

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Disoluční kinetika léčiva Tralgit s účinnou látkou tramadol hydrochlorid

Pavla Filipková

Bakalářská práce

2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Pavla Filipková**
Osobní číslo: **C12586**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Disoluční kinetika léčiva Tralgit s účinnou látkou tramadol hydrochlorid**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Proveďte stručnou literární rešerši na téma: Léčiva s účinnou látkou tramadol hydrochlorid.
2. Prostudujte kinetiku uvolňování této účinné látky z generického léku Tralgit.
3. Proveďte disoluční zkoušku léku Tralgit pomocí lékopisné metody.
4. Na základě experimentálních dat porovnejte disoluční profil tramadol hydrochloridu s časovým profilem úbytku tramadol hydrochloridu v léčivu Tralgit během disoluce.
5. Výsledky zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Václav Lochař, Ph.D.

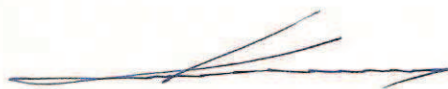
Katedra fyzikální chemie

Datum zadání bakalářské práce:

26. února 2016

Termín odevzdání bakalářské práce:

3. července 2016



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2016

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 3. července 2016

Pavla Filipková

Poděkování:

Ráda bych na tomto místě poděkovala Ing. Václavu Lochařovi, Ph.D. za odborné vedení a konzultace při vypracování této práce. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Kateřině Myslíkové za ochotu a pomoc v laboratoři.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá studiem kinetiky uvolňování účinné látky tramadol hydrochlorid z léčiva Tralgit SR. V teoretické části je diskutováno řízené uvolňování léčiva a typy matric, které zajišťují prodloužené uvolňování, dále disoluční zkouška a kinetický model I. řádu. Na základě experimentálně provedené disoluční zkoušky byl získán disoluční profil tramadol hydrochloridu a časový profil úbytku tramadol hydrochloridu v léčivu během disoluce. Pro vyhodnocení a porovnání získaných profilů byl využit kinetický model I. řádu a Weibullův statistický model.

KLÍČOVÁ SLOVA

tramadol hydrochlorid, řízené uvolňování léčiva, matricové tablety, disoluční zkouška, kinetický model

TITLE

Dissolution kinetics of Tralgit drug with active ingredient tramadol hydrochloride

ANNOTATION

The present bachelor thesis is concerned with the study of the release kinetics of the active ingredient tramadol hydrochloride from Tralgit SR drug. The theoretical part firstly discusses the controlled drug release and types of matrices that provide prolonged release, secondly the dissolution test and also first order kinetics. The dissolution profile of tramadol hydrochloride and the time profile of the decrease of tramadol hydrochloride in the drug during dissolution were gained based on an experimentally performed dissolution test. First order kinetic model and Weibull statistical model were applied in order to evaluate and compare the obtained profiles.

KEYWORDS

tramadol hydrochloride, controlled drug release, matrix tablets, dissolution test, kinetic model

OBSAH

1	ÚVOD.....	11
1.1	Tramadol hydrochlorid.....	11
1.1.1	Syntéza.....	11
1.2	Léčiva s účinnou látkou tramadol hydrochlorid.....	12
1.3	Cíl práce	14
2	TEORETICKÁ ČÁST	15
2.1	Pevné lékové formy s řízeným uvolňováním léčiva	15
2.1.1	Řízené uvolňování léčiva.....	15
2.2	Matricové tablety	16
2.2.1	Polymerní nerozpustné matricové tablety.....	17
2.2.2	Lipofilní matricové tablety	18
2.2.3	Hydrofilní gelové matricové tablety	18
2.3	Disoluční zkouška	19
2.3.1	Podmínky k provedení zkoušky.....	19
2.3.2	Přístroje pro disoluční zkoušku a její postup	19
2.4	Kinetický model I. řádu.....	21
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	24
3.1	Použité chemikálie	24
3.2	Laboratorní přístroje a pomůcky	25
3.3	Experimentální postupy.....	26
3.3.1	Měření UV/VIS spekter – metoda kalibrační přímky.....	26
3.3.2	Disoluční zkouška.....	26
3.3.3	Stanovení tramadol hydrochloridu v tabletě po disoluci	27
3.4	Použité programy	27
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	28
4.1	UV/VIS spektra a kalibrační přímky tramadol hydrochloridu.....	28
4.2	Disoluční profil tramadol hydrochloridu v léčivu Tralgit SR	30
4.3	Časový profil úbytku tramadol hydrochloridu v léčivu Tralgit SR během disoluce.....	33
4.4	Porovnání disolučního profilu TH s časovým profilem úbytku TH v léčivu Tralgit SR během disoluce.....	36
5	ZÁVĚR.....	39
6	LITERATURA	40

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: <i>Struktura tramadol hydrochloridu</i>	11
Obrázek 2: <i>Syntéza tramadolu</i>	11
Obrázek 3: <i>Převedení tramadolu na hydrochlorid</i>	12
Obrázek 4: <i>Řízené uvolňování a účinek léčiva: a) prodloužené b) zpožděné c) pulzní uvolňování /převzato z [9]</i>	16
Obrázek 5: <i>Typy matricových tablet /převzato z [8]</i>	17
Obrázek 6: <i>Časová závislost množství účinné látky (v tabletě $A_{t(s)}$ – červeně; v disolučním médiu $A_{t(l)}$ – modře); poločas uvolňování $t_{1/2}$</i>	22
Obrázek 7: <i>Balení a blistr s tabletami Tralgit SR 200</i>	24
Obrázek 8: <i>Disoluční jednotka AT 7smart, SOTAX</i>	25
Obrázek 9: <i>Mechanické zpracování tablety (1 – drcení, 2 – převedení do roztoku, 3 – ultrazvuková lázeň, 4 – analýza UV/VIS spektrometrií)</i>	27
Obrázek 10: <i>UV/VIS spektra TH v roztoku o pH 1,2 – červeně, v destilované vodě – modře a spektrum léčiva Tralgit SR ve vodě – černě</i>	28
Obrázek 11: <i>Kalibrační přímka TH v roztoku o pH 1,2</i>	29
Obrázek 12: <i>Kalibrační přímka TH v destilované vodě</i>	29
Obrázek 13: <i>Disoluční profil TH v léčivu Tralgit SR 200 – proložení I. řádem</i>	31
Obrázek 14: <i>Disoluční profil TH v léčivu Tralgit SR 200 – proložení Weibullovým modelem</i>	32
Obrázek 15: <i>Změna tablety během disoluce (zleva: před disolucí, po 6 hod., po 12 hod.)</i>	33
Obrázek 16: <i>Časový profil úbytku TH v léčivu Tralgit SR 200 během disoluce – proložení I. řádem</i>	34
Obrázek 17: <i>Časový profil úbytku TH v léčivu Tralgit SR 200 během disoluce – proložení Weibullovým modelem</i>	35
Obrázek 18: <i>Závislost množství TH ($\emptyset A_{t(l)}$ – modře, $\emptyset A_{t(s)}$ – červeně, $\emptyset A_{t(l)} + A_{t(s)}$ – černě) na čase t</i>	38

Tabulka 1: <i>Léčiva s účinnou látkou tramadol hydrochlorid dostupná v ČR [7]</i>	13
Tabulka 2: <i>Kombinované přípravky s tramadol hydrochloridem a paracetamolem dostupné v ČR [7]</i>	14
Tabulka 3: <i>Množství TH uvolněné do disolučního média $A_{t(l)}$ v čase t</i>	30
Tabulka 4: <i>Množství TH v tabletě po disoluci $A_{t(s)}$ v čase t</i>	34
Tabulka 5: <i>Parametry regrese disolučního profilu TH v léčivu Tralgit SR 200</i>	36
Tabulka 6: <i>Parametry regrese časového profilu úbytku TH v léčivu Tralgit SR 200 během disoluce</i>	36
Tabulka 7: <i>Průměrné hodnoty $\bar{O}A_{t(l)}$, $\bar{O}A_{t(s)}$, $\bar{O}A_{t(l)}+A_{t(s)}$ a příslušné směrodatné odchylky</i>	37

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

CR – řízené uvolňování (controlled release)

ČL – Český lékopis

GIT – gastrointestinální trakt

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HPMC – hydroxypropylmethylcelulosa

in vivo – v živém

p. a. – analytická čistota látek (pro analýzi)

rpm – otáčky za minutu (revolutions per minute)

SR – postupné uvolňování (sustained release)

SÚKL – Státní ústav pro kontrolu léčiv

TH – tramadol hydrochlorid

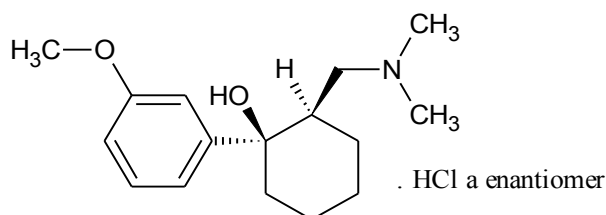
THF – tetrahydrofuran

UV/VIS – ultrafialová/viditelná oblast

1 ÚVOD

1.1 Tramadol hydrochlorid

Tramadol hydrochlorid (TH), podle chemického názvosloví (1*RS*,2*RS*)-2-[(dimethylamino)methyl]-1-(3-methoxyfenyl)cyclohexan-1-ol-hydrochlorid, jehož struktura je naznačena na obrázku 1, je centrálně působící analgetikum užívané ke zvládnutí středně těžké akutní a chronické bolesti [1, 2].

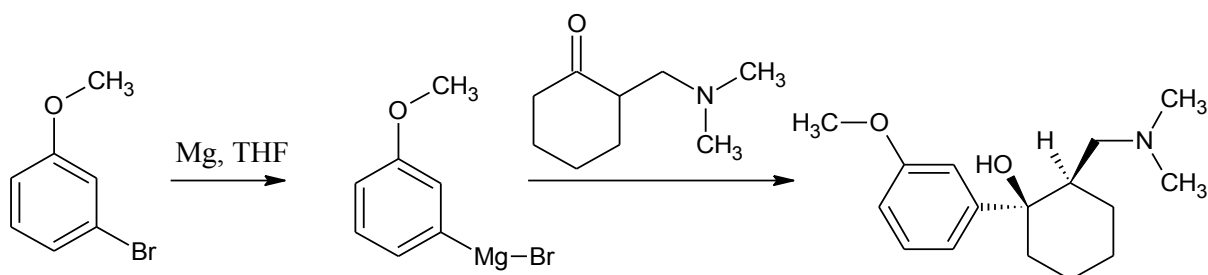


Obrázek 1: Struktura tramadol hydrochloridu

Skládá se ze dvou enantiomerů, přičemž každý přispívá k analgetické aktivitě jiným mechanismem: (+)-tramadol působí jako agonista μ -opioidních receptorů a inhibuje zpětné vychytávání serotoninu, (-)-tramadol inhibuje zpětné vychytávání noradrenalinu, což zlepšuje inhibici přenosu bolesti v míše. Vzhledem k synergickému působení obou enantiomerů se používá jako racemát [3]. TH je bílý krystalický prášek snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, velmi těžce rozpustný v acetonu. Jeho molekulová hmotnost je 299,84 g/mol [1].

