

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

Disoluční studie duálních matricových tablet obsahující polyvinylalkohol a
glyceryl dibehenát

Diplomová práce

Autor: Bc. Jakub Gamon

Vedoucí práce: Ing. Alena Komersová Ph.D.

2018

UNIVERSITY OF PARDUBICE

FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

Disolution study of dual matrix tablets containing polyvinyl alcohol and glyceryl
dibehenate

Thesis

Author: Bc. Jakub Gamon

Supervisor: Ing. Alena Komersová Ph.D.

2018

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jakub Gamon**
Osobní číslo: **C16528**
Studijní program: **N1407 Chemie**
Studijní obor: **Technická fyzikální chemie**
Název tématu: **Disoluční studie duálních matricových tablet obsahujících polyvinylalkohol a glyceryl dibehenát**
Zadávající katedra: **Katedra fyzikální chemie**

Zásady pro vypracování:

1. Proveďte stručnou literární rešerši na téma "Duální matricové tablety s prodlouženým uvolňováním léčiva".
2. Připravte duální matricové tablety s glyceryl dibehenátem a polyvinylalkoholem.
3. Proveďte disoluční test připravených matricových tablet. Zaměřte se zejména na vliv obsahu retardujících komponent na rychlost uvolňování léčiva.
4. Na základě získaných experimentálních dat navrhňte vhodné matematické modely pro uvolňování léčiva z duálních matricových tablet. Výsledky tabelárně i graficky zpracujte.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Alena Komersová, Ph.D.

Katedra fyzikální chemie

Datum zadání diplomové práce: **28. února 2018**

Termín odevzdání diplomové práce: **11. května 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Libor Čapek, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2018

Prohlašuji:

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

Byl jsem seznámen 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 4.5.2018

Bc. Jakub Gamon

Poděkování

Na tomto místě bych rád velice poděkoval své vedoucí Ing. Aleně Komersové Ph.D. za poskytnutí cenných rad, odborného vedení a za čas, který mi věnovala v průběhu zpracování diplomové práce. Dále pak svým rodičům a sestře za veškerou podporu, kterou mi během studií poskytli.

Diplomová práce vznikla za podpory projektu Modernizace praktické výuky a zkvalitnění praktických dovedností v technicky zaměřených studijních programech, reg. číslo CZ.02.2.67/0.0/0.0/16_016/0002458 operačního programu Výzkum, vývoj a vzdělávání. Tento projekt je spolufinancován Evropskou unií.



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Anotace

Tato práce je zaměřena na disoluční testování hydrofilních, lipofilních a duálních matricových tablet obsahující glycerol dibehenát, polyvinylalkohol a verapamil hydrochlorid. Teoretická část je věnována obecným informacím o disolučním testování, matricovým tabletám, vybraným matematickým modelům pro vyhodnocování disolučních profilů a vlastnostem jednotlivých složek tablet. Experimentální část je věnována disolučním zkouškám matricových tablet obsahující účinnou látkou verapamil hydrochlorid a následnému vyhodnocení experimentálních dat pomocí vhodných matematických modelů. Byly získány rychlostní konstanty z hydrofilních, lipofilních i duálních matricových tablet a objasněn mechanismus uvolňování na základě nelineární regresní analýzy.

Klíčová slova

Matricové tablety, verapamil hydrochlorid, řízené uvolňování, glyceryl dibehenát, polyvinylalkohol

Annotation

This work is focused on the dissolution testing of hydrophilic, lipophilic and dual matrix tablets containing glycerol dibehenate, polyvinyl alcohol and verapamil hydrochloride. The theoretical part is devoted to general information about dissolution testing, matrix tablets, selected mathematical models for evaluation of dissolution profiles and properties of individual tablet components. The experimental part is devoted to dissolution tests of matrix tablets containing the active agent verapamil hydrochloride and consequential evaluation of experimental data using right mathematical models. The kinetic constants were obtained from hydrophilic, lipophilic and dual matrix tablets and the release mechanism based on nonlinear regression was explained.

Keywords

Matrix tablets, verapamil hydrochloride, controlled release, glyceryl dibehenate, polyvinyl alcohol

Obsah

Úvod.....	18
1. Teoretická část	19
1.1. Matricové tablety	19
1.1.1. Hydrofilní matrice.....	20
1.1.2. Lipofilní matrice	20
1.1.3. Nerozpustné matrice	20
1.1.4. Hydrofilně lipofilní (směsné) matrice.....	21
1.1.5. Řízené uvolňování léčiv.....	21
1.2. Disoluční studie	23
1.2.1. Přístrojové uspořádání disoluční aparatury.....	24
1.3. Matematické vyhodnocení experimentálních dat	28
1.3.1. Kinetický model I. řádu	29
1.3.2. Weibull model.....	30
1.3.3. Higuchi model.....	31
1.3.4. Korsmeyer-Peppas model	31
1.4. Pomocné látky při přípravě tablet.....	32
1.4.1. PROSOLV [®] SMCC90.....	33
1.4.2. Compritol [®] 888 ATO.....	33
1.4.3. Parateck [®] SRP 80	34
1.4.4. Stearát hořečnatý.....	35
1.5. Verapamil hydrochlorid.....	35
1.5.1. Farmakodynamické vlastnosti	35
1.5.2. Farmakokinetické vlastnosti	36
2. Experimentální část.....	37
2.1. Laboratorní vybavení a pomůcky	37
2.2. Použité chemikálie	37
2.3. Složení a příprava tablet	38
2.4. Použité PC programy	39
2.5. Metody	39

2.5.1. Disoluční zkouška léčiva obsahující verapamil hydrochlorid	39
2.5.2. UV-VIS spektrometrie	40
2.5.3. Měření kalibrační závislosti verapamil hydrochloridu pomocí UV-VIS spektrometrie	40
3. Výsledky	41
3.1. Kalibrace roztoků verapamil hydrochloridu v disolučních médiích.....	41
3.1.1. Kalibrace roztoků verapamil hydrochloridu v disolučním médiu o pH=1,2	41
3.1.2. Kalibrace roztoků verapamil hydrochloridu v disolučním médiu o pH=6,8	42
3.2. Disoluční profily s proložením I. řádem a modelem Weibull	42
3.2.1. Formulace F1	42
3.2.2. Formulace F2	44
3.2.3. Formulace F3	45
3.2.4. Formulace F4	47
3.2.5. Formulace F5	48
3.2.6. Formulace F6	49
3.2.7. Formulace F7	50
3.2.8. Formulace F8	51
3.2.9. Formulace F9	52
3.2.10. Formulace F10	53
3.2.11. Formulace F11	54
3.3. Disoluční profily formulací F1-F11 proložené modelem Korsmeyer-Peppas.....	55
3.3.1. Formulace F1	55
3.3.2. Formulace F2	56
3.3.3. Formulace F3	57
3.3.4. Formulace F4	58
3.3.5. Formulace F5	58
3.3.6. Formulace F6	59
3.3.7. Formulace F7	59
3.3.8. Formulace F8	60
3.3.9. Formulace F11	60
3.4. Disoluční profily proložené modelem Higuchi	61

3.4.1. Formulace F1	61
3.4.2. Formulace F4	62
3.4.3. Formulace F5	62
3.4.4. Formulace F6	63
3.5. Regresní analýza disolučních profilů.....	64
4. Diskuze	68
5. Závěr	70
6. Literatura.....	71

Seznam obrázků

Obrázek 1. Schématické znázornění uvolňování léčiva z homogenní (a) a heterogenní matrice (b), převzato z ^[2]	21
Obrázek 2. Pulzní uvolňování in vitro	22
Obrázek 3. Pulzní uvolňování in vivo	23
Obrázek 4. Sotax disoluční aparatura v pádelkovém uspořádání	24
Obrázek 5. Fotografie košíčku používaného pro košíčkovou metodu.....	25
Obrázek 6. Aparatura s pádelkovým míchadlem (převzato z ^[38])	26
Obrázek 7. Schématické zobrazení košíčkového (A) a pádelkového (B) uspořádání aparatury (převzato z ^[20])	27
Obrázek 8. Schéma disolučního přístroje s průtokovou celou. Vlevo otevřený systém, vpravo uzavřený systém (převzato z ^[17]).....	28
Obrázek 9. Prosolv [®] SMC – zobrazení struktury pomocí elektronové mikroskopie, převzato z ^[28]	33
Obrázek 10. Compritol [®] 888 ATO- fotka z elektronového mikroskopu s různou koncentrací dichlormethanu A(1 %), B (2 %), C (4 %) a D (10 %), převzato z ^[32]	34
Obrázek 11. Vzorec stearátu hořečnatého	35
Obrázek 12. Vzorec verapamil hydrochloridu (převzato z ^[16])	35

Seznam grafů

Graf 1. Kalibrace v mediu o pH=1,2 s verapamil hydrochloridem	41
Graf 2. Kalibrace v mediu o pH=6,8 s verapamil hydrochloridem	42
Graf 3. Disoluční profil formulace F1 při pH=1,2.....	43
Graf 4. Disoluční profil formulace F1 při pH=6,8.....	43
Graf 5. Disoluční profil formulace F2 při pH=1,2.....	44
Graf 6. Disoluční profil formulace F2 při pH=6,8.....	44
Graf 7. Srovnání disolučních profilů formulace F2 při pH=1,2 a pH=6,8	45
Graf 8. Disoluční profil formulace F3 při pH=1,2.....	45
Graf 9. Disoluční profil formulace F3 při pH=6,8.....	46
Graf 10. Disoluční profil formulace F4 při pH=1,2.....	47
Graf 11. Disoluční profil formulace F5 při pH=1,2.....	48
Graf 12. Disoluční profil formulace F6 při pH=1,2.....	49
Graf 13. Disoluční profil formulace F7 při pH=1,2.....	50
Graf 14. Disoluční profil formulace F8 při pH=1,2.....	51
Graf 15. Disoluční profil formulace F9 při pH=1,2.....	52
Graf 16. Disoluční profil formulace F10 při pH=1,2.....	53
Graf 17. Disoluční profil formulace F11 při pH=1,2.....	54
Graf 18. Disoluční profil formulace F1 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2.....	55
Graf 19. Disoluční profil formulace F1 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=6,8.....	55
Graf 20. Disoluční profil formulace F2 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2.....	56
Graf 21. Disoluční profil formulace F2 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=6,8.....	56
Graf 22. Disoluční profil formulace F3 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2.....	57
Graf 23. Disoluční profil formulace F3 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=6,8.....	57
Graf 24. Disoluční profil formulace F4 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2.....	58
Graf 25. Disoluční profil formulace F5 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2.....	58

Graf 26. Disoluční profil formulace F6 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2.....	59
Graf 27. Disoluční profil formulace F7 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2.....	59
Graf 28. Disoluční profil formulace F8 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2.....	60
Graf 29. Disoluční profil formulace F11 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2.....	60
Graf 30. Disoluční profil formulace F1 proložený modelem Higuchi při pH=1,2.....	61
Graf 31. Disoluční profil formulace F4 proložený modelem Higuchi při pH=1,2.....	62
Graf 32. Disoluční profil formulace F5 proložený modelem Higuchi při pH=1,2.....	62
Graf 33. Disoluční profil formulace F6 proložený modelem Higuchi při pH=1,2.....	63

Seznam tabulek

Tabulka 1. Tabulka parametru N pro Weibull model	30
Tabulka 2. Interpretace mechanismů uvolňování dle Korsmeyer-Peppas modelu na základě koeficientu n pro cylindrické lékové formy	32
Tabulka 3. Složení formulací tablet v hmotnostních %.....	39
Tabulka 4. Schéma odběru vzorků pro disoluční metodu 36	40
Tabulka 5. Schéma odběru vzorků pro disoluční metodu 37	40
Tabulka 6. Regresní analýza disolučních profilů F1-F11 pro disoluční médium pH=1,2 a pro I. řád.	64
Tabulka 7. Regresní analýza disolučních profilů F1-F3 pro disoluční médium pH=6,8 a pro I. řád.....	64
Tabulka 8. Regresní analýza disolučních profilů formulací F1-F11 pro disoluční médium pH=1,2 pomocí modelu Weibull	65
Tabulka 9. Regresní analýza disolučních profilů formulací F1-F3 pro disoluční médium pH=6,8 pomocí modelu Weibull	65
Tabulka 10. Regresní analýza disolučních profilů F1-F11 pro disoluční médium pH=1,2 pomocí modelu Korsmeyer-Peppas.....	66
Tabulka 11. Regresní analýza disolučních profilů F1-F3 pro disoluční médium pH=6,8 pomocí modelu Korsmeyer-Peppas.....	66
Tabulka 12. Výsledky regresní analýzy s využitím Higuchiho modelu	67

Seznam zkratek

VH – verapamil hydrochlorid

ASS – suma čtverců

R^2 – koeficient determinace

UV-VIS – ultrafialovo-viditelná spektrometrie

k_1 – rychlostní konstanta I. řádu

k_w – konstanta modelu Weibull

k_H – Higuchiho konstanta

Úvod

Tato diplomová práce je zaměřená na řízené uvolňování léčiv, a to konkrétně na matricové tablety s účinnou látkou verapamil hydrochloridem a retardanty glyceryl dibehenátem a polyvinylalkoholem, suchým pojivem silikované mikrokrystalické celulosy a mazadlem stearátem hořečnatým. Cílem práce je připravit celkem 11 formulací, z čehož jsou 3 lipofilní, 3 hydrofilní a 5 hydrofilně lipofilních a porovnat jednotlivé rychlostní konstanty jednotlivých formulací. U vybraných formulací také porovnat vliv pH na rychlost uvolňování účinné látky z tablety.

Připravené formulace byly vyhodnoceny z hlediska mechanismu uvolňování a proloženy příslušnými matematickými modely. Výsledkem práce je pak popis mechanismu uvolňování a získání rychlostních konstant.

1. Teoretická část

1.1. Matricové tablety

V průběhu let se staly způsoby dodávání léčiv velmi důležitou součástí výzkumu v medicíně, přičemž matricové tablety představují nejjednodušší formu léčiv s řízeným uvolňováním. Zájem o matricové tablety je založen především na jejich farmakokinetických a biofarmaceutických výhodách ve vztahu ke konvenčním lékovým formám. Díky tomu se spolu s obalovanými přípravky a peletovou lékovou formou řadí k nejčastěji používaným lékovým formám. Jejich obliba vychází zejména z četných technologických výhod jako je design tablet, jednoduchost potřebného technologického postupu a finanční nenáročnost pomocných látek a farmakoterapeutických výhod jako udržení terapeutické koncentrace léčiva v krevní plazmě po delší časový úsek, zjednodušení dávkování, snížení vedlejších nežádoucích účinků a snížení rizika jednorázového uvolnění léčiva do organismu. ^{[1],[2]}

I když je použití matricových tablet poměrně časté, tak výzkum této lékové formy není zdaleka u konce. Velkou pozornost věnuje výzkum zejména na uplatnění nových pomocných látek, technologických postupů výroby a zajištění stability nových léčivých přípravků. ^[1]

Formulace s modifikovaným uvolňováním proto může zlepšit celkový průběh nemoci a výrazně tak zlepšit stav pacienta. Jestliže není pacient hospitalizován a trvale monitorována hladina léčiva v organismu, tak je díky matricovým tabletám mnohem snazší nastavit efektivní dávku, díky prodlouženému uvolňování. ^{[1],[2],[3]}

Matricové tablety jsou definovány jako orální pevné lékové formy obsahující účinnou látku homogenně dispergovanou v celé hydrofilní nebo hydrofobní matici, která řídí rychlost uvolňování podle druhů a podílů polymerů použitých v přípravcích. Uvolňování léčiva se děje nepřetržitým a řízeným způsobem. Fyzikálně- chemické mechanismy jako je difuze a eroze jsou hlavním způsobem řízeného uvolňování aktivních látek. S ohledem na různé vlastnosti léčiva může být léčivo dispergováno v bobtnavých hydrofilních látkách, nerozpustných, inetrních nebo lipofilních maticích. Tableta je připravena přímým lisováním účinné látky a pomocných látek (excipientů) za vzniku tablety, ve které je homogenně dispergována daná látka v matici, která následně řídí uvolňování. Někdy se používá postup, při kterém je před stlačením materiál matrice granulován. Vzhledem k tomu, že jsou tablety tvořeny maticemi, lze tyto struktury rozdělit do hydrofilních (rozpustných) a hydrofobních (nerozpustných) matic. ^[2]

1.1.1. Hydrofilní matrice

Základem hydrofilní matrice je nějaký hydrofilní polymer, který po kontaktu s vodou nebo hydrofilní kapalinou začne bobtnat a na povrchu vytváří gelovou vrstvu, jenž následně řídí uvolňování léčiva z matrice. Účinná látka se pak z matrice uvolňuje kombinací mechanismů difúze skrze gelovou vrstvu matrice a eroze gelové vrstvy. Tableta vždy funguje jako jeden systém a její vlastnosti závisí na vlastnostech polymerního nosiče a vlastnostech účinné látky v matrici. Tyto vlastnosti mohou být nadále ještě upraveny dalšími aditivami. [3]

Mezi používané hydrofilní polymery přírodního původu patří kyselina alginová, arabská guma a pektiny. Mezi polosyntetické pak řadíme polyvinylalkoholy a karbomery. Mezi nejčastěji používané polymerní nosiče pro hydrofilní matrice však patří především hypromelosa. [3],[4]

Vlastnosti gelové vrstvy matricové tablety ovlivňuje řada faktorů jako typ polymeru, molekulová hmotnost, velikost částic polymeru, viskozita a rychlost hydratace polymeru. [3]

1.1.2. Lipofilní matrice

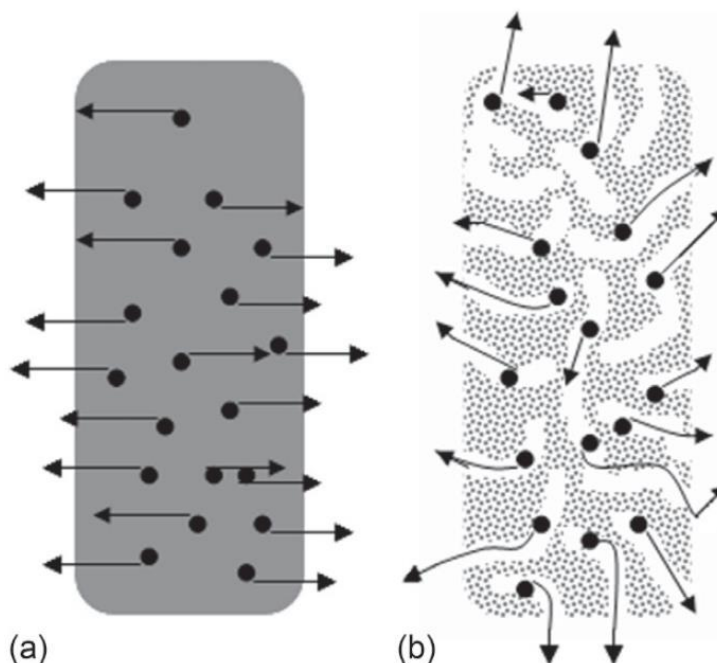
Základními nosnými látkami jsou mastné kyseliny, alkoholy a jejich estery jako sterylalkohol, cetylalkohol, glyceryldibehenát nebo kanaubský vosk. Účinná látka se z lipofilní matrice uvolňuje především erozí tj. postupným zmenšováním tablety na základě rozpustnosti složek matrice ve vodném prostředí. Povrchová eroze lipofilních matric a s tím spojená rychlost uvolňování účinné látky je závislá na vlastnostech a koncentraci nosného lipofilního polymeru a dalších excipientech, jenž mohou mít jak lipofilní tak hydrofilní charakter. Tyto matrice pak nazýváme směsné neboli hydrofilně lipofilní matrice. [5],[6]

1.1.3. Nerozpustné matrice

Polymerní nerozpustné matrice byly poprvé uvedeny kolem roku 1960 a od té doby se dočkaly velkého pokroku ve vývoji a také širokého uplatnění v praxi. Tyto nerozpustné matrice jsou tvořeny účinnou látkou dispergovanou v nerozpustné polymerní matrici tvořené např. polyakryláty, ethylcelulosou, polyvinylchloridy nebo polystyreny. Často jsou v těchto matricích obsaženy i jiné pomocné látky. Nosný polymer tak tvoří pevnou pórovitou strukturu neboli skelet matrice. Během průchodu gastrointestinálním traktem se tvar tablety nemění a léčivá látka se pomalu rozpouští a difunduje skrze póry ven ze skeletu matrice. [5],[6],[7]

Nejdříve se tedy léčivo uvolňuje rychle díky tomu, že je dispergováno i na povrchu tablety, čímž se dosáhne terapeutického rozmezí v plazmě a následně je léčivo uvolňováno mnohem pomaleji v závislosti na tom, jak dobře je schopno difundovat ven z matrice. [5],[6],[7]

Schématické znázornění uvolňování je na obr. 1.



Obrázek 1. Schématické znázornění uvolňování léčiva z homogenní (a) a heterogenní matrice (b), převzato z [2]

1.1.4. Hydrofilně lipofilní (směsné) matrice

Směsné hydrofilně-lipofilní matrice jsou složeny z obou druhů retardantů. U těchto směsných hydrofilně-lipofilních matric již většinou není uvolňování léčiva omezeno na jeden majoritní způsob, ale jedná se o kombinaci difúze s dalším mechanismem. S erozí matrice se zvyšuje složitost modelování, protože difúzi je uvolňování zrychlováno. Nejen erodované fragmenty matrice nesou množství účinné látky, ale významná část léčiva zůstává v pórech matrice. U těchto typů matric jde o konkrétně o kombinaci difúze léčiva a polymerní relaxace nebo difúze a eroze matrice. [9],[10]

Teoretický přístup k řízení uvolňování léku je proto velice obtížný, jelikož se jedná o kombinaci transportů z pórů matrice. Bobtnání matrice usnadňuje uvolňování léku Fickovou difúzí, zatímco eroze má za následek anomální transport. Kinetika těchto dvou mechanismů je složitá a ovlivněna množstvím faktorů jako je povaha a poměr velikosti částic matrice. [9],[10]

1.1.5. Řízené uvolňování léčiv

1.1.5.1. Okamžité uvolňování

Formulace léčiv s okamžitým uvolňováním jako jsou analgetika, antipyretika, koronární vazodilatanty apod. jsou užitečné především v nouzových situacích. [11],[12]

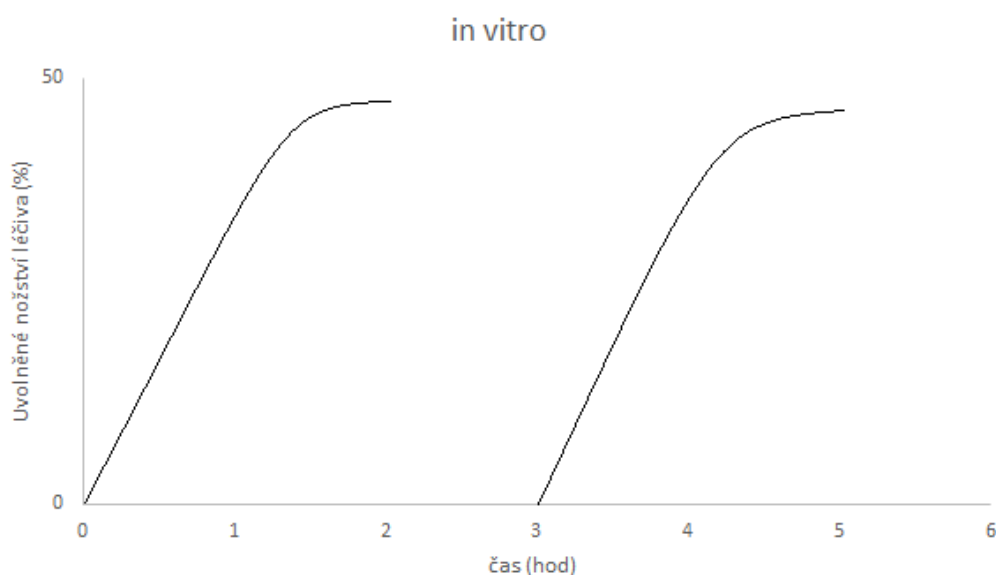
1.1.5.2. Prodloužené uvolňování

Většina přípravků s prodlouženým uvolňováním byla zaměřena na dosažení uvolňování léku dle kinetiky nultého řádu nebo na pH nezávislé uvolňování tak, aby se zajistila konstantní hladina v krvi po dlouhou dobu. Tento typ uvolňování má mnoho výhod, jako je snížení frekvence dávkování, prodloužená účinnost léku a vyloučení toxicity spojené s podáním obyčejně tablety. ^{[11],[13]}

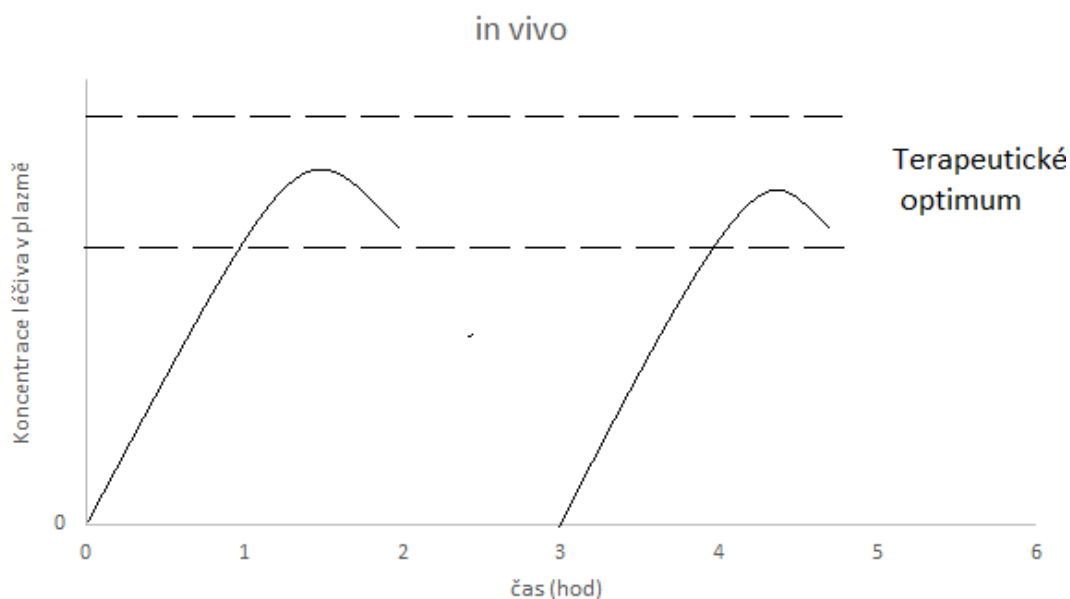
1.1.5.3. Pulzní uvolňování

Pulzní uvolnění léčiva z jednoho léčivého přípravku následované pulzním, přerušovaným účinkem, je vhodné například při potřebě fyziologické opakované denní aplikace léčiva, ku příkladu inzulínu nebo při vývoji tolerance na podanou léčivou látku. ^[3]

Ukázka pulzního uvolňování je na obr. 2. a 3.



Obrázek 2. Pulzní uvolňování in vitro



Obrázek 3. Pulzní uvolňování *in vivo*

1.2. Disoluční studie

Rozpouštěcí neboli disoluční studie patří mezi hlavní charakteristiky lékových forem s řízeným uvolňováním. Disoluční testy umožňují stanovit uvolňování účinné látky z lékové formy v předem předepsaném disolučním médiu a daném čase. Přestože se tyto studie používají zejména k hodnocení kvality léčivých přípravků, tak na základě jejich výsledků lze odhadnout biologickou dostupnost léčivé látky *in vivo* a následnou bioekvivalenci generických léků. Tato data se pak mohou použít pro stanovení podobnosti disolučních profilů. Zkouška rozpouštění se při vývoji nových léčivých přípravků používá k odhadu chování v organismu. Předpověď chování léčiva na základě výsledků *in vivo/in vitro* je však velice obtížná. Zejména z důvodu složitých procesů absorpce, distribuce léčiva a jeho působení v organismu. Přesto nám tyto studie mohou poskytnout cenné informace o biologické dostupnosti léčiva. Z praxe je pak dokázáno, že pokud se našel medicínsky významný rozdíl v biologické dostupnosti léčiv z různých přípravků, byly právě disoluční studie velmi efektivní metodou při jejich odhalení.^[12] Velmi důležitou roli hrají disoluční zkoušky u těch léčiv, u kterých je rychlost rozpouštění limitujícím faktorem pro jejich absorpci v organismu. Proto jsou tyto testy používány jako lékopisná kontrolní metoda a jsou často důležitou a nezbytnou součástí registrační dokumentace léku.^{[14],[15],[16]}

První model pro disoluční zkoušky zavedli již v roce 1897 Noyes a Whitney a následně v roce 1900 publikovali Brunner a Tolczko závislost rozpouštění na rychlosti míchání disolučního média, teplotě, typu disolučního média a uspořádání přístroje. V roce 1970 byla do amerického lékopisu poprvé zavedena metoda rotujícího košíčku a o osm let později zveřejňuje

United States Pharmacopeia podmínky pro provádění disolučních zkoušek pro tablety s řízeným uvolňováním. Následně se zavádí i metoda s míchadlem, která se brzy stává nejpoužívanější metodou nejen pro perorální ale i pro transdermální lékové formy. [17]

V dnešní době se disoluce léčivých přípravků provádí v jednom ze čtyř lékopisných přístrojů uvedených v platném lékopise. Jedná se o přístroje s košíčkem, pádlem, vratným válcem a průtokovou celou. Při stanovení disoluce dané léčivé látky je vždy potřeba uvést specifikaci použitého přístroje, složení disolučního média, teplotu, objem, pH roztoku, rychlost otáčení pádla či košíčku nebo průtok disolučního média, dobu provádění experimentu, množství zkoušeného roztoku pro vzorkování, podmínky průběžného sledování, metodu analýzy vzorků a kritéria přijatelnosti. [14],[15],[16]

1.2.1. Přístrojové uspořádání disoluční aparatury

Všechny části přístroje, jenž přichází do styku s přípravkem nebo disoluční kapalinou, musí být vyrobeny z inertních materiálů, aby neabsorbovaly hodnocené látky, nereagovaly ani neinterferovaly se zkoušeným vzorkem. [14]

Disoluce perorálních léků se stanovuje v jednom ze čtyř možných přístrojových uspořádání, jenž jsou uvedeny v lékopise. Jedná se o přístroj s košíčkem, pádlem neboli míchadlem, vratným válcem a průtokovou celou. [18]



Obrázek 4. Sotax disoluční aparatura v pádelkovém uspořádání

1.2.1.1. Košíčková metoda

Zařízení se skládá z nádoby ze skla nebo z jiného inertního průhledného materiálu, která může být zakryta víkem, ve kterém je motor, hnací hřídele a válcovitý košíček. Nádoba je částečně ponořena ve vyhřívané vodní lázni přiměřené velikosti a objemu. Vyhřívací zařízení umožňuje udržovat konstantní teplotu při disoluci v disoluční nádobě dle předem zvoleného programu a podmínek disoluční zkoušky. Nejčastěji je tato teplota $37\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$. Při průběhu experimentu musí být zajištěno plynulé pohybu média. Pro zajištění plynulého chodu míchací jednotky nesmí žádná z částí zařízení ani prostředí, ve kterém je přístroj umístěn, způsobovat znatelný pohyb, třesení nebo vibrace. Nádoba je válcovitá s pūkulatým dnem o objemu jednoho litru. Hřídel musí být kalibrována přesně na střed nádoby s maximální povolenou odchylkou 2mm v jakémkoli směru od středové osy a její rotace musí být plynulá bez jakéhokoli chvění, které by mohlo měnit rychlost a směr proudu disoluční kapaliny. ^{[18],[19]}

Hřídel i košíček míchací jednotky musí být vyrobeny z inertních materiálů, jako je nerezová ocel. Někdy je možno používat košíček potažený zlatem. Košíček je opatřen horní přírubou, která je na konci hnací hřídele a je opatřena otvorem o průměru 2,0 mm. Tubus košíčku se k přírubě upevňuje přes tři pružná pera nebo jiným vhodným způsobem, a to natolik pevně, aby nedocházelo k žádnému vychýlení košíčku ze středové osy při rotaci. ^{[18],[19]}

Vzhled košíčku je zobrazen na obr 5.

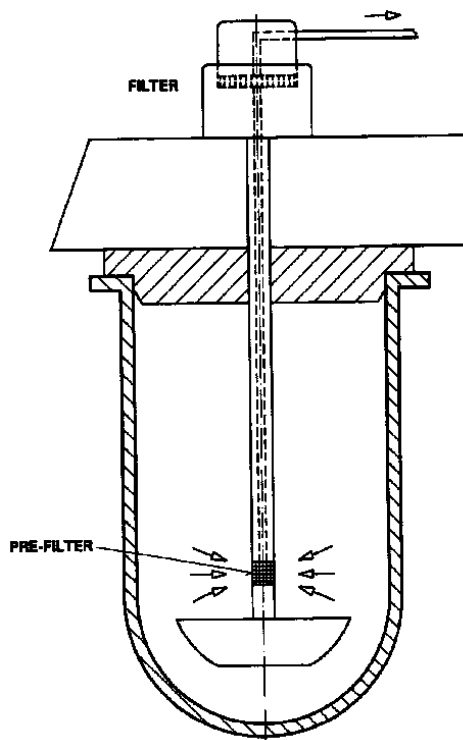


Obrázek 5. Fotografie košíčku používaného pro košíčkovou metodu

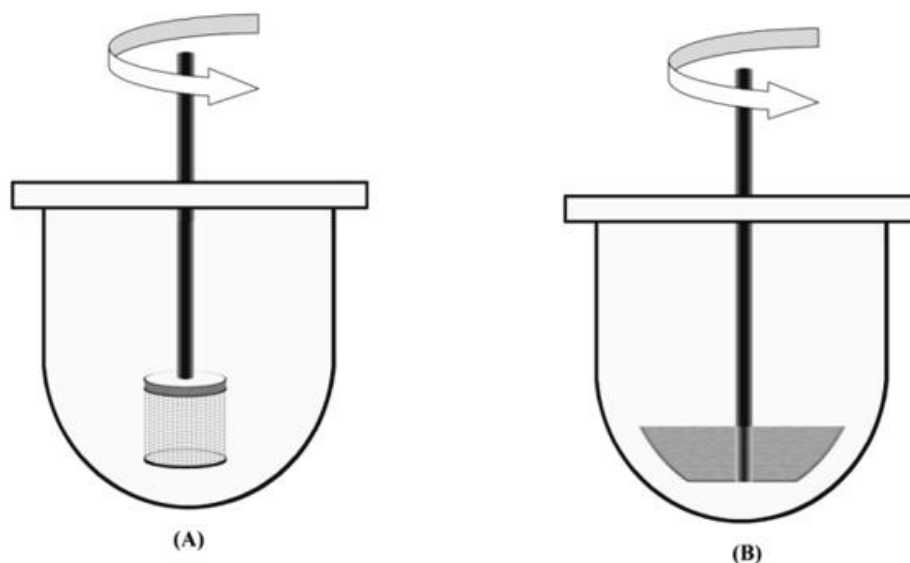
1.2.1.2. Pádelková metoda

Neboli aparatura přístroje s míchadlem. Používá se stejné zařízení jako v případě košíčkové metody, (tj. inertní průhledná nádoba s polokulatým dnem o objemu 1000 ml) jen se jako míchací jednotka nepoužívá košíček ale míchadlo tvořené hřídelí s lopatkovým míchadlem. Nádoba má víko k zamezení odpařování, ve víku je středový otvor pro hnací hřídel, otvor pro teploměr a otvor pro odběr a případné přidávání disoluční kapaliny. Hřídel musí být opět vycentrovaná na střed s tolerancí maximálně 2 mm od svislé osy nádoby tak, aby její rotace byla plynulá a bez znatelného chvění, které by mohlo ovlivňovat finální výsledky experimentu. Lopatky míchadla jsou umístěny na hřídeli takovým způsobem, aby spodní okraj lopatek procházel přesně spodním koncem hřídele. Horní konec hřídele je připojen k motorové jednotce k regulaci otáček. Míchadlo je vyrobeno z vhodného inertního neohybatelného materiálu tvořícího s hřídelí jeden celek. U určitých aparatur je možno používat dvoudílné provedení s výměnným míchadlem, ale spojení musí být pevné, aby nedocházelo k chvění nebo vychýlení míchadla. [18],[19],[20]

Schématické znázornění aparatury s pádelkovým uspořádáním je na obr. 6. a možné dvoudílné uspořádání na obr. 7.



Obrázek 6. Aparatura s pádelkovým míchadlem (převzato z [38])



Obrázek 7. Schématické zobrazení košíčkového (A) a pádelkového (B) uspořádání aparatury (převzato z [20])

1.2.1.3. Metoda s vratným válcem

Zařízení se skládá ze sady válcovitých skleněných nádob s plochým dnem, sady skleněných vratných válců, inertních úchytek z nerezové oceli nebo jiného vhodného materiálu a sítěk z vhodného inertního neabsorbujícího materiálu, které jsou uzpůsobeny k překrytí horních a dolních částí vratných válců, motoru a hnacího zařízení k vratnému pohybu válců svisle uvnitř nádob. Pokud je to požadováno, tak i k pootočení vratných válců vodorovně do další řady nádob. Nádoby jsou částečně ponořené ve vhodné zvolené vodní lázni přiměřené velikosti a objemu tak, aby byla aparatura schopna udržet teplotu na $37 \pm 0,5$ °C. Při zajišťování plynulého pohybu vratného válce vertikálním směrem nesmí žádná část zařízení, ani prostředí, v němž je přístroj umístěn přispívat ke znatelnému pohybu, třesení nebo jakýchkoli vibrací. Používá se nastavení umožňující nastavení vzájemné rychlosti a udržování specifikované míry ponoru v rozmezí ± 5 %. Nádoby jsou také opatřeny odpařovacím víkem, které během zkoušky zůstává na svém místě. [18]

1.2.1.4. Metoda s průtokovou celou

Zařízení pro metodu s průtokovou celou se skládá ze zásobní nádoby na disoluční médium, pumpy, která tlačí disoluční tekutinu nahoru přes průtočnou celou, průtokové cely a vodní lázně. Průtoková cela musí být vyrobena z průhledného inertního materiálu a umístěna vertikálně s filtračním zařízením pro zamezení průtoku

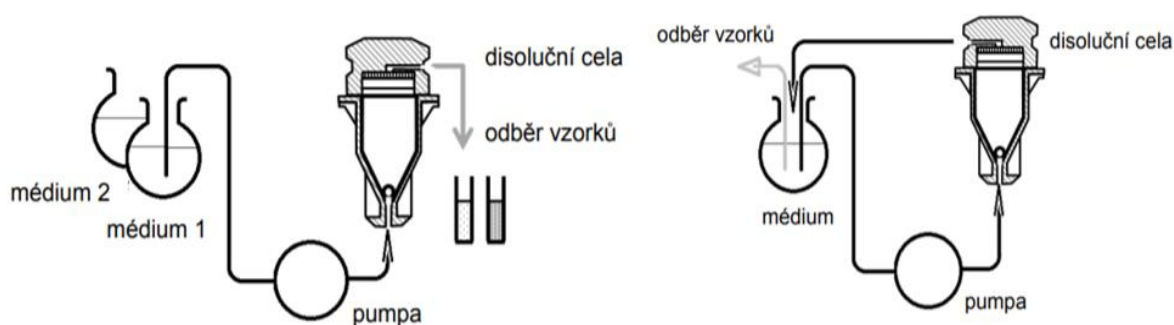
nerozpuštěných částic. Používá se přesně specifikovaná velikost cely dle předpisů. Pumpa vytlačuje disoluční médium nahoru přes průtočnou celu rychlostí až 960 ml/h. Standardně však zhruba 8 ml/h. Je nutné, aby pumpa zajistila konstantní tok kapaliny ($\pm 5\%$). Průtokový profil je sinusoidální s pulzací zhruba 120 ± 10 pulzů/min. Tato metoda je určena především pro lipofilní lékové formy, jako jsou některé čípky a měkké želatinové tobolky. Celá cela se skládá ze tří vzájemně spojitelných částí. ^{[17],[18]}

Dolní část cely obsahuje dvě sousedící komůrky napojené na průtokové zařízení. Disoluční kapalina pak protéká přes první komůrku a přes její okraj následně přetéká do komůrky druhé, kde stéká do otvoru o malé světlosti a odtud se vrací opět k filtračnímu zařízení.

Ve střední části cely je dutina určená k hromadění lipofilních excipientů, které se vznášejí na vlastní disoluční kapalině. Jako hrubý filtr se používá kovová mřížka. ^{[17],[18]}

Horní část cely je složená z filtrační jednotky pro papírové filtry a filtry ze skleněných vláken nebo celulosy. ^{[17],[18]}

Schémata přístroje s průtokovou celou jsou na obr. 8.



Obrázek 8. Schéma disolučního přístroje s průtokovou celou. Vlevo otevřený systém, vpravo uzavřený systém (převzato z ^[17])

1.3. Matematické vyhodnocení experimentálních dat

Během posledních několika desetiletí bylo v oblasti farmaceutické technologie dosaženo významného pokroku v oblasti řízeného uvolňování léčiv pevných lékových forem. Existuje pouze pár kinetických modelů věnujících se řízenému uvolňování orálně podávaných léčiv, ale také různé fyzikální vlastnosti, které ovlivňují dané kinetické modely. Tyto modely mohou být rozděleny dle mnoha aspektů. Disoluční profil lze popsat modelem na základě fyzikálně-chemických vlastností, jako je difúze a eroze, ale nejčastěji se používají modely

kinetické, empirické a semiempirické. Účelem systémů s řízeným uvolňováním je zachovat konstantní koncentraci léčiva v krvi nebo v konkrétních cílových tkáních v terapeutickém rozmezí co možná nejdelší dobu. Z tohoto důvodu systém zpočátku uvolňuje léčivo nejrychleji tak, aby se dosáhlo rozmezí terapeuticky účinné koncentrace. Následně je kinetika uvolnění léčiva formulována tak, aby byla koncentrace léčiva udržena v tomto rozmezí v cílové tkáni nejdelší možnou dobu. [21],[22],[23]

Cílem vývoje formulací s řízeným uvolňováním je, jak již bylo řečeno, snížit četnost dávek léků a tím i spojených vedlejších nežádoucích účinků. V praxi to pak mělo za výsledek úzkou spolupráci mezi inženýry a farmaceuty, aby se co nejlépe pochopily a objasnily systémy řízeného uvolňování léčiv. Z tohoto důvodu se použití matematického modelování ukázalo jako velmi důležité, protože tento přístup umožňuje předpovědět kinetiku uvolňování ještě dříve, než se jednotlivé vyvinuté formulace realizují. Častěji to však umožňuje měření a výběr správného modelu fitování získaných experimentálních dat. Toto matematické modelování, jehož vývoj bezpodmínečně vyžaduje důkladné porozumění všem jevům, jenž se vyskytnou při uvolňování léčiv, je velmi důležitou součástí optimalizace formulací. Matematický model je pak jakousi predikcí chování, což v takovémto případě znamená identifikaci rozhodujících jevů kinetiky uvolňování. [21],[22],[23],[24]

1.3.1. Kinetický model I. řádu

První aplikace modelu prvního řádu na uvolňování léčiv byla popsána v roce 1967 autory Gibaldi a Feldman a později pak i v roce 1969 Wagnerem. Tento model se používá k popisu absorpce nebo eliminace různých léčiv v podmínkách *in vivo*. Uvolňování léčiva může být popsáno diferenciální rovnicí:

$$\frac{dA_t}{dt} = -k_1 \cdot A_t \quad (4)$$

kde A_t je koncentrace léčiva v pevné lékové formě v čase t , k je rychlostní konstanta prvního řádu s rozměrem čas^{-1} a t je čas. [21],[22],[23],[24]

Rovnici (4) lze integrací upravit na tvar:

$$\ln A_t = \ln A_0 - k_1 \cdot t \quad (5)$$

kde A_0 je počáteční koncentrace léčiva v tabletě. Směrnice pak v rovnici (5) udává hodnotu rychlostní konstanty. Po odlogaritmování je pak úsek roven počáteční koncentraci A_0 .

Integrovaný tvar této závislosti lze vyjádřit ve tvaru:

$$A_t = A_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t} \quad (6)$$

Jelikož při disolučních testech jsou získána data závislosti množství uvolněné látky na čase, tak je nutno použít kinetický model 1. řádu ve tvaru:

$$A_{t(l)} = A_0 \cdot (1 - e^{-k_1 \cdot t}) \quad (7)$$

kde $A_{t(l)}$ je množství uvolněného léčiva v čase t . [21],[22],[23],[24]

1.3.2. Weibull model

Obecná empirická rovnice popsána Weibullem v roce 1951 byla přizpůsobena na procesy rozpouštění nebo uvolňování. Tuto rovnici lze úspěšně aplikovat pouze na některé typy křivek, které lze získat při disolučních zkouškách. Při aplikaci na uvolňování léčiv z lékových forem vyjadřuje Weibull model množství kumulovaného léčiva v roztoku v čase: [21],[22],[23]

$$A_t = A_0 \cdot \left[1 - e^{-\frac{(t-T)^N}{a}} \right] \quad (8)$$

kde A_t je celkové uvolněné množství léčiva v čase t , t je čas, T je lag time, a definuje časovou osu procesu a N je parametr charakterizující průběh křivky,

$$A_t = A_0 \cdot (1 - e^{-k \cdot t^N}) \quad (9)$$

kde A_t je celkové uvolněné množství léčiva v čase t , t je čas a N je parametr charakterizující průběh křivky (viz následující tabulka).

Rovnice (9) je upravená verze rovnice (8), kde je lag time roven 0 u nepotahovaných tablet a k je převrácená hodnota a . Takto upravená rovnice byla použita pro vyhodnocování.

Tabulka 1. Tabulka parametru N pro Weibull model

Parametr N	Tvar křivky
$N=1$	Exponenciální
$N>1$	Sigmoidální se zakřivením a inflexním bodem
$N<1$	Parabolický vykazující velký počáteční sklon

Tento model je považován za velice užitečný pro porovnávání různých profilů uvolňování léčiv z matricových systémů. Vzhledem k tomu, že se jedná o empirický model bez kinetického základu, nelze z něj vyvozovat fyzikální závěry. Tento model je statistický. Jelikož neexistuje kinetický základ pro tento model, nelze dělat korelace typu *in vivo/in vitro*. [21],[22],[23]

1.3.3. Higuchi model

Od roku 1961 do roku 1963 se však dosáhlo velkého pokroku ve vývoji matematických modelů k pochopení uvolňování léků. V roce 1961 však navrhl Higuchi pravděpodobně nejznámější a nejčastěji používanou matematickou rovnici popisující rychlost uvolňování léčiva z matricových systémů. Zpočátku byl tento model koncipován pouze pro planární systémy, ale později byl rozšířen i pro použití pro další geometrická uspořádání a porézní systémy. Tento model je založen na několika základních předpokladech ^{[21],[22],[23]}

- a) počáteční koncentrace léčiva v matrici je mnohem vyšší než rozpustnost léčiva
- b) difuze léčiva probíhá pouze v jednom rozměru
- c) částice léčiva jsou mnohem menší než tloušťka filmu
- d) bobtnání a rozpouštění matrice jsou zanedbatelné
- e) difuze léčiva je konstantní

V souladu s těmito předpoklady je modelový výraz dán rovnicí:

$$A_t = Q = A \cdot \sqrt{D \cdot (2 \cdot C - C_s) \cdot C_s \cdot t} \quad (10)$$

kde Q je množství léčiva uvolněné v čase t na jednotku plochy A , C je počáteční koncentrace léčiva, C_s je rozpustnost léčiva v médiu a D je difuzní koeficient v pórech matrice.

Tento model byl nejprve navržen Higuchim k popisu uvolňování léčiv z mastí. S drobnými modifikacemi je tento model úspěšně použitelný i pro jiné typy lékových forem. ^{[21],[22],[23]}

Nejčastěji se však model Higuchi používá ve značně zjednodušeném tvaru:

$$A_t = Q = k_H \sqrt{t} \quad (11)$$

kde k_H je Higuchiho konstanta.

Rovnice (11) je velmi zjednodušený Higuchiho model, který souvisí s koncentrací účinné látky přes druhou odmocninu času, což představuje lineární funkci. V hodnotě Higuchiho konstanty jsou pak zahrnuty výše uvedené veličiny. ^{[21],[22],[23]}

1.3.4. Korsmeyer-Peppas model

Tento model byl vyvinut kolektivem autorů Korsmeyer, Gurny, Doelker Buri a Peppas jako semi-empirický model popisující množství uvolněného léčiva na čase. Model lze vyjádřit ve tvaru:

$$\frac{A_t}{A_\infty} = K \cdot t^n \quad (12)$$

kde $\frac{A_t}{A_\infty}$ je zlomek léčiva, které se uvolní z dané lékové formy za čas t , K je konstanta modelu, a n je exponent uvolnění charakterizující mechanismus (viz tabulka 2.). Peppas v roce 1985 použil hodnotu tohoto koeficientu n , aby charakterizovala mechanismy uvolňování. Pro $n = 0,5$ platí, že mechanismus lze charakterizovat Fickovou difúzí. Pro $n = 0,5 - 1$ už se nejedná o Fickovu difuzi ale o anomální transport. V případě cylindrických tablet platí, že $n = 0,45$ oproti 0,5 u tenkých vrstev a 0,89 oproti 1. K určení exponentu n může být použita pouze část křivky, která znázorňuje uvolnění prvních 60 % léčiva, neboli $\frac{A_t}{A_\infty} < 0,6$. Tento model se používá k identifikaci mechanismu uvolňování léčiva z pevných lékových forem, kde mechanismus uvolňování není úplně přesně znám nebo pokud se může objevit i více možných mechanismů. [21],[22],[23]

Tabulka 2. Interpretace mechanismů uvolňování dle Korsmeyer-Peppas modelu na základě koeficientu n pro cylindrické lékové formy

Exponent uvolňování (n)	Mechanismus transportu léku	Rychlost jako funkce času
0,45	Fickova difúze	$t^{-0,5}$
$0,45 < n < 0,89$	Anomální transport	t^{n-1}
0,89	Case II transport	Kinetika nultého řádu
$0,89 < n$	Super Case II transport	t^{n-1}

Rovnice (11) byla modifikována a přizpůsobena pro dobu zpoždění l , neboli lag time, na začátku uvolňování léčiva z lékové formy. [21],[22],[23]

$$\log\left(\frac{A_{(t-l)}}{A_\infty}\right) = \log a + n \cdot \log(t - l) \quad (13)$$

Pokud se stane, že tableta v průběhu disoluce praskne, je možno použít upravenou rovnici ve tvaru:

$$\frac{A_t}{A_\infty} = a \cdot t^n + b \quad (14)$$

kde b je parametr charakterizující prasknutí tablety. Pokud tableta nepraskne nebo je lag time roven nule, pak ze vztahu (14) používá pouze člen $a \cdot t^n$. [21],[22],[23]

1.4. Pomocné látky při přípravě tablet

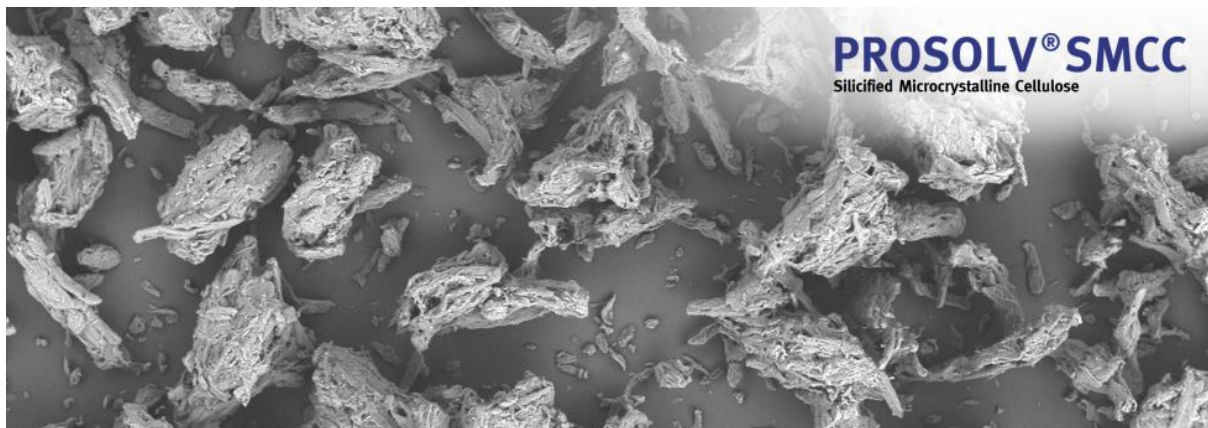
Pomocné látky tvoří spolu s účinnou látkou pevnou lékovou formu (např. tabletu) a významně ovlivňují její výsledné chování a fyzikálně chemické vlastnosti. Tyto látky jsou při výrobě pevných lékových forem velmi důležité, protože fungují jako pojiva a plniva, které formují tvar a objem tablety. Kluzné látky usnadňují výrobu, aby se tabletovina nelepila na

lisovací formu. Filtrovací látky obalující tabletu. Rozvolňovač urychlující rozpad tablety. Antioxidanty stabilizující složení léku. Amfifilní látky s převahou oleofilních skupin fungující jako protimikrobiální složky léků. Barviva, chuťová a čichová korigencia, které upravují vlastnosti vnímané smysly spotřebitele. [26]

1.4.1. PROSOLV[®] SMCC90

Prosolv[®] SMCC90 je silikovaná mikrokrytalická celuloza. Tato látka je kombinací mikrokrytalické celulosy a koloidního oxidu křemičitého, a to konkrétně v poměru 98% mikrokrytalické celulosy a 2% SiO₂. Prosolv[®] SMCC90 se používá především pro výrobu tablet přímým lisováním jako suché pojivo. Jeho použití má nesmírnou výhodu oproti jiným materiálům v tom, že není potřeba složitého a nákladného procesu granulace materiálu. Velikost částic Prosolv[®] SMCC90 je velmi malá (cca 125 μm), takže poskytuje tabletě velmi velký specifický povrch. Zvýšená plocha specifického povrchu pak zajišťuje lepší sypanost materiálu a mnohem vyšší kompaktnost tablety, usnadňuje homogenizaci složení tablety a stabilizuje formulaci. [27], [28]

Struktura mikrokrytalické celulosy v elektronovém mikroskopu je zobrazena na obr. 9..



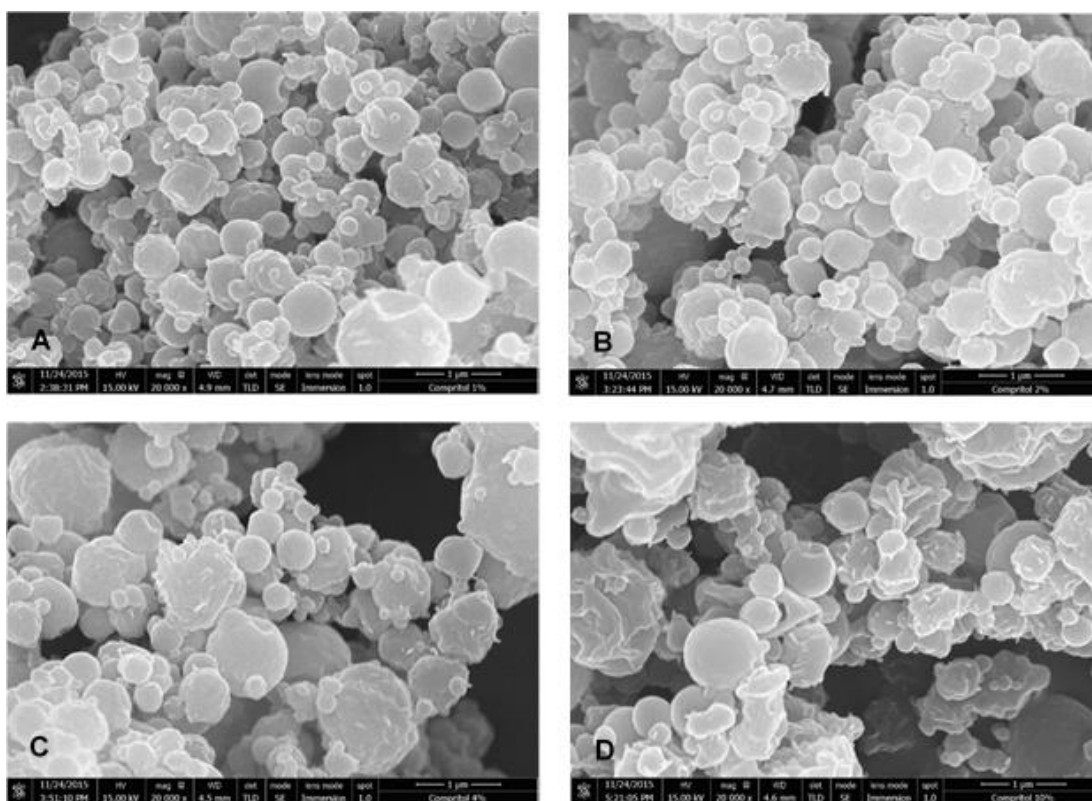
Obrázek 9. Prosolv[®] SMC – zobrazení struktury pomocí elektronové mikroskopie, převzato z [28]

1.4.2. Compritol[®] 888 ATO

Compritol[®] 888 ATO je velmi hojně používaný excipient tablet, který může být používán také jako povlakový materiál. Mimo jiné se tento přípravek používá i v kosmetickém průmyslu jako povrchově aktivní látka, emulgační činidlo a činidlo zvyšující viskozitu v emulzích a krémech. Složením se jedná o glyceryl dibehenát. V poