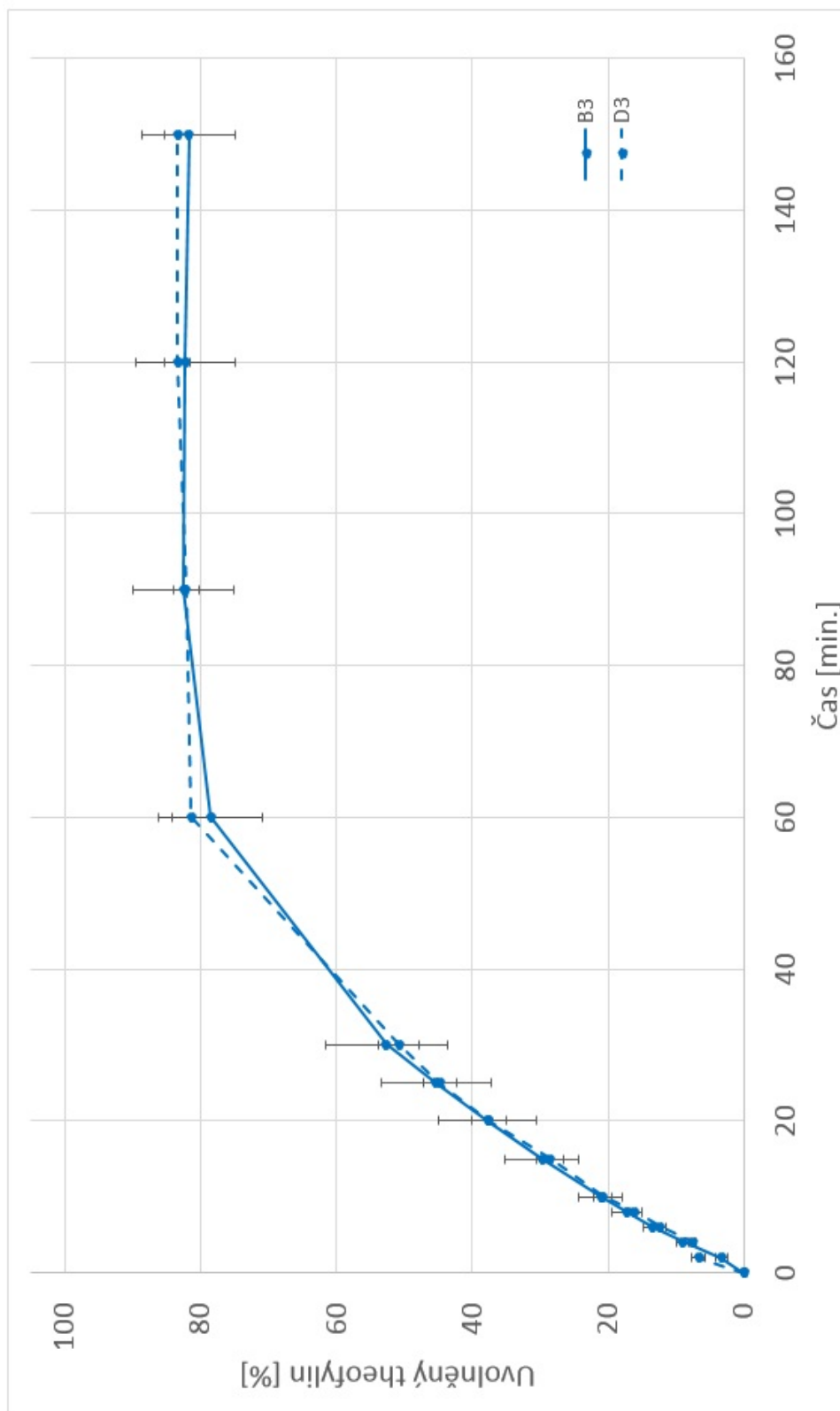
Obrázek 16: Disoluční profily tablet lisovaných ze směsí D1 až D5



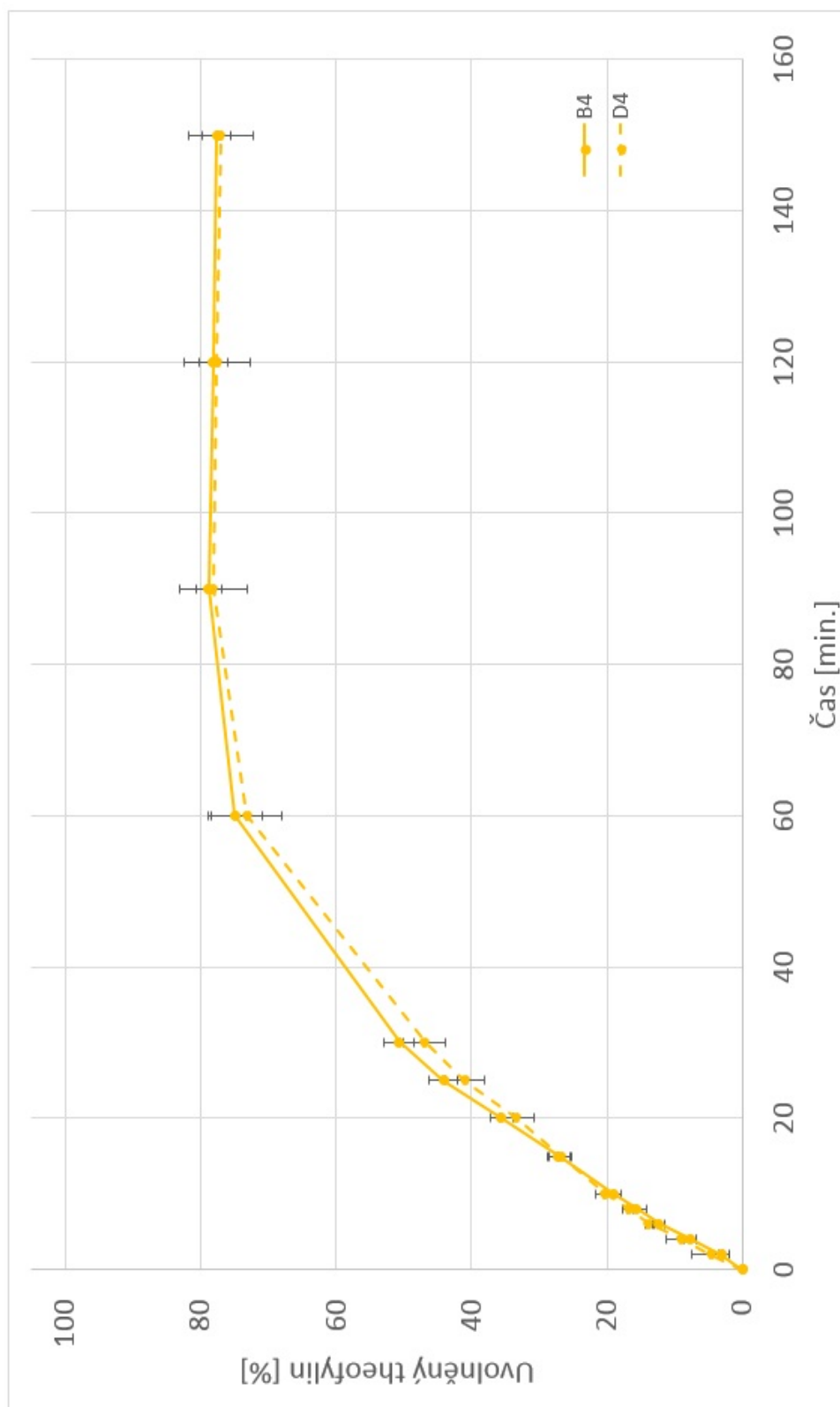
Obrázek 17: Porovnání disolučních profilů tablet lisovaných ze směsí B1 a D1



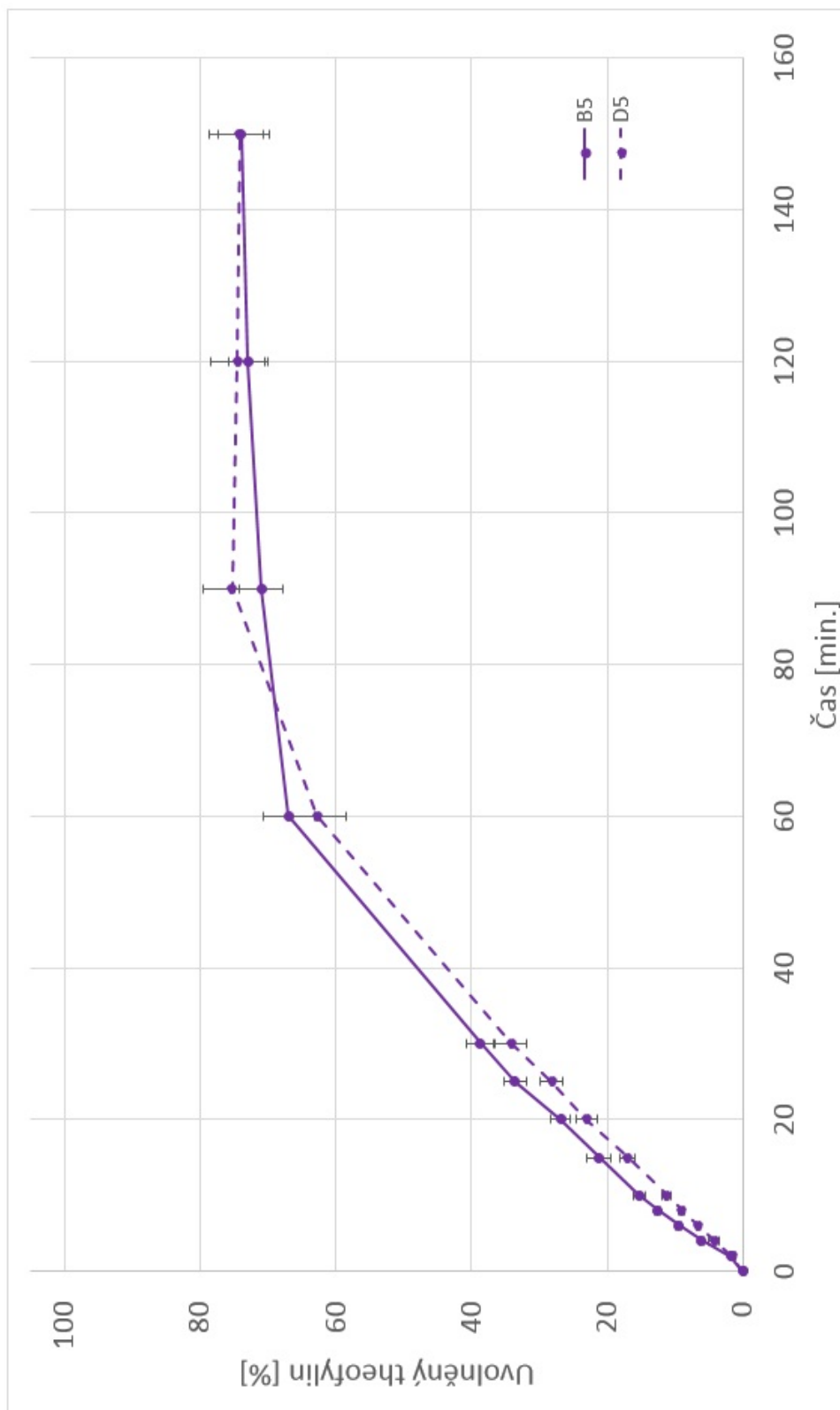
Obrázek 18: Porovnání disolučních profilů tablet lisovaných ze směsí B2 a D2



Obrázek 19: Porovnání disolučních profilů tablet lisovaných ze směsí B3 a D3



Obrázek 20: Porovnání disolučních profilů tablet lisovaných ze směsí B4 a D4



Obrázek 21: Porovnání disolučních profilů tablet lisovaných ze směsí B5 a D5





Obrázek 22: Tvorba pěny při disolučním testu tablet lisovaných ze směsi B2



Obrázek 23: Tvorba pěny při disolučním testu tablet lisovaných ze směsi B5

## 8 Diskuze

Disoluční testy jsou jednou ze základních metod ve farmacii. Využívají se k hodnocení uvolnění účinné látky z lékové formy. [11] To, jak se bude účinná látka z tablety uvolňovat, závisí na velkém množství faktorů, jako jsou typ plniva a dalších pomocných látek, lisovací tlak při tabletování, vlastnosti účinné látky atd.

Cílem této práce bylo zhodnotit disoluční profily tablet obsahujících theofylin v závislosti na poměru a typu plniv. Jako plniva byla použita laktosa, dihydrát a anhydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého. Dihydrát hydrogenfosforečnanu vápenatého má střední velikost částic rovnu  $160 \mu\text{m}$ , anhydrát  $150 \mu\text{m}$ . Jako kluzná látka byl použit stearan hořečnatý.

Výsledky práce jsou uvedeny v tabulkách číslo 5 a 6, a grafech 15 až 21.

### 8.1 Hodnocení uvolnění theofylinu v závislosti na poměru plniv

Obrázek číslo 15 znázorňuje disoluční profily tablet, které byly lisovány ze směsí obsahujících laktosu, hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát D1-CAFOS D160, theofylin a stearan hořečnatý. Směsí bylo celkem pět a lišily se poměrem laktosy a hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu. Směs B1 a B5 obsahovala vždy po jednom plnivu, v případě směsi B1 to byla laktosa a u B5 hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát. Směsi B2, B3, B4 obsahovaly obě plniva v různých poměrech podle tabulky číslo 2

Nejrychleji a nejvíce se uvolňoval theofylin ze směsi obsahující pouze laktosu (směs B1), kde došlo k uvolnění 90,98 % obsaženého theofylinu, s tím, že se už po šedesáti minutách uvolnilo více než 90,07 %. Naproti tomu při použití samotného hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu (směs B5) je celkové uvolnění theofylinu nižší a probíhá pomaleji. Celkově se uvolnilo 73,95 % theofylinu, což je o 17,03 % méně než u tablet lisovaných ze směsi B1. Množství

uvolněného theofylinu se zvyšovalo i v odběru provedeném ve 120. minutě. Obecně se dá říci, že se snižujícím se množstvím laktosy a se zvyšujícím se množstvím hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu dochází k pomalejšímu uvolnění theofylinu uvolní se ho menší množství. Výraznější zpomalení uvolňování je zřetelné při poklesu množství laktosy ve směsi na 40 a méně procent (směsi B3 a B4). Snížení celkového množství uvolněného theofylinu ve směsích obsahujících 60 a více procent hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu (směsi B4 a B5) může být způsobeno tvorbou pěny na přírubě, která drží disoluční košíček na hřídeli disolučního přístroje. V průběhu disolučních testů prováděných s tabletami obsahujícími jako plnivo pouze laktosu nedocházeli k tvorbě pěny. Na obrázcích číslo 22 a 23 je vidět pěna, která se tvořila při disolučním testu u tablet lisovaných ze směsi B2 a B5. Je vidět, že v případě směsi obsahující jako plnivo větší podíl laktosy a 20 % hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu (směs B2) docházelo k minimální tvorbě pěny a s rostoucí koncentrací se tvořilo více pěny (směs B5).

Obrázek číslo 16 znázorňuje disoluční profily tablet nalisovaných ze směsí laktosy, hydrogenfosforečnanu vápenatého anhydrátu DI-CAFOSu A150, theofylinu a stearanu hořečnatého. Směsí bylo opět pět a lišily se poměrem laktosy a hydrogenfosforečnanu vápenatého anhydrátu. Nejrychleji a nejvíce se opět uvolňuje theofylin ze směsi s laktosou (směs D1). Po 90 minutách se uvolnilo 92,29 % obsaženého theofylinu. Dále množství uvolněného theofylinu statisticky nevýznamně klesalo. Nejméně a nejpomaleji se theofylin uvolňoval z tablet lisovaných ze směsi D5. Nejvyšší koncentrace byla zjištěna ve vzorcích odebraných po 90 minutách (75,26 %). Poté došlo opět k statisticky nevýznamnému poklesu koncentrace. S poklesem množství laktosy ve směsi klesá jak rychlost uvolňování, tak množství uvolněného theofylinu. Rozdíl mezi množstvím theofylinu uvolněného ze směsí D1 a D5 je 17,03 %. U směsí obsahujících 20 a více procent hydrogenfosforečnanu vápenatého anhydrátu se během testování opět tvořila pěna stejně jako v případě směsí laktosy s hydrogenfosforečnanem vápenatým dihydrátem (směsi B2 a B5)

## 8.2 Hodnocení uvolnění theofylinu v závislosti na typu hydrogenfosforečnanu vápenatého

Obrázky číslo 17 až 21 znázorňují porovnání disolučních profilů směsí B a D, které obsahují stejné množství laktosy, ale liší se použitou formou hydrogenfosforečnanu vápenatého (viz tabulka číslo 2). V případě směsi B byl použit hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát a v případě směsi D to byl hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát.

Na obrázku číslo 17 jsou znázorněny disoluční profily směsí, které obsahovaly pouze laktosu jako plnivo. V případě směsi D1 dochází k rychlejšímu uvolnění theofylinu než u směsi B1. U obou směsí došlo po 60 minutách k uvolnění podobného množství theofylinu (90,07 % pro směs B1 a 91,66 % pro směs D1) a po 150 minutách testu k uvolnění téměř stejného množství theofylinu (90,98 % pro směs B1 a 90,89 % pro směs D1). I přes to, že by měly být obě tyto směsi identické, je množství uvolněného theofylinu ve vzorcích z obou směsí odebíraných během prvních 30 minut jsou však statisticky rozdílné. To by mohlo být způsobeno buď nepřesným vážením při přípravě směsí, nebo nedodržením stejného postupu či podmínek přípravy směsí. Použitá kluzná látka stearan hořečnatý je hydrofobní a tvoří na částicích tabletoviny film. Tento film může bránit průniku disolučního média do tablet, zpomalovat její rozpad a rozpouštění částic theofylinu. [27] Tato kluzná látka je také velmi citlivá na dodržení standardního postupu při přípravě směsí. Výsledné vlastnosti směsí a z nich lisovaných tablet může ovlivnit jak pořadí přidávaných látek, tak i doba mísení a typ použitého mísícího zařízení. [28]

Obrázek číslo 18 znázorňuje profily směsí, které obsahují 60 gramů laktosy a 20 gramů příslušného hydrogenfosforečnanu vápenatého. Theofylin se v prvních 30 minutách rychleji uvolňuje ze směsi, kde je použit hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát (D2). Od 60. minuty dále už je množství uvolněného theofylinu z obou směsí téměř stejné.

U směsí obsahujících stejný poměr laktosy a hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu (směs B3) a hydrogenfosforečnanu vápenatého anhydrátu (směs

D3) byla rychlost uvolňování i celkové množství uvolněného theofylinu téměř totožné (obrázek číslo 19).

Na obrázku číslo 20 jsou disoluční profily směsí obsahujících 20 % laktosy a 60 % hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu (směs B4), případně 60 % hydrogenfosforečnanu vápenatého anhydrátu (směs D4). Rychlost uvolňování byla mírně vyšší u tablet obsahujících hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát a z této směsi se uvolnilo i mírně vyšší množství theofylinu. Statisticky významné rozdíly v rychlosti, ani celkovém množství uvolněného theofylinu však nebyly t-testem pozorovány.

A nakonec obrázek číslo 21 zobrazuje disoluční profily tablet obsahujících pouze hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát (směs B5) nebo hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát (směs D5) bez laktosy. Rychlost uvolňování je na začátku testu vyšší u tablet obsahujících hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát (směs B5), ale maximální koncentrace je dosaženo až po 150 minutách testu. Theofylin se z tablet obsahujících hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát (směs D5) se na začátku testu sice uvolňuje pomaleji, ale maximální koncentrace je dosaženo už po 90 minutách testu.

## 9 Závěry

V této práci byly hodnoceny směsi obsahující modelovou účinnou látku theofylin, kluznou látku stearan hořečnatý a různý poměr plniv. Jako plniva byla použita laktosa a dva typy hydrogenfosforečnanu vápenatého. Byl porovnáván vliv poměru laktosy a hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu, případně hydrogenfosforečnanu vápenatého anhydrátu na rychlost a množství uvolněného theofylinu. Dále byly porovnávány disoluční profily směsí obsahujících stejný poměr laktosy a obou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého.

Z hodnocení vlivu poměru laktosy a hydrogenfosforečnanů vápenatých vyllynuly tyto závěry:

- S klesající koncentrací laktosy a rostoucí koncentrací obou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého se rychlost uvolňování snižuje.
- S klesající koncentrací laktosy a rostoucí koncentrací obou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého se rovněž snižuje celkové množství uvolněného theofylinu.

Z porovnání disolučních profilů směsí obsahujících stejné množství laktosy, ale rozdílný typ hydrogenfosforečnanu vápenatého vyllynuly tyto závěry:

- Rozdíly mezi celkovým množstvím theofylinu uvolněného z tablet obsahujících jako plnivo pouze laktosu (směsi B1 a D1) byl statisticky nevýznamný.
- U tablet lisovaných ze směsí obsahujících stejný poměr laktosy a jednoho z typů hydrogenfosforečnanu vápenatého v poměru 20:60 (směsi B2 a D2) až 60:20 (B4 a D4) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v celkovém množství uvolněného theofylinu.

- Rovněž u směsí obsahujících jako plnivo pouze různý typ hydrogenfosforečnanu vápenatého (směsi B5 a D5) nebyl pozorován statisticky významný rozdíl v celkovém množství uvolněného theofylinu.
- K nejrychlejšímu uvolňování theofylinu docházelo z tablet obsahujících jako plnivo pouze laktosu (B1 a D1).
- Theofylin se uvolňoval rychleji z tablet lisovaných ze směsi obsahující 60 % laktosu a 20 % hydrogenfosforečnanu vápenatého anhydrátu (směs D2) než ze směsi obsahující 60 % laktosu a 20 % hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu (směs B2).
- Typ hydrogenfosforečnanu vápenatého statisticky neovlivňoval rychlost uvolňování theofylinu u směsí obsahujících 40 % laktosu a 40 % hydrogenfosforečnanu vápenatého (směsi B3 a D3).
- Rychlost uvolňování theofylinu byla mírně vyšší u tablet lisovaných ze směsi B4 obsahující 20 % laktosu a 60 % hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu než u tablet lisovaných ze směsi D4 obsahující 20 % laktosu a 60 % hydrogenfosforečnanu vápenatého anhydrátu.
- Theofylin se v první polovině testu uvolňoval rychleji z tablet obsahujících jako plnivo pouze hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát (směs B5) než ze směsi obsahující pouze hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát (směs D5). U směsi obsahující jako plnivo pouze hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát (směs D5) však došlo k uvolnění maximálního množství theofylinu mnohem dříve (90 resp. 150 minut).

Celkově z práce vyplynulo, že:

- Typ hydrogenfosforečnanu vápenatého neovlivňuje celkové množství uvolněného theofylinu.
- Typ hydrogenfosforečnanu vápenatého ovlivňuje rychlost uvolňování theofylinu z tablet.

- Různým poměrem laktosy a obou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého je možné ovlivnit rychlost uvolňování theofylinu z tablet.
- Použité typy hydrogenfosforečnanu vápenatého je tedy možné zaměňovat pouze ve formulacích, u kterých není důležitá rychlost uvolňování účinné látky.



## 10 Seznam použité literatury

- [1] *Český lékopis 2009 – Doplněk 2013*. Grada Publishing, Praha, 2013, s. 324 - 333. ISBN 978-80-247-2994.
- [2] MUŽÍKOVÁ J., M. NEPRAŠOVÁ a H. FASCHINGBAUER. Aglomerovaný monohydrát  $\alpha$ -laktosy a bezvodá  $\beta$ -laktosa v přímém lisování tablet. *Chemické listy*. 2012, 106, s. 36-40. ISSN 12137103.
- [3] ROWE, R. C, P. J. SHESKEY, W. G. COOK a M. E. FENTON. *Handbook of pharmaceutical excipients*. 7th ed. London: APhA/Pharmaceutical Press, 2012, s. 415-420. ISBN 9780857110275.
- [4] FOLDYNA, Edvard. *Studium lisovacího procesu a vlastností tablet z anhydriátu laktosy*. Diplomová práce. 2014. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, s. 53.
- [5] ROWE, R. C, P. J. SHESKEY, W. G. COOK a M. E. FENTON. *Handbook of pharmaceutical excipients*. 7th ed. London: APhA/Pharmaceutical Press, 2012, s. 101-103. ISBN 9780857110275.
- [6] ROWE, R. C, P. J. SHESKEY, W. G. COOK a M. E. FENTON. *Handbook of pharmaceutical excipients*. 7th ed. London: APhA/Pharmaceutical Press, 2012, s. 104-106. ISBN 9780857110275.
- [7] ROWE, R. C, P. J. SHESKEY a S. C. OWEN. *Handbook of pharmaceutical excipients*. 6th ed. Chicago: APhA/Pharmaceutical Press, 2009, s. 404-407. ISBN 9781582121352.
- [8] National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=2153, <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2153> (accessed Mar. 31, 2015).

- [9] SALAJKA, F., V. KAŠÁK a S. KONŠTACKÝ. *Astma bronchiale: doporučený postup pro diagnostiku a léčbu astma bronchiale*. Praha: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, 2012, s. 13. ISBN 978-80-86998-59-6.
- [10] LÜLLMANN, Heinz, Klaus MOHR a Lutz HEIN. *Barevný atlas farmakologie*. 4. vyd. Praha: Grada, 2012, s. 340-343. ISBN 978-80-247-3908-3.
- [11] DVOŘÁČKOVÁ, K., T. BAUTZOVÁ a M. RABIŠKOVÁ. Disoluční studie v hodnocení perorálních léků s řízeným uvolňováním léčiva. *Chemické listy*. 2011, 105, s. 50-54. ISSN 12137103.
- [12] SJÖGREN, Erik et al. In vivo methods for drug absorption – Comparative physiologies, model selection, correlations with in vitro methods (IVIVC), and applications for formulation/A-PI/excipient characterization including food effects. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2014, 57, s. 99-151. ISSN: 0928-0987.
- [13] KOMÁREK, Pavel a Miloslava RABIŠKOVÁ. *Technologie léků: galenika*. 3., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Galén, 2006, s. 168-169. ISBN 80-7262-423-7.
- [14] AZARMI, S., W. ROA a R. LÖBENBERG. Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007, 328, s. 12-21. ISSN: 0378-5173.
- [15] UDDIN, R., SAFFOON a K. BISHWAJIT SUTRADHAR. Dissolution and Dissolution Apparatus: A Review. *International Journal of Current Biomedical and Pharmaceutical Research*. 2011, 1, s. 201-207. ISSN 2231-6264.

- [16] VILÁŠKOVÁ, Markéta. *Studium disoluce u finálního farmaceutického přípravku*. Diplomová práce. 2013. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Zlín, s 24.
- [17] STIPPLER, Erika. *Compendial Dissolution: Theory and Practice. American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS): developing science, impacting health* [online]. 2011 [cit. 2015-01-29]. Dostupné z: [http://www.aaps.org/uploadedFiles/Content/Sections\\_and\\_Groups/Focus\\_Groups/In\\_Vitro\\_Release\\_and\\_Dissolution\\_Testing/Resources/IVRDTFGStippler2011.pdf](http://www.aaps.org/uploadedFiles/Content/Sections_and_Groups/Focus_Groups/In_Vitro_Release_and_Dissolution_Testing/Resources/IVRDTFGStippler2011.pdf)
- [18] QURESHI, Saeed. Objective of drug dissolution testing: keeping it simple and clean. [online]. 2012. [cit. 2015-01-06]. Dostupné z: <http://www.drug-dissolution-testing.com/?p=1852>
- [19] ADROVER, A., A.PEDACCHIA, S. PETRALITO a R. SPERA. In vitro dissolution testing of oral thin films: A comparison between USP 1, USP 2 apparatuses and a new millifluidic flow-through device. *Chemical Engineering Research and Design* 2015, 95, s. 173-178. ISSN: 0263-8762.
- [20] Comparative dissolution studies for aceclofenac marketed dosage forms. <http://www.pharmatutor.org> [online]. [cit. 2015-01-08]. Dostupné z: <http://www.pharmatutor.org/articles/comparative-dissolution-studies-aceclofenac-marketed-dosage-forms?page=0,1>
- [21] KILLEN, B. U. a O. I. CORRIGAN. Factors influencing drug release from stearic acid based compacts. *International Journal of Pharmaceutics*. 2001, 228, s. 189-198. ISSN: 0378-5173.
- [22] WONG, D., S. LARRABEE, K. CLIFFORD, J. TREMBLAY a D.R. FRIEND. USP Dissolution Apparatus III (reciprocating cylinder) for screening of guar-based colonic delivery formulations. *Journal of Controlled Release*. 1997, 47 (2), s. 173-179. ISSN: 0168-3659.

- [23] MEDINA, J.R., D. K. SALAZAR, M. HURTADO, A. R. CORTÉS a A. M. DOMÍNGUEZ-RAMÍREZ. Comparative in vitro dissolution study of carbamazepine immediate-release products using the USP paddles method and the flow-through cell system. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2014, 22 (2), s. 141-147. ISSN: 1319-0164.
- [24] MING, M., C. CONNIE, P. H. LEE, C. T. BROMAN a G. W. CLEARY. New improved paddle method for determining the in vitro drug release profiles of transdermal delivery systems: the origin, evolution, and impact of doi moi. *Journal of Controlled Release* 1993, 27 (1), s. 59-68. ISSN 0168-3659.
- [25] ZHOU, Marilyn X., Genaro CALDERON. Application of USP Apparatus 7 to In Vitro Drug Release in Scopolamine Transdermal Systems. *Dissolution Technologies*. 2007, 14 (2), s. 25-29. ISSN 1521-298X.
- [26] ONDREJČEK P., ŘEHULA M., SVAČINOVÁ P. Pracovní postupy pro hodnocení tuhých lékových forem, Katedra farmaceutické technologie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové. Vydání první. 5.5.2014.
- [27] JOHANSSON, M. E. a M. NICKLASSON. Investigation of the film formation of magnesium stearate by applying a flow-through dissolution technique. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 1986, 38 (1), s. 51-54. ISSN 0022-3573.
- [28] KIKUTA, J.-I. a N. KITAMORI. Effect of Mixing Time on the Lubricating Properties of Magnesium Stearate and the Final Characteristics of the Compressed Tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy* [online]. 1994, 20 (3), s. 343-355. ISSN 0363-9045.