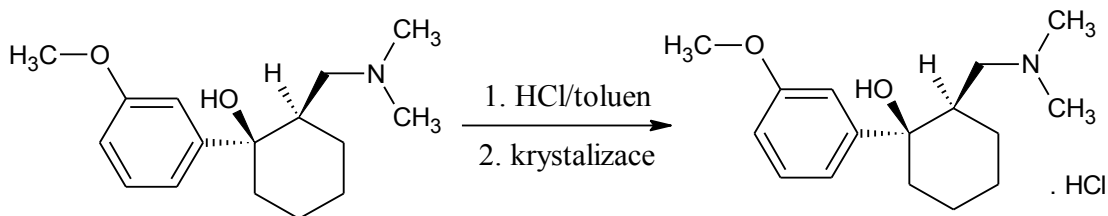
1.1.1 Syntéza

Syntéza tramadolu (obrázek 2) vychází z *m*-bromanisolu, z něhož se připraví příslušné Grignardovo činidlo, které se dále aduje na 2-[(dimethylamino)methyl]cyclohexanon [4].



Obrázek 2: Syntéza tramadolu

Získaný tramadol (bázi) lze převést na hydrochlorid přidáním kyseliny chlorovodíkové v přítomnosti toluenu a následnou rekrystalizací z nitrilového rozpouštědla (acetonitril) [5]. Tento postup je znázorněn na obrázku 3.



Obrázek 3: *Převedení tramadolu na hydrochlorid*

1.2 Léčiva s účinnou látkou tramadol hydrochlorid

Tramadol byl poprvé syntetizován v roce 1962 v Německu farmaceutickou společností Grünenthal, v roce 1977 byl uveden na trh pod názvem Tramal. Díky své odlišnosti od ostatních opioidů způsobilo toto léčivo revoluci na trhu léků proti bolesti [6]. V porovnání se silnými opiáty je TH lépe snášen, je prokázán nižší výskyt nežádoucích účinků (zejména útlumu dechu, zácpy) a při krátkodobém užívání téměř nehrozí vznik závislosti [2, 3].

TH může být pacientům podáván různými cestami: perorálně ve formě kapek, kapslí nebo tablet s klasickým či prodlouženým uvolňováním, rektálně zaváděním čípků, intravenózně a intramuskulárně injekční aplikací roztoku [2, 3]. Dnes je na trhu celá řada léčivých přípravků s účinnou látkou TH. Seznam léčiv dostupných v České republice je uveden v tabulce 1 [7].

Na českém trhu jsou k dostání rovněž přípravky obsahující tramadol hydrochlorid v kombinaci s paracetamolem, který napomáhá při zmírňování bolesti. Léčiva složená z těchto dvou účinných látek jsou přehledně shrnuta v tabulce 2 [7].

Tabulka 1: Léčiva s účinnou látkou tramadol hydrochlorid dostupná v ČR [7]

Název přípravku	Léková forma
MABRON 100 mg/2 ml	Injekční roztok
MABRON 50 mg	Tvrdé tobolky
MABRON RETARD 100 mg; 150 mg; 200 mg	Tablety s prodlouženým uvolňováním
NOAX UNO 100 mg; 200 mg; 300 mg	Tablety s prodlouženým uvolňováním
TRALGIT 50 mg	Tvrdé tobolky
TRALGIT 50 INJ; 100 INJ 50 mg/1 ml	Injekční roztok
TRALGIT GTT. 100 mg/ 1 ml	Perorální kapky, roztok
TRALGIT OROTAB 50 mg	Tablety dispergovatelné v ústech
TRALGIT SR 100 mg; 150 mg; 200 mg	Tablety s prodlouženým uvolňováním
TRAMABENE TOB. 50 mg	Tvrdé tobolky
TRAMABENE KAPKY 100 mg/1 ml	Perorální kapky, roztok
TRAMADOL MYLAN 100 mg; 150 mg; 200 mg	Tablety s prodlouženým uvolňováním
TRAMADOL RETARD ACTAVIS 100 mg	Tablety s prodlouženým uvolňováním
TRAMADOL SANDOZ RETARD 200 mg	Tablety s prodlouženým uvolňováním
TRAMAL ČÍPKY 100 mg	Čípky
TRAMAL INJ. ROZTOK 50 mg/1 ml	Injekční roztok
TRAMAL KAPKY 100 mg/1 ml	Perorální kapky, roztok
TRAMAL RETARD TABL. 100 mg; 150 mg; 200 mg	Tablety s prodlouženým uvolňováním
TRAMAL TOBOLKY 50 mg	Tvrdé tobolky
TRAMUNDIN RETARD 100 mg	Tablety s prodlouženým uvolňováním

Tabulka 2: Kombinované přípravky s tramadol hydrochloridem a paracetamolem dostupné v ČR [7]

Název přípravku	Léková forma
APO-TRAMADOL/PARACETAMOL 37,5 mg/325 mg	Potahované tablety
DOLETAM 37,5 mg/325 mg	Potahované tablety
DORETA 37,5 mg/325 mg; 75 mg/650 mg	Potahované tablety
FOXIS 37,5 mg/325 mg	Potahované tablety
MARATIA 37,5 mg/325 mg	Tablety
MEDRACET 37,5 mg/325 mg	Tablety
PALGOTAL 75 mg/650 mg	Potahované tablety
PARTRAMEC 37,5 mg/325 mg	Potahované tablety
TRAMYLPA 37,5 mg/325 mg	Potahované tablety
TUTUS 37,5 mg/325 mg	Potahované tablety
ZALDIAR 37,5 mg/325 mg	Potahované tablety
ZALDIAR EFFERVESCENS 37,5 mg/325 mg	Šumivé tablety

1.3 Cíl práce

Cílem této práce je na základě disoluční zkoušky prozkoumat kinetiku uvolňování tramadol hydrochloridu z léku Tralgit SR. Součástí tohoto úkolu je stanovení časového profilu úbytku tramadol hydrochloridu v tomto léčivu během disolučního testu a jeho porovnání s disolučním profilem uvedeného léčiva.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Pevné lékové formy s řízeným uvolňováním léčiva

S vývojem farmakokinetiky a biofarmacie vzrostl význam lékové formy – technologie zpracování účinné látky do léčivého přípravku. Velká pozornost byla věnována perorálním lékovým formám s řízeným uvolňováním léčivé látky, mezi jejichž zásadní výhody patří ve srovnání s klasickými formami snížení četnosti dávkování a výkyvů plazmatické koncentrace léčiva, s čímž souvisí i nižší výskyt nežádoucích účinků. Kolísající – vyšší nebo nižší – hladina léčivé látky v krvi, než je terapeutické optimum, může totiž vést k vystupňování nežádoucích účinků na jedné a k neléčení pacienta na druhé straně. Se zjednodušením dávkovacího režimu se zlepšuje také compliance pacienta [8, 9].

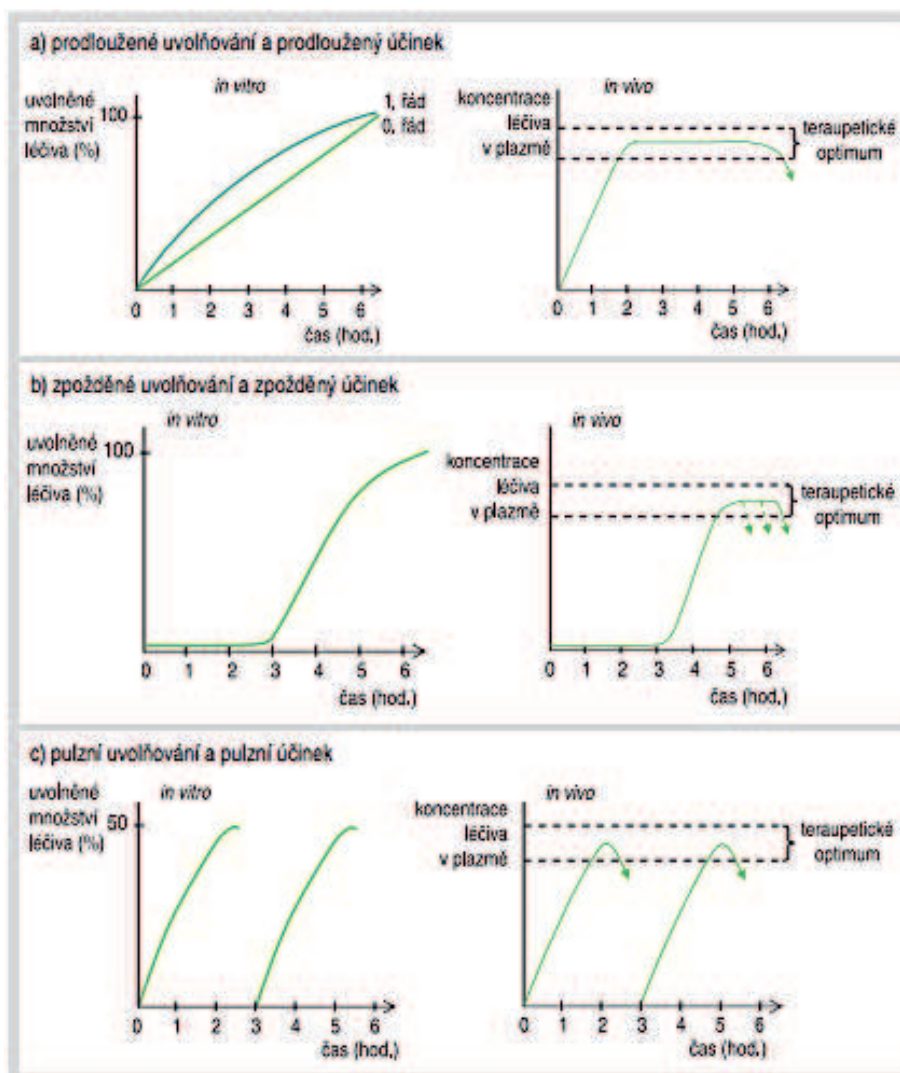
2.1.1 Řízené uvolňování léčiva

Názvosloví spojené s touto tematikou bylo až do počátku 21. století velmi nejednotné, proto se vedle pojmu řízené uvolňování (controlled release – CR) setkáváme v literatuře také s pojmy modifikované uvolňování, prodloužené uvolňování, pomalé (slow) či postupné (sustained) uvolňování – SR. Objevuje se také termín retardety podle častého označování těchto přípravků RETARD (z angl. retard, tj. zpomalený). Český lékopis (ČL) vydaný v roce 2002 dále rozlišuje řízené uvolňování léčiva na prodloužené, zpožděné a pulzní (obrázek 4) [9]. Řízené uvolňování léčiva může probíhat kontinuálně (prodloužené uvolňování) nebo diskontinuálně (zpožděné, pulzní uvolňování) na základě potřeb organismu a léčby daného onemocnění [8].

Prodloužené uvolňování léčiva znamená zabezpečení terapeutické hladiny účinné látky v krvi po požadovaný časový interval, tedy po dobu delší, než by byla po podání klasické formy léčiva. Delší působení léčiva je umožněno specifickými pomocnými látkami, speciálními technologickými postupy anebo jejich kombinací, tedy lékovou formou. Prodloužené uvolňování zajišťují lékové formy typu matrice (matricové tablety) a/nebo obaly zpomalující rozpouštění léčiva [9].

Zpožděné uvolňování léčiva je výhodné v případech, kdy se má účinná látka absorbovat až ve střevním traktu anebo tehdy, je-li žádoucí oddálit působení léčiva. To se hodí např. u onemocnění doprovázených nočními záchvaty (astma) nebo ranními obtížemi (artritida, Parkinsonova choroba) [9].

Pulzní uvolňování léčiva je vhodné např. při potřebě fyziologické opakované denní aplikace léčiva (inzulin) nebo při vývoji tolerance na podanou látku (nitráty) [9].



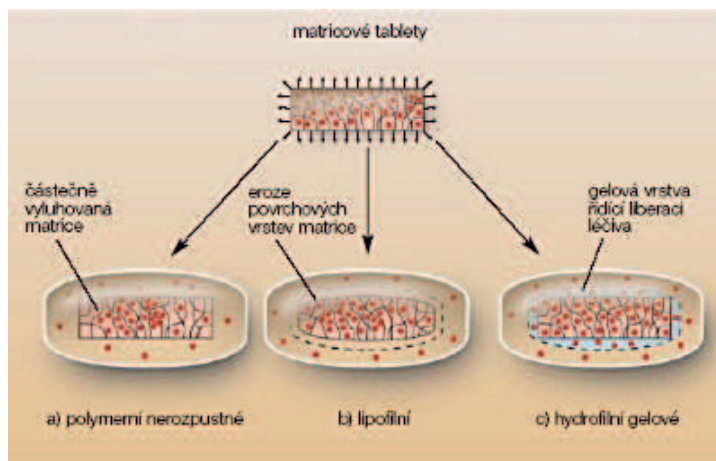
Obrázek 4: Řízené uvolňování a účinek léčiva: a) prodloužené b) zpožděné c) pulzní uvolňování /převzato z [9]

2.2 Matricové tablety

Matricové tablety patří k jednotkovým lékovým formám, což znamená, že tableta funguje jako jeden celek (systém). Vlastnosti tablety pak závisí především na vlastnostech nosné pomocné látky a účinné látky, které mohou být vhodně doplněny dalšími aditivami tak, aby přípravek splňoval požadované farmakologické vlastnosti a stabilitu [8, 9].

V závislosti na použitém nosiči (vehikulu) se rozlišují **polymerní nerozpustné**, **lipofilní**, **hydrofilní gelové**, případně směsné matricové tablety. Typy matricových tablet jsou

znázorněny na obrázku 5. Jako vehikula se používají látky zpomalující rozpouštění léčiva, a to nerozpustné polymery založené na derivátech kyseliny akrylové a metakrylové, tukové a voskové látky, či bobtnající polymery založené na derivátech celulosy [10].



Obrázek 5: Typy matricových tablet /převzato z [8]

2.2.1 Polymerní nerozpustné matricové tablety

Polymerní nerozpustné matrice jsou nejstarším typem perorálních matricových tablet. V klinické praxi se dnes stále používají (např. Dolmina SR – nesteroidní antirevmatikum; sodná sůl diklofenaku v ethylcelulosovém skeletu), od jejich výroby se však pomalu upouští, zejména je-li technologie založena na použití organických rozpouštědel [9].

Jsou tvořeny léčivou látkou dispergovanou v nerozpustných polymerech – těmi jsou nejčastěji amonioalkylmethakrylátové kopolymery a ethylcelulosa, méně bývají zastoupeny polyvinylchlorid, polyethylen a polystyren. Nosný polymer tvoří pevnou pórovitou strukturu – skelet. Z tohoto důvodu se tento typ matric někdy označuje také jako skeletové tablety. Skelet zajišťuje zpomalené rozpouštění léčivé látky v gastrointestinálním traktu (GIT), a tím také prodlouženou absorpci a účinek. Tvar tablety se nemění, z organismu odchází vyluhovaný skelet. Léčivá látka uniká z matrice ve formě roztoku kanálky vyplněnými vodou. Rychlost uvolňování závisí na pórovitosti léčiva a na dalších pomocných látkách [8, 9].

2.2.2 Lipofilní matricové tablety

Základem lipofilních matric jsou tuky a vosky – nejčastěji používané jsou mastné alkoholy (cetylalkohol), estery (glyceroldibehenát) nebo montanglykolový vosk. Léčivá látka je dispergována v nosiči a uvolňuje se erozí – tableta se postupně zmenšuje v důsledku hydrolýzy a rozpouštění tuků a vosků vlivem působení enzymů a změny pH v GIT. Rychlost uvolňování závisí na vlastnostech a koncentraci nosné látky a na dalších přidaných excipientech. Důvodem prodlouženého uvolňování je krátký biologický poločas léčiv [8, 9]. Příkladem léčiva s lipofilní matricí je **Tralgit SR** – opioidní analgetikum; tramadol hydrochlorid v matrici z glyceroldibehenátu [8, 9, 11].

2.2.3 Hydrofilní gelové matricové tablety

Hydrofilní gelové matrice jsou založené na bobtnajících polymerech typu celulosových derivátů (hydroxypropylmethylcelulosa – HPMC, sodná sůl karboxymethylcelulosy, hydroxypropylcelulosa, methylcelulosa), modifikovaných škrobů, karbomerů, povidonu nebo přírodních látek (kyselina alginová, želatina, přírodní gumy). Při styku s vodným prostředím (a tedy i GIT) probíhají procesy zvlhčení, hydratace a rozpouštění polymeru. Po zvlhčení se z povrchu matrice uvolní počáteční dávka rozpuštěného léčiva, která navozuje jeho terapeutickou koncentraci v krevní plazmě. Polymer začíná hydratovat a na povrchu tablety se tvoří gelová vrstva, která je nezbytná k dosažení kontrolovaného uvolňování léčiva. Tato ochranná vrstva gelu umožňuje vodě pomalu pronikat do tablety. Původní gelová vrstva se postupně rozpouští a nahrazuje ji vrstva nová, která musí být dostatečně pevná, aby zpomalovala difúzi a prodlužovala uvolňování léčiva. Uvolňování léčivé látky z tohoto typu matric probíhá v závislosti na rozpustnosti léčiva ve vodném prostředí. Ve vodě dobře rozpustná léčiva se uvolňují difúzí gelovou vrstvou, špatně rozpustná léčiva její erozí (případně kombinací obou dějů). Velikost tablety se během procesu mění – počáteční nabobtnalá vrstva tabletu zvětšuje, hydratace a vznik gelu se posouvají směrem do suchého jádra matrice a tableta se postupně zmenšuje, až zanikne. Rychlost uvolňování lze ovlivnit složením tablety a podmínkami výrobního procesu [8, 9, 10].

Hydrofilní gelové matrice získaly mezi matricovými systémy široké uplatnění především díky jednoduchosti výroby, malé finanční náročnosti technologie a přijatelné ceně excipientů. Příkladem může být Argofan SR – antidepressivum; venlafaxin hydrochlorid v matrici z HPMC [8, 9].

2.3 Disoluční zkouška

Zkouška disoluce pevných lékových forem je jednou z lékopisných kontrolních metod farmaceutické technologie. Využívá se při hodnocení kvality léčivých přípravků podávaných perorálně. Stanovuje se jí množství uvolněné léčivé látky z lékové formy v předepsané kapalině (disolučním médiu) v předepsaném čase. Na základě výsledků se odhaduje také biologická dostupnost léčivé látky *in vivo* a bioekvivalence generických léků. Disoluční testy jsou často nezbytnou součástí registrační dokumentace léku [12, 13, 14].

2.3.1 Podmínky k provedení zkoušky

Pro každé léčivo, u něhož je předepsána zkouška disoluce, jsou přesně stanoveny podmínky k jejímu provedení, a to:

- používaný přístroj,
- složení, objem a teplota disolučního média,
- rychlost otáčení/míra ponoru/průtoková rychlost disolučního média (dle přístroje),
- čas, způsob a množství odebraného roztoku ke stanovení obsahu léčiva,
- metoda stanovení obsahu léčiva [12, 13, 14].

2.3.2 Přístroje pro disoluční zkoušku a její postup

K vykonání disoluční zkoušky lze použít přístroje s míchadly či košíčky, přístroje s vratným válcem nebo přístroje s průtokovou celou. Všechny části přístroje přicházející do styku s léčivem nebo disoluční kapalinou musí být chemicky inertní. Používají se proto materiály, které neadsorbují, nesmějí reagovat a interferovat se zkoušeným přípravkem. Kovové části přístroje jsou vyrobeny z nerezové oceli (případně jsou chráněny vhodným materiálem). Aby se zamezilo ovlivnění výsledků, nesmí žádná část přístroje vykazovat vibrace nebo výkyvy, rotace hnací hřídele a průtok celou musí být plynulé. Přístroj se volí podle fyzikálně-chemických vlastností zkoušené lékové formy. Výhodné je použití přístroje, který umožňuje pozorování přípravku a jeho míchání během zkoušky [12, 13, 14].

Přístroj s míchadlem (pádlem) se skládá z průhledné nádoby válcovitého tvaru s kulatým dnem o objemu 1000 ml, která je vložena do vodní lázně zajišťující během zkoušky stálou teplotu disolučního média. Nádoba má víko k zamezení odpařování, uprostřed je otvor pro

hnací hřídel míchadla a další otvory pro teploměr a odběr disoluční kapaliny. Míchadlo má na spodním konci hřídele dvě lopatky, které se umísťují 2,5 cm od dna nádoby. Horní konec hřídele je napojen k motorové jednotce s regulací otáček. Do nádoby se odměří předepsané množství disolučního média, sestaví se přístroj a temperuje se na $37(\pm 0,5)$ °C. Poté se na dno nádoby vloží zkoušený léčivý přípravek a ihned se spustí míchání na předepsaný počet otáček. Po určitém čase se odebere vzorek roztoku a za použití vhodných analytických metod se stanoví obsah uvolněné účinné látky [12, 14].

Přístroj s košíčkem se od výše uvedeného přístroje liší pouze tím, že na spodním konci hřídele je jako míchací jednotka umístěn válcovitý košíček tvořený sítkou, do něhož se vkládá zkoušený přípravek. Provedení disoluční zkoušky je shodné s postupem uvedeným u přístroje s míchadlem [12, 14].

Přístroj s vratným válcem se skládá ze sady válcovitých skleněných nádob opatřených odpařovacími víky a ze sady skleněných vratných válců, které jsou na horní i dolní části překryty sítky. Pohyb válců svisle uvnitř nádob zajišťuje motor a hnací zařízení. Nádoby jsou z části ponořeny ve vodní lázni, která udržuje během zkoušky stálou teplotu. Všechny nádoby se naplní disoluční kapalinou, sestaví se přístroj a vytemperuje se na $37(\pm 0,5)$ °C. Do každého vratného válce se poté vloží jedna zkoušená tableta a přístroj se uvede do chodu. V předepsaném čase se válec vytáhne a odebere se vzorek disolučního média z každé nádoby. Následuje analýza vzorků [12].

Přístroj s průtokovou celou je složen ze zásobní nádoby a pumpy na disoluční kapalinu a z průhledné průtokové cely, která je spojena svisle s filtračním systémem bránícím úniku nerozpuštěných částic z horní části cely. Cely je ponořena do vodní lázně udržující teplotu $37(\pm 0,5)$ °C. Dolní kuželovitá část cely se naplní malými skleněnými kuličkami, na které se umístí zkoušená tableta. Zahřáté disoluční médium se čerpá pumpou přes dno cely tak, aby bylo dosaženo požadované rychlosti průtoku. V daných časech se odebírají vzorky kapaliny a provádí se jejich analýza [12].

2.4 Kinetický model I. řádu

Při matematickém vyhodnocování disolučního profilu lze využít kinetický model I. řádu, jehož rovnice má tvar:

$$-\frac{dA_{t(s)}}{dt} = k \cdot A_{t(s)}, \quad (1)$$

kde $A_{t(s)}$ je aktuální množství látky v tabletě v čase t a k je rychlostní konstanta. Jedná se o homogenní diferenciální rovnici, která se řeší separací proměnných a následnou integrací ve zvolených mezích. Za meze integrálu je volen počátek reakce (počáteční množství látky v tabletě A_0 a čas $t=0$) a stav v určitém čase (aktuální množství látky v tabletě $A_{t(s)}$ v čase t).

$$\frac{dA_{t(s)}}{A_{t(s)}} = -k \cdot dt$$

$$\int_{A_0}^{A_{t(s)}} \frac{dA_{t(s)}}{A_{t(s)}} = -k \cdot \int_0^t dt$$

$$\ln A_{t(s)} - \ln A_0 = \ln \frac{A_{t(s)}}{A_0} = -k \cdot t \quad (2)$$

$$A_{t(s)} = A_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (3)$$

Řešením diferenciální rovnice (1) je tedy exponenciální závislost počátečního množství látky v tabletě na čase – vztah (3). Z obrázku 6 (červená křivka) vyplývá, že množství látky v tabletě s časem exponenciálně klesá – účinná látka se z tablety postupně uvolňuje do disolučního média. Platí proto vztah:

$$A_{t(s)} = A_0 - A_{t(l)}, \quad (4)$$

který říká, že aktuální množství látky v tabletě v čase t ($A_{t(s)}$) odpovídá rozdílu počátečního množství látky v tabletě A_0 a aktuálního množství látky již uvolněné do disolučního média v tomto čase t ($A_{t(l)}$). Z výše uvedených rovnic (3) a (4) lze odvodit vztah:

$$A_{t(l)} = A_0 \cdot (1 - e^{-k \cdot t}). \quad (5)$$

Z obrázku 6 (modrá křivka) vyplývá, že množství látky v disolučním médiu s časem exponenciálně roste a nikdy není vyšší než počáteční množství látky v tabletě A_0 .

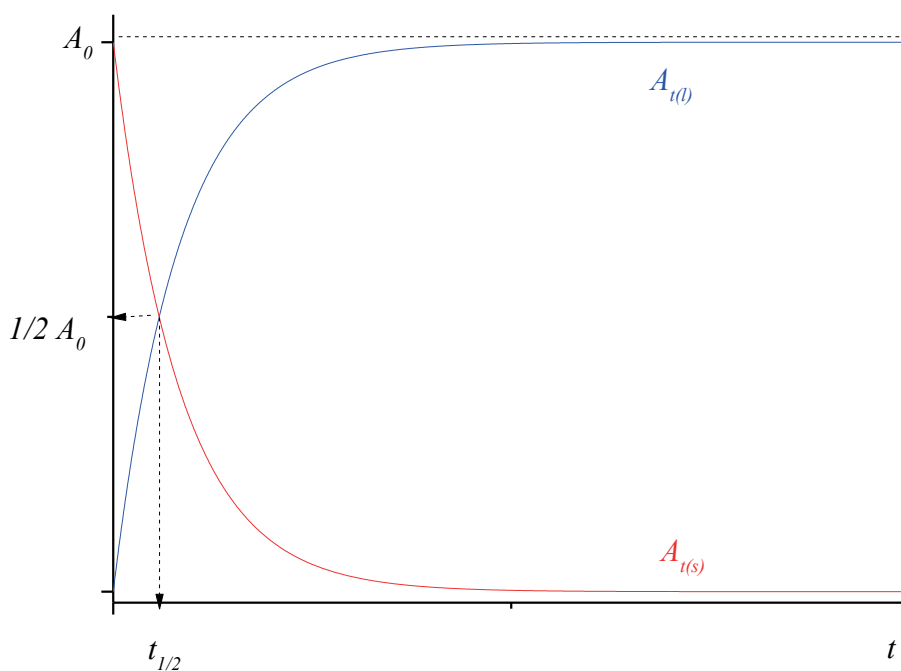
Čas, kdy dojde k uvolnění 50 % počátečního množství látky z tablety, tedy když množství látky v tabletě klesne na polovinu počátečního množství, se nazývá **poločas uvolňování** $t_{1/2}$.

$$\ln \frac{A_0}{A_0/2} = -k \cdot t_{1/2}$$

$$\ln 2 = k \cdot t_{1/2}$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (6)$$

Z výrazu (6) je patrné, že hodnota poločasu uvolňování nezávisí na počátečním množství látky, nýbrž pouze na velikosti rychlostní konstanty k , jejíž jednotkou je převrácená hodnota času (podle použité jednotky času, např. s^{-1}).



Obrázek 6: Časová závislost množství účinné látky (v tabletě $A_{t(s)}$ – červeně; v disolučním médiu $A_{t(l)}$ – modře); poločas uvolňování $t_{1/2}$

Závislost logaritmu počátečního množství látky v tabletě na čase ve tvaru výrazu (2) se využívá při verifikaci reakcí I. řádu, tedy ověření platnosti zvoleného matematického modelu pro danou reakci, nebo při výpočtu hodnoty rychlostní konstanty k . K tomu jsou potřeba

experimentální data uspořádaná do tabulky obsahující množství látky v tabletě a příslušný čas reakce [15].

Pokud je známo počáteční množství látky v tabletě A_0 , jsou data vynášena do souřadného systému $\ln \frac{A_0}{A_{t(s)}}$ proti t podle rovnice:

$$\ln \frac{A_0}{A_{t(s)}} = k \cdot t. \quad (7)$$

Jestliže se jedná o reakci I. řádu, lze vynesené body proložit přímkou procházející počátkem, jejíž směrnice přímo udává hodnotu rychlostní konstanty k .

V případě, že počáteční množství látky v tabletě není známo, je vynášena závislost $\ln A_{t(s)}$ na t , která je pro reakce I. řádu přímková se směrnici rovnou $-k$ (opačná hodnota rychlostní konstanty) a úsekem $\ln A_0$ podle vztahu:

$$\ln A_{t(s)} = -k \cdot t + \ln A_0. \quad (8)$$

Aplikace kinetického modelu I. řádu pro disoluční studie léčiv byla poprvé navržena roku 1967 Gibaldim a Feldmanem, později také Wagnerem (1969). Tento model je využíván rovněž k popisu absorpce a/nebo eliminace některých léčiv [16].

Kinetický model I. řádu vyhovuje při vyhodnocení disolučního profilu takovým lékovým formám, ze kterých se léčivo uvolňuje úměrně množství zůstávajícímu uvnitř takovým způsobem, že množství léčiva uvolněné za jednotku času se postupně snižuje. Takové chování vykazují např. lékové formy obsahující ve vodě rozpustné léčivo v porézní matici [16].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

- tramadol hydrochlorid $\geq 99,0\%$ (HPLC), Sigma-Aldrich, Co., St. Louis, USA
- destilovaná voda
- NaCl (chlorid sodný ČL 2009 – dopl. 2011, Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, ČR)
- 0,2 M NaCl – příprava: do odměrné baňky o objemu 2 l bylo převedeno 23,41 g NaCl, doplněno destilovanou vodou
- HCl (kyselina chlorovodíková 35% p. a., Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, ČR)
- 0,2 M HCl – příprava: do odměrné baňky o objemu 2 l bylo odměřeno 35 ml HCl, doplněno destilovanou vodou
- **disoluční médium – roztok o pH 1,2**

Příprava disolučního média:

250 ml 0,2 M NaCl + 425 ml 0,2 M HCl; do 1 l doplněno destilovanou vodou

- **Tralgit SR 200 (Zentiva, a. s., Slovenská republika)**



Obrázek 7: Balení a blistr s tabletami Tralgit SR 200

Tralgit SR (obrázek 7) jsou téměř bílé tablety s prodlouženým uvolňováním pro perorální podání. Prodloužený účinek je zajištěn pozvolným a rovnoměrným uvolňováním TH z lipofilní matrice, jejíž základní nosnou látkou je glyceroldibehenát. Disoluční profil léčiva optimalizuje nerozpustný hydrogenfosforečnan vápenatý (dihydrát). Dalšími pomocnými látkami jsou povidon 25 a koloidní bezvodý oxid křemičitý [8, 9, 11].

Na trhu je Tralgit SR dostupný ve třech variantách, a to jako tablety o síle 100, 150 nebo 200 mg účinné látky TH. Podává se pacientům od 14 let k tlumení středně silných až silných akutních i dlouhotrvajících bolestí různého původu. V obvyklých případech se užívá v intervalu 12 hodin (ráno a večer) – plazmatické koncentrace dostatečné pro analgetickou aktivitu trvají cca 12 hodin. Obvyklá denní dávka bývá 2-4 tablety o síle 100 mg, nebo 2 tablety o síle 150 či 200 mg. Na lékařovo doporučení je možné podat i vyšší dávky léku, a to zejména u pacientů s nádorovým onemocněním. Tablety se polykají celé (tablety 150 a 200 mg mají půlící rýhu a je možné je dělit). Mezi nejčastěji se vyskytující nežádoucí účinky patří závratě, bolesti hlavy, malátnost, nauzea, pocení a sucho v ústech [11, 17].

3.2 Laboratorní přístroje a pomůcky

- **disoluční jednotka AT 7smart** (SOTAX Pharmaceutical Testing s.r.o., Praha, ČR); přístroj s míchadly skládající se ze 7 skleněných nádob o objemu 1 l ponořených ve vodní lázni (obrázek 8)



Obrázek 8: Disoluční jednotka AT 7smart, SOTAX

- ultrazvuková lázeň K12 (Ilabo s.r.o., Kyjov, ČR)
- UV-VIS spektrofotometr Agilent 8453 (Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn, Německo), kyveta $d = 5 \text{ mm}$
- běžné laboratorní sklo
- lékovky
- lžička

- achátová třecí miska s tloučkem
- předvažovací váhy PT 210 (Sartorius, Göttingen, Německo)
- poloautomatické mikropipety: 100-1000 μ l, 1-10 ml Research (Eppendorf, Německo); 0,5-5 ml Transferpette S (Brand GmbH, Německo)
- stopky
- teploměr
- fotoaparát Canon PowerShot SX130 IS

3.3 Experimentální postupy

3.3.1 Měření UV/VIS spekter – metoda kalibrační přímky

Byly připraveny dva standardní roztoky tramadol hydrochloridu – v kyselém prostředí (roztok o pH 1,2) a ve vodném prostředí (destilovaná voda).

Bylo naváženo 20 mg TH a doplněno do 100 ml roztokem o pH 1,2. Z tohoto roztoku byla dále připravena řada kalibračních roztoků o různých známých koncentracích. Následně byla změřena UV/VIS spektra těchto roztoků proti samotnému roztoku o pH 1,2. Byla použita kyveta o tloušťce 5 mm.

Stejně množství TH (20 mg) bylo naváženo a doplněno do 100 ml destilovanou vodou. Z tohoto roztoku byla připravena řada kalibračních roztoků o různých koncentracích a byla změřena jejich UV/VIS spektra proti destilované vodě v kyvetě o tloušťce 5 mm.

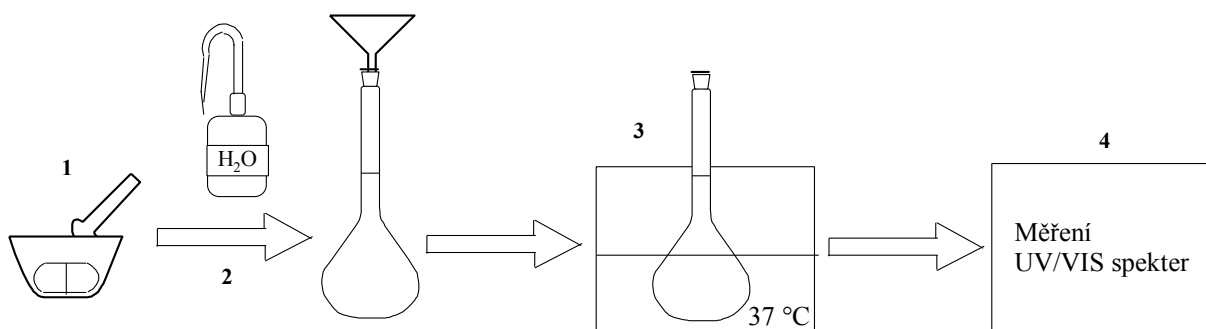
3.3.2 Disoluční zkouška

K provedení disoluční zkoušky byla zvolena pádélková metoda (přístroj AT 7smart, SOTAX). Do nádoby bylo odměřeno 1000 ml disolučního média – roztoku o pH 1,2. Po vytemperování média ve vodní lázni na 37 °C byla na dno nádoby vhozena tableta a bylo spuštěno míchání na 125 rpm. Po určitém čase (0,5 – 12 hod) byla zkouška ukončena. Tableta byla vyjmuta a ponechána do následujícího dne vysušit. Z nádoby s disolučním médiem byl vždy ihned po vyjmutí tablety odebrán kapalný vzorek, jehož UV/VIS spektrum bylo změřeno proti roztoku o pH 1,2 v 5 mm kyvetě. Disoluční zkouška byla provedena pro každý čas třikrát, přičemž analýza každého kapalného vzorku byla na UV/VIS spektrofotometru

zopakována rovněž třikrát. Celkem tedy bylo naměřeno 9 hodnot absorbančí (odečítaných při vlnové délce 271 nm) pro každý čas.

3.3.3 Stanovení tramadol hydrochloridu v tabletě po disoluci

Vysušená tableta byla rozdrčena v achátové třecí misce na jemný prášek, převedena pomocí stříčky s destilovanou vodou do odměrné baňky (250 ml) a doplněna destilovanou vodou po rysku. Odměrná baňka byla poté umístěna do ultrazvukové lázně vyhřáté na 37 °C a rozdrčená tableta se nechala rozpouštět. Každých 10 minut byla baňka z lázně vyjmuta, z roztoku tablety byl do zkumavky pipetován 1 ml, k němuž byly pipetovány 3 ml destilované vody a po přelítí do 5 mm kyvety bylo změřeno UV/VIS spektrum tohoto vzorku proti destilované vodě. Po ustálení hodnoty absorbančí (cca po hodině) bylo měření zopakováno třikrát. Pro každý čas byly takto zpracovány tři tablety – bylo tedy získáno rovněž 9 hodnot absorbančí (odečítaných při 271 nm) pro každý čas. Postup zpracování tablety je znázorněn na obrázku 9.



Obrázek 9: Mechanické zpracování tablety (1 – drcení, 2 – převedení do roztoku, 3 – ultrazvuková lázeň, 4 – analýza UV/VIS spektrometrií)

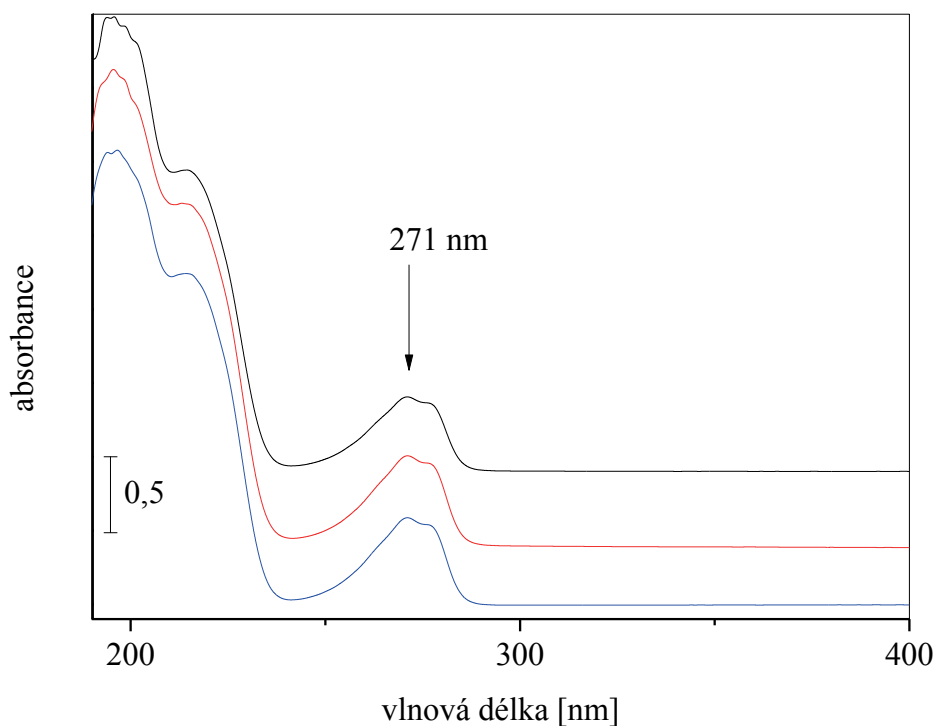
3.4 Použité programy

- UV-Visible ChemStation (Agilent Technologies 95-02)
- MS Excel 2010
- OriginPro 9
- ACD/ChemSketch 12

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 UV/VIS spektra a kalibrační přímky tramadol hydrochloridu

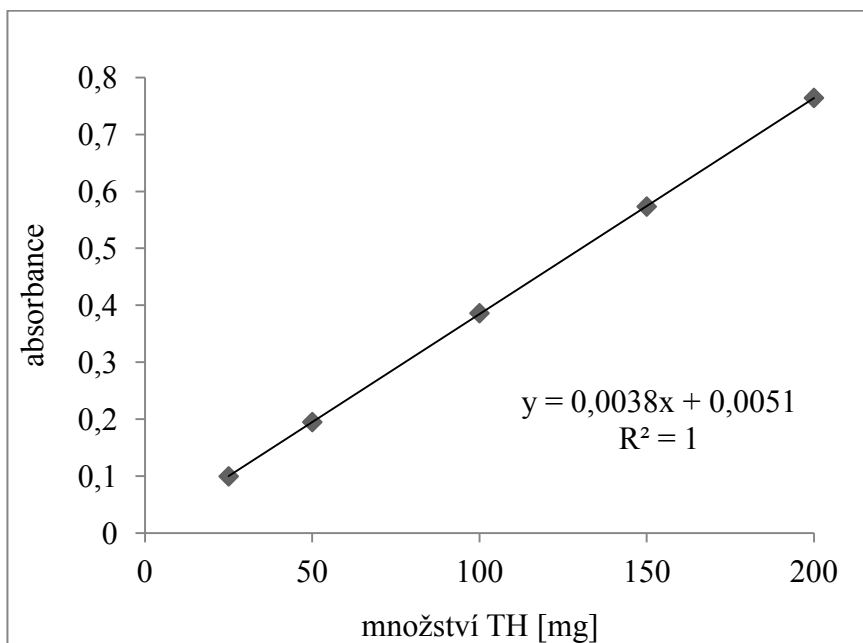
Z připravených standardních roztoků (20 mg TH doplněných do 100 ml roztokem o pH 1,2/destilovanou vodou) byly připraveny příslušné řady kalibračních roztoků a byla změřena jejich spektra v ultrafialové a viditelné oblasti (190 – 800 nm). Spektra byla měřena proti samotnému roztoku o pH 1,2/destilované vodě v kyvetě o tloušťce 5 mm. Bylo zjištěno, že spektra poskytují dva výrazné pásy s vlnovými délkami absorpčních maxim 196 nm a 271 nm. Na obrázku 10 jsou zobrazena naměřená spektra pouze v oblasti 190 – 400 nm, protože v oblasti nad 400 nm spektrum již neposkytuje žádné absorpční pásy. K vyhodnocení závislosti množství účinné látky TH na čase bylo použito absorpční maximum 271 nm. Při této vlnové délce byly proměřeny všechny kalibrační roztoky.



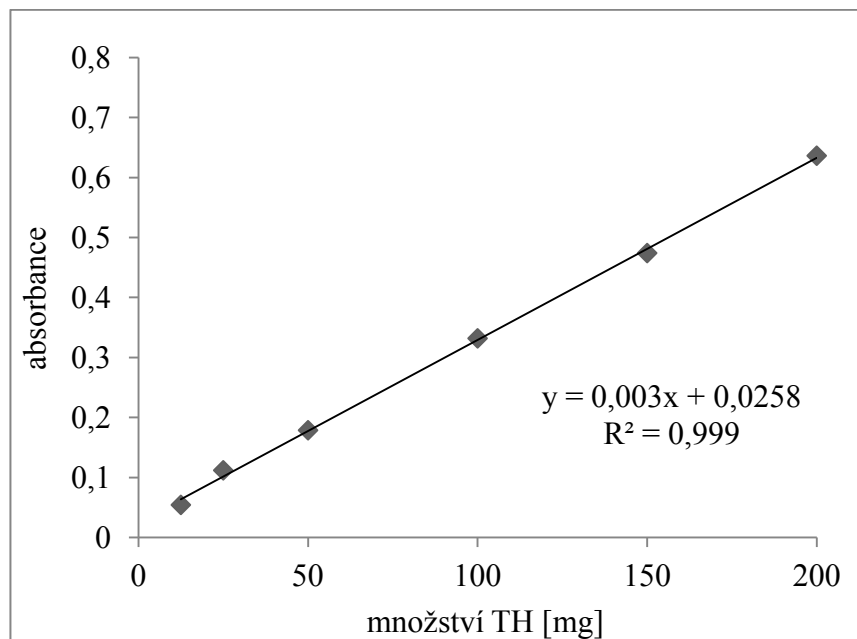
Obrázek 10: UV/VIS spektra TH v roztoku o pH 1,2 – červeně, v destilované vodě – modře a spektrum léčiva Tralgit SR ve vodě – černě

Získané kalibrační přímky (závislosti absorbance na množství TH proložené lineární regresí) pro jednotlivá prostředí jsou znázorněny na obrázku 11 (kyselé) a na obrázku 12 (vodné

prostředí). Proložení lineární regresí byly získány rovnice potřebné pro přepočet naměřených hodnot absorbancí vzorků na množství TH v miligramech. Dále byly zjištěny korelační koeficienty R^2 , z jejichž hodnot vyplývá, že v dané oblasti byla ověřena platnost Lambert-Beerova zákona.



Obrázek 11: Kalibrační přímka TH v roztoku o pH 1,2



Obrázek 12: Kalibrační přímka TH v destilované vodě

4.2 Disoluční profil tramadol hydrochloridu v léčivu Tralgit SR

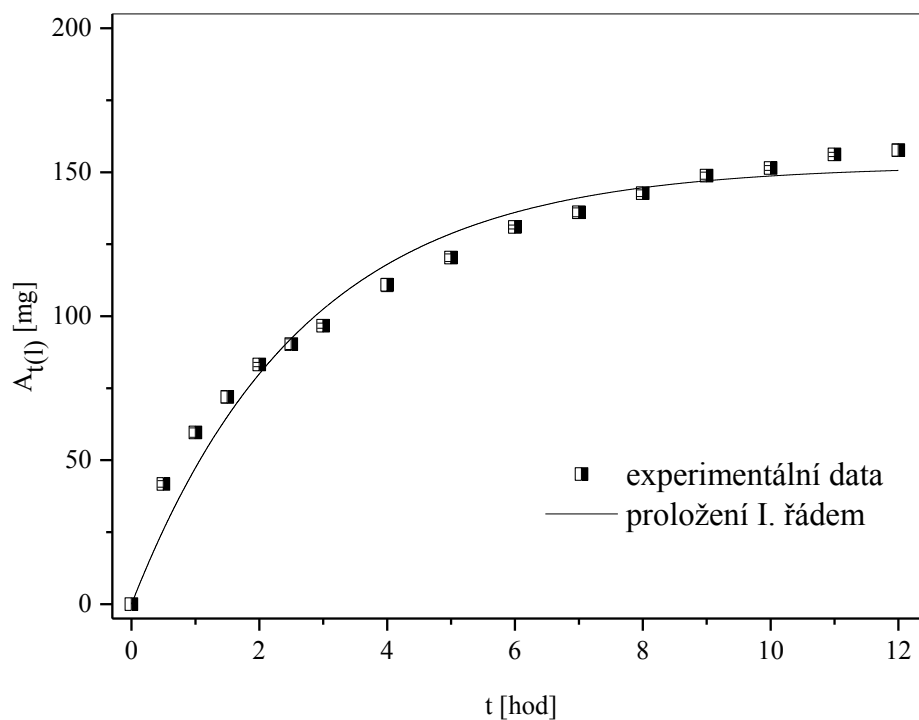
Disoluční zkouška tablety Tralgit SR 200 v disolučním médiu (roztok o pH 1,2) probíhala vždy při 37 °C a 125 rpm po určitý čas t (0,5 – 12 hod). Po ukončení zkoušky byl odebrán kapalný vzorek média a byla měřena jeho UV/VIS spektra v 5 mm kyvetě proti roztoku o pH 1,2. Hodnoty absorbancí byly odečítány při absorpčním maximu 271 nm.

Pro každý čas byla disoluční zkouška provedena třikrát, přičemž absorbance byla pro každý tento pokus měřena rovněž třikrát – pro každý čas bylo tedy získáno celkem 9 hodnot absorbancí. Naměřené hodnoty absorbancí byly poté přepočítány podle kalibrační rovnice $y = 0,0038x + 0,0051$ na množství účinné látky TH uvolněné do disolučního média v čase $t - A_{t(t)}$ v miligramech (tabulka 3).

Tabulka 3: Množství TH uvolněné do disolučního média $A_{t(t)}$ v čase t

t [hod]	$A_{t(t)1}$ [mg]	$A_{t(t)2}$ [mg]	$A_{t(t)3}$ [mg]	$A_{t(t)4}$ [mg]	$A_{t(t)5}$ [mg]	$A_{t(t)6}$ [mg]	$A_{t(t)7}$ [mg]	$A_{t(t)8}$ [mg]	$A_{t(t)9}$ [mg]
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	40,42	41,08	40,52	41,08	41,44	41,53	43,14	43,47	42,85
1	55,57	59,13	59,34	60,68	60,89	60,32	60,11	60,12	60,15
1,5	68,33	70,09	69,82	72,38	73,91	73,96	73,05	74,17	71,95
2	82,12	83,08	82,76	82,04	83,52	83,52	83,95	83,99	83,95
2,5	91,29	94,24	91,15	88,46	89,29	90,07	88,12	89,36	90,53
3	95,99	96,13	96,40	95,81	96,33	96,08	97,83	98,14	97,57
4	111,96	111,72	113,00	112,44	113,00	111,91	107,43	108,07	108,16
5	119,02	120,93	120,00	119,78	121,69	122,32	118,23	119,69	121,20
6	131,13	132,08	130,87	130,17	130,59	130,71	130,29	131,92	131,11
7	134,57	136,72	138,56	134,57	136,52	137,51	134,03	135,46	136,94
8	142,81	140,94	143,74	142,50	143,04	143,63	140,92	144,27	142,65
9	148,54	149,66	148,65	149,18	149,38	150,46	146,23	147,72	149,27
10	150,24	151,13	152,02	150,18	151,42	152,09	152,05	152,39	151,78
11	155,10	155,78	157,06	155,43	156,03	155,74	157,07	156,82	156,69
12	155,66	157,34	160,13	154,23	156,03	160,38	157,76	159,16	158,50

Vynesením těchto hodnot do grafu $A_{t(t)}=f(t)$ byl získán disoluční profil tramadol hydrochloridu v daném léčivu. Disoluční profil byl následně proložen kinetickým modelem I. řádu (obrázek 13) a Weibullovým statistickým modelem (obrázek 14). Výsledky regresní analýzy jsou graficky zobrazeny ve formě závislosti průměrných hodnot $A_{t(t)}$ s vyznačenými směrodatnými odchylkami (rozptylové úsečky) na čase.

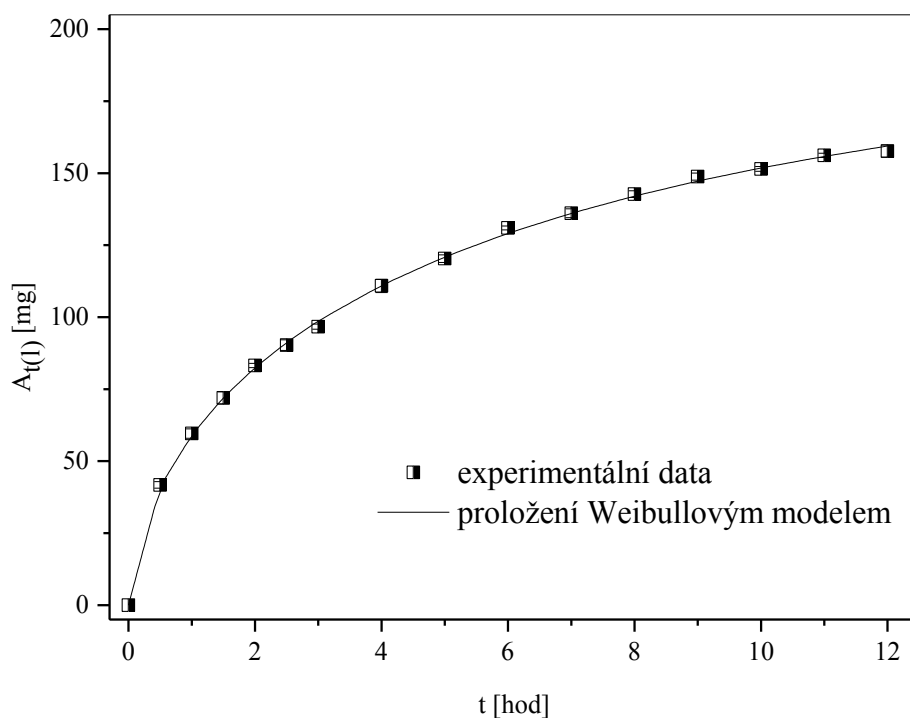


Obrázek 13: Disoluční profil TH v léčivu Tralgit SR 200 – proložení I. řádem

Kromě kinetického modelu I. řádu (viz kapitola 2.4) byl využit **Weibullův statistický model**, jehož rovnice pro $A_{t(t)}$ má tvar:

$$A_{t(t)} = A_0 \cdot (1 - e^{-(t \cdot l)^d}), \quad (9)$$

kde parametr A_0 je stejně jako u I. řádu počáteční množství látky v tabletě, l je konstanta kompenzující rozměr času a d je parametr určující tvar funkce. Pokud $d=1$, jedná se o I. řád.



Obrázek 14: Disoluční profil TH v léčivu Tralgit SR 200 – proložení Weibullovým modelem

4.3 Časový profil úbytku tramadol hydrochloridu v léčivu Tralgit SR během disoluce

Časový profil úbytku TH v léčivu Tralgit SR během disolučního testu byl získán stanovením obsahu TH v tabletě po disoluci v každém čase. Tablety byly po ukončení disoluční zkoušky vyjmuty z média a vysušeny – jejich vizuální změna je zachycena na fotografiích pořízených před disolucí, po 6 hodinách a po 12 hodinách disoluce (obrázek 15). Lze pozorovat, že tablety se jen nepatrně zmenšují a i po provedení nejdelšího pokusu (12 hodin) jsou stále v celku, přestože by se u léčiva s lipofilní matricí dalo spíše očekávat výraznější zmenšování.



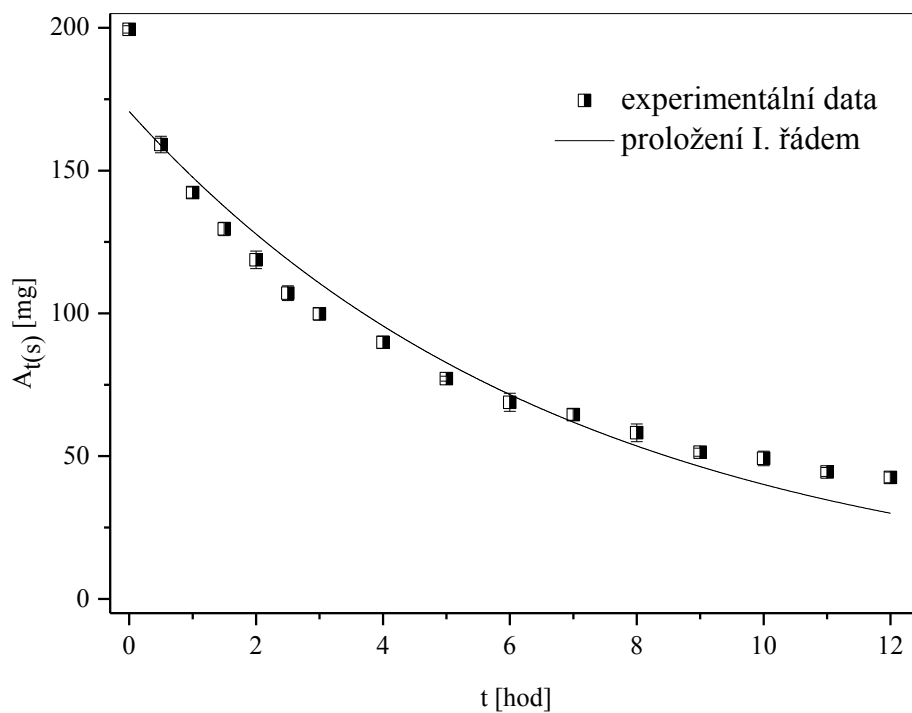
Obrázek 15: Změna tablety během disoluce (zleva: před disolucí, po 6 hod., po 12 hod.)

Data udávající obsah účinné látky v tabletě byla naměřena pomocí UV/VIS spektrometrie v 5 mm kyvetě – absorbance byly odečítány při vlnové délce 271 nm. Protože byla tableta rozpuštěna v destilované vodě (z důvodu snadnějšího převedení do roztoku), probíhalo i měření vzorků proti destilované vodě. Hodnoty absorbancí byly ustáleny cca po hodině rozpouštění tablety v ultrazvukové lázni vyhřáté na 37 °C. Pro každý čas byly mechanicky zpracovány tři tablety, analýza byla prováděna po ustálení hodnot absorbancí pro každou tabletu třikrát – celkem tedy bylo získáno rovněž 9 hodnot absorbancí pro každý čas. Naměřené hodnoty absorbancí byly přepočítány podle kalibrační rovnice $y = 0,003x + 0,0258$ na množství účinné látky TH v tabletě po disoluci v čase $t - A_{t(s)}$ v miligramech (tabulka 4).

Po vynesení hodnot do grafu $A_{t(s)}=f(t)$ byl získán časový profil úbytku TH v daném léčivu během disoluce. Bylo opět použito proložení kinetickým modelem I. řádu (obrázek 16) a Weibullovým statistickým modelem (obrázek 17). Výsledky regresní analýzy jsou graficky zobrazeny ve formě závislosti průměrných hodnot $A_{t(s)}$ s vyznačenými směrodatnými odchylkami na čase.

Tabulka 4: Množství TH v tabletě po disoluci $A_{t(s)}$ v čase t

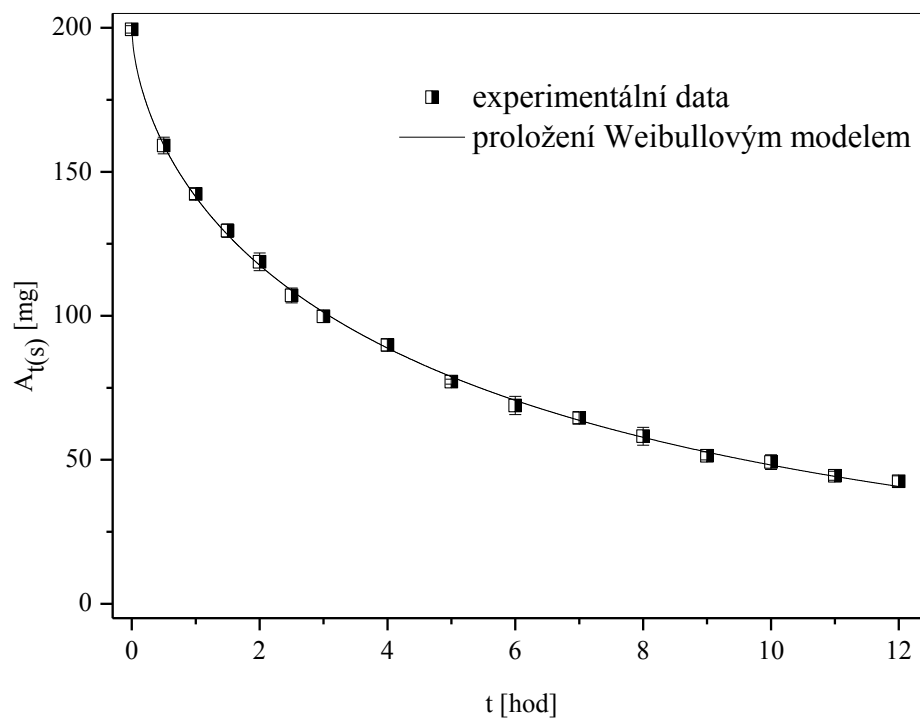
t [hod]	$A_{t(s)1}$ [mg]	$A_{t(s)2}$ [mg]	$A_{t(s)3}$ [mg]	$A_{t(s)4}$ [mg]	$A_{t(s)5}$ [mg]	$A_{t(s)6}$ [mg]	$A_{t(s)7}$ [mg]	$A_{t(s)8}$ [mg]	$A_{t(s)9}$ [mg]
0	198,00	199,34	199,53	199,09	198,05	201,24	198,04	200,87	200,94
0,5	154,18	159,00	157,08	159,00	161,20	162,08	155,97	161,32	162,36
1	142,95	141,09	139,23	143,27	145,22	144,84	141,18	141,66	141,46
1,5	128,00	130,09	127,17	131,68	131,09	134,15	127,72	128,38	128,01
2	114,65	120,96	121,58	120,51	120,53	122,60	114,90	117,90	117,04
2,5	104,10	106,75	105,37	109,63	110,50	110,60	104,29	105,50	106,78
3	97,25	100,53	99,19	101,34	102,38	103,14	97,91	98,42	97,98
4	87,60	89,41	87,20	91,84	93,21	92,19	88,98	89,15	88,96
5	75,74	77,20	76,47	78,07	77,95	78,31	76,32	76,73	77,27
6	64,59	66,34	64,83	72,11	70,87	73,05	67,55	69,27	71,10
7	63,60	63,72	65,56	61,89	66,50	68,28	62,48	64,79	64,03
8	56,80	59,42	59,24	59,00	61,26	63,46	54,69	55,22	54,52
9	50,54	52,81	53,88	52,23	51,44	51,41	49,40	49,87	50,95
10	49,77	53,06	51,73	48,68	49,45	51,10	45,35	46,31	47,39
11	44,06	44,26	44,32	43,16	45,52	47,92	42,55	43,53	44,61
12	42,34	43,24	46,54	40,52	42,18	44,01	40,57	42,28	41,27



Obrázek 16: Časový profil úbytku TH v léčivu Tralgit SR 200 během disoluce – proložení I. řádem

Pro $A_{t(s)}$ má rovnice Weibullova modelu tvar:

$$A_{t(s)} = A_0 \cdot e^{-(t \cdot t)^d}. \quad (10)$$



Obrázek 17: Časový profil úbytku TH v léčivu Tralgit SR 200 během disoluce – proložení Weibullovým modelem

4.4 Porovnání disolučního profilu TH s časovým profilem úbytku TH v léčivu Tralgit SR během disoluce

Výsledné parametry použitých modelů jsou přehledně uspořádány v tabulce 5 (proložení disolučního profilu TH) a v tabulce 6 (proložení časového profilu úbytku TH v tabletě během disoluce).

Tabulka 5: Parametry regrese disolučního profilu TH v léčivu Tralgit SR 200

Parametr	I. řád	Weibull
	$A_{t(l)} = A_0 \cdot (1 - e^{-k \cdot t})$	$A_{t(l)} = A_0 \cdot (1 - e^{-(l \cdot t)^d})$
R ²	0,974667	0,998609
A ₀ ± sd [mg]	152,390008 ± 1,24747	204,031888 ± 3,616472
k ± sd [hod ⁻¹]	0,372131 ± 0,009537	
l ± sd [hod ⁻¹]		0,167394 ± 0,009042
d ± sd		0,60099 ± 0,008466

Tabulka 6: Parametry regrese časového profilu úbytku TH v léčivu Tralgit SR 200 během disoluce

Parametr	I. řád	Weibull
	$A_{t(s)} = A_0 \cdot e^{-k \cdot t}$	$A_{t(s)} = A_0 \cdot e^{-(l \cdot t)^d}$
R ²	0,943745	0,996917
A ₀ ± sd [mg]	170,727458 ± 1,995461	199,830927 ± 0,80213
k ± sd [hod ⁻¹]	0,144914 ± 0,003569	
l ± sd [hod ⁻¹]		0,177679 ± 0,001609
d ± sd		0,612948 ± 0,005714

Na základě těchto regresních výsledků lze konstatovat, že uvolňování tramadol hydrochloridu z léčiva Tralgit SR nevyhovuje kinetický model I. řádu. Proložení profilů I. řádem není ideální, což je patrné již z grafů (obrázek 13 a 16), parametry R² udávající těsnost proložení jsou proto nízké a hodnoty počátečního množství látky v tabletě A₀ neodpovídají 200 mg. To je v rozporu s výsledky prezentovanými v práci [18], ve které byl stanoven pouze disoluční profil léčiva Tralgit SR (při různých pH disolučního média). Práce [18] uvádí, že uvolňování TH z tohoto léčiva během 24 hodin se řídí kinetickým modelem I. řádu. Vzhledem k různému počtu experimentálních bodů (odlišné časové intervaly) nelze výsledky obou prací dobře porovnat.

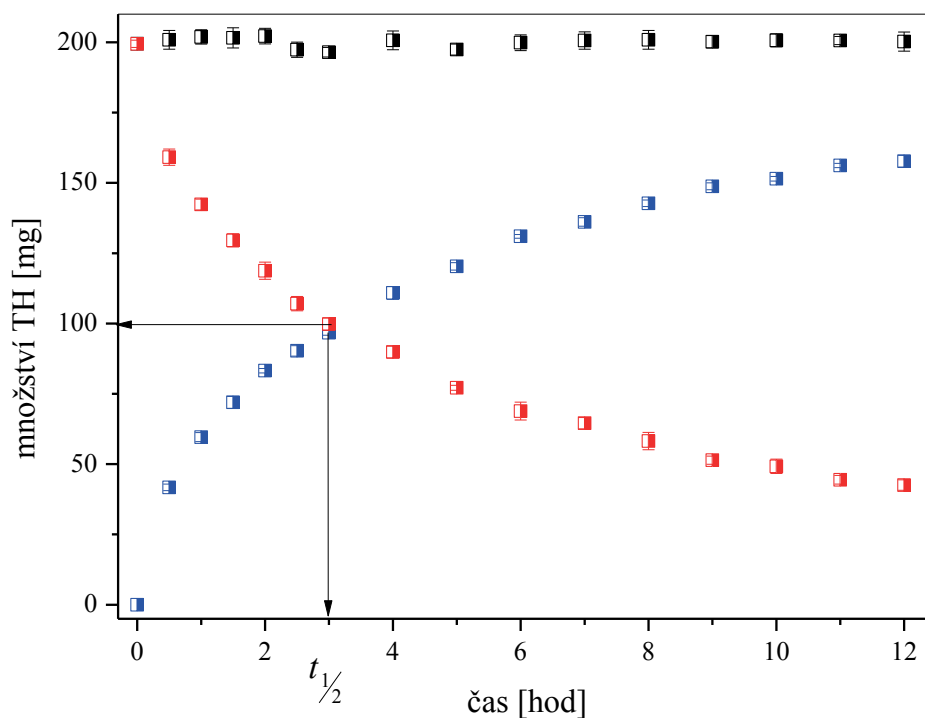
Pro popis kinetiky uvolňování udává lepší výsledky Weibullův statistický model, jehož R^2 je 0,998609 pro disoluční profil TH a 0,996917 pro časový profil úbytku TH v tabletě během disoluce. Tvzení, že uvolňování TH ze zkoušeného léčiva vyhovuje Weibullův model, je podpořeno také podobností jednotlivých parametrů tohoto modelu pro oba profily. Počáteční množství účinné látky v tabletě A_0 je podle výsledků regrese 204,03 mg (disoluční profil TH) a 199,83 mg (časový profil úbytku TH v tabletě během disoluce). Obě hodnoty vycházejí navíc ± 200 mg, což odpovídá skutečnému počátečnímu množství TH v tabletě. Parametry l a d jsou rovněž pro oba profily velmi podobné (tabulka 5 a 6). Jedním z hlavních poznatků této práce je tedy skutečnost, že disoluční profil TH a časový profil úbytku TH z léčiva během disoluce lze popsat stejným modelem.

V tabulce 7 jsou pro jednotlivé časy t vypočteny průměrné hodnoty množství TH uvolněného do disolučního média $\bar{O}A_{t(l)}$ a příslušné směrodatné odchylky $sd_{(l)}$, dále průměrné hodnoty množství TH v tabletě po disoluci $\bar{O}A_{t(s)}$ a příslušné směrodatné odchylky $sd_{(s)}$. Pro vynesení průměrného součtu hodnot $\bar{O}A_{t(l)+A_{t(s)}}$ byla vytvořena pomocná tabulka (není v práci uvedena), v níž byly sečteny jednotlivé hodnoty $A_{t(l)n}+A_{t(s)n}$, kde n je měření číslo 1-9. Z takto vzniklých devíti součtů pro každý čas byl následně vypočten průměr $\bar{O}A_{t(l)+A_{t(s)}}$, který je již zobrazen v tabulce 7, a to včetně směrodatných odchylek $sd_{(l+s)}$.

Tabulka 7: Průměrné hodnoty $\bar{O}A_{t(l)}$, $\bar{O}A_{t(s)}$, $\bar{O}A_{t(l)+A_{t(s)}}$ a příslušné směrodatné odchylky

t	$\bar{O} A_{t(l)}$	$sd_{(l)}$	$\bar{O} A_{t(s)}$	$sd_{(s)}$	$\bar{O} A_{t(l)+A_{t(s)}}$	$sd_{(l+s)}$
[hod]	[mg]	[mg]	[mg]	[mg]	[mg]	[mg]
0	0,00	0,00	199,46	1,23	199,46	1,23
0,5	41,73	1,08	159,13	2,73	200,86	3,32
1	59,59	1,52	142,32	1,81	201,91	2,55
1,5	71,96	1,98	129,59	2,20	201,55	3,58
2	83,21	0,72	118,77	2,87	202,18	2,77
2,5	90,28	1,74	107,06	2,42	197,34	2,71
3	96,70	0,84	99,79	2,01	196,49	1,69
4	110,85	2,15	89,84	1,97	200,69	3,33
5	120,32	1,24	77,12	0,83	197,44	1,95
6	130,99	0,62	68,86	2,98	199,84	2,82
7	136,10	1,44	64,54	1,89	200,64	3,08
8	142,72	1,10	58,18	2,92	200,90	3,34
9	148,79	1,16	51,39	1,34	200,18	2,22
10	151,48	0,76	49,20	2,40	200,68	2,33
11	156,19	0,69	44,44	1,47	200,63	1,45
12	157,69	1,97	42,55	1,78	200,24	3,39

Vynesením disolučního profilu TH a časového profilu úbytku TH z léčiva během disoluce do společného grafu (obrázek 18) byl získán průsečík [3 hod; 100 mg], který odpovídá poločas uvolňování $t_{1/2}$. Polovina počátečního množství účinné látky TH ($\frac{A_0}{2} = 100$ mg) se uvolní z tablety do disolučního média za 3 hodiny.



Obrázek 18: Závislost množství TH ($\varnothing A_{t(l)}$ – modře, $\varnothing A_{t(s)}$ – červeně, $\varnothing A_{t(l)} + A_{t(s)}$ – černě) na čase t

Do tohoto grafu (obrázek 18) byly vyneseny také průměrné hodnoty součtu $\varnothing A_{t(l)} + A_{t(s)}$, ze kterých vyplývá, že sečtením uvolněného množství TH do disolučního média a množství TH v tabletě po disoluci udává ± 200 mg, což odpovídá počátečnímu množství TH v tabletě Tralgit SR 200. Přírůstek účinné látky v disolučním médiu a zároveň úbytek této látky v tabletě během disoluce v každém čase jsou přibližně stejné. Lze proto usuzovat, že metoda zpracování tablet po disoluci byla zvolena správně. Důkazem je, že během tohoto procesu nedochází k žádným podstatným ztrátám účinné látky TH.

Z obrázku 18 lze dále vyčíst, že po 12 hodinách disoluce zůstává v tabletě stále cca 40 mg účinné látky, což je ještě pětina počátečního množství. Tato skutečnost potvrzuje, že je Tralgit SR vhodné léčivo zajišťující prodloužené uvolňování účinné látky.

5 ZÁVĚR

V této práci byla prostudována kinetika uvolňování účinné látky tramadol hydrochlorid z léčiva Tralgit SR 200. Byla provedena disoluční zkouška tohoto léčiva, z níž byla získána experimentální data udávající množství uvolněné účinné látky do disolučního média (roztok o pH 1,2) v čase t , tedy disoluční profil tramadol hydrochloridu.

Byla vyvinuta metoda stanovení obsahu tramadol hydrochloridu v tabletě po disoluci v každém čase t . Na základě této metody byl získán časový profil úbytku tramadol hydrochloridu v uvedeném léčivu během disoluce. Bylo zjištěno, že přírůstek účinné látky v disolučním médiu a zároveň úbytek této látky v tabletě během disoluce v každém čase jsou přibližně stejné, z čehož vyplývá, že během procesu zpracování tablety nedochází k žádným podstatným ztrátám tramadol hydrochloridu. Lze proto konstatovat, že zvolená metoda poskytuje spolehlivé výsledky. Nevýhodou této metody je však velká časová náročnost, z tohoto důvodu byla nejdelší doba disoluční zkoušky 12 hodin. Protože i po 12hodinovém testu byl v tabletě stanoven stále vysoký obsah tramadol hydrochloridu (± 40 mg), bylo by žádoucí prodloužit pokusy až na dobu 24 hodin, aby bylo zjištěno, v jakém čase je již veškerá látka z tablety uvolněna. Je nutné ovšem podotknout, že na všechny pokusy v rámci práce bylo celkem spotřebováno 48 tablet léčiva, při prodloužení pokusů by byla spotřeba ještě větší.

Získané profily tramadol hydrochloridu v léčivu Tralgit SR byly porovnány a vyhodnoceny pomocí nelineární regrese naměřených dat kinetickým modelem I. řádu a Weibullovým statistickým modelem. Bylo zjištěno, že nejlépe kinetiku uvolňování tramadol hydrochloridu z léčiva Tralgit SR popisuje Weibullův model, jehož parametry jsou pro oba profily velmi podobné. Z průsečíku profilů byl zjištěn poločas uvolňování $t_{1/2} = 3$ hodiny. Výsledky jsou dobře reprodukovatelné, což je patrné z výsledných profilů a jejich regresní analýzy.

6 LITERATURA

- [1] *Český lékopis 2002 – Doplněk 2004, 2. díl*. Praha: Grada Publishing, 2004, s. 8614. ISBN 80-247-9007-6.
- [2] LEE, C. Rhoda, Donna MCTAVISH and Eugene M. SORKIN. Tramadol: A preliminary review of its pharmacodynamics and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in acute and chronic pain states. *Drugs*. 1993, **46**(2), 313-340. ISSN 0012-6667.
- [3] GROND, Stefan and Armin SABLLOTZKI. Clinical pharmacology of tramadol. *Clinical Pharmacokinetics*. 2004, **43**(13), 879-923. ISSN 0312-5963.
- [4] HAMPL, František, Stanislav RÁDL a Jaroslav PALEČEK. *Farmakochemie*. 2. rozš. vyd. Praha: VŠCHT Praha, 2007, s. 124. ISBN 978-80-7080-639-5.
- [5] MALLINCKRODT INC. Synthesis and purification of (r*,r*)-2-[(dimethylamino)methyl]-1-(3-methoxyphenyl)cyclohexanol hydrochloride. Inventors: JARVI, Esa, Neile GRAYSON and Robert HALVACHS. PCT: PCT/US1999/011336. IPC: C07B49/00; C07C213/02; C07C213/10; C07C217/74. US 6399829 B1. 4. 6. 2002.
- [6] LEPPERT, Wojciech. Tramadol as an analgesic for mild to moderate cancer pain. *Pharmacological Reports*. 2009, **61**(6), 978-992. ISSN 1734-1140.
- [7] Databáze léků. *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. 2010 [cit. 2016-03-18]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php>
- [8] RABIŠKOVÁ, Miloslava. Perorální matricové tablety s řízeným uvolňováním léčiva. *Remedia* [online]. 2007, **17**(2), 188-192 [cit. 2016-03-20]. Dostupné z: <http://www.remédia.cz/Clanky/Lekove-formy/Peroralni-matricove-tablety-s-rozenym-uvolnovanim-leciva/6-H-hD.magarticle.aspx>. ISSN 2336-3541.
- [9] RABIŠKOVÁ, Miloslava a Vítězslava FRIČOVÁ. Perorální formy s řízeným uvolňováním léčiv. *Praktické lékařství* [online]. 2008, **4**(4), 186-190 [cit. 2016-03-20]. Dostupné z: <http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2008/04/09.pdf>. ISSN 1803-5329.

- [10] RABIŠKOVÁ, Miloslava, Zuzana CHALUPOVÁ, Ruta MASTEIKOVÁ a Adam HÄRING. *Lékové formy a biofarmacie II. Tuhé léky – návody na praktická cvičení*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2005, s. 23-24. ISBN 80-7305-525-2.
- [11] Databáze léků. *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. 2010 [cit. 2016-04-09]. PIL – Příbalová informace přípravku Tralgit SR dostupné z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0042780&tab=texts>.
- [12] *Český lékopis 2009 – Doplněk 2012*. Praha: Grada Publishing, 2012, s. 6962-6968. ISBN 978-80-247-4242-7.
- [13] DVOŘÁKOVÁ, Kateřina, Tereza BAUTZOVÁ a Miloslava RABIŠKOVÁ. Disoluční studie v hodnocení perorálních léků s řízeným uvolňováním léčiva. *Chemické listy*. 2011, **105**(1), 50-54. ISSN 0009-2770.
- [14] RABIŠKOVÁ, Miloslava, Zuzana CHALUPOVÁ, Ruta MASTEIKOVÁ a Adam HÄRING. *Lékové formy a biofarmacie II. Tuhé léky – návody na praktická cvičení*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2005, s. 51-53. ISBN 80-7305-525-2.
- [15] TOCKSTEIN, Antonín. *Základy fyzikální chemie, díl 2*. 3. vyd. Pardubice: Univerzita Pardubice, 1995, s. 101-102. ISBN 80-85113-99-6.
- [16] COSTA, Paulo and José M. SOUSA LOBO. Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2001, **13**(2), 123-133. ISSN 0928-0987.
- [17] Databáze léků. *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. 2010 [cit. 2016-04-10]. SPC – Souhrn údajů o přípravku Tralgit SR dostupný z: <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0042780&tab=texts>.
- [18] PANOCHOVÁ, Daniela. *Kinetika uvolňování tramadol hydrochloridu z pevných lékových forem*. Pardubice, 2013. s. 61-63. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická. Vedoucí práce Ing. Alena Komersová, Ph.D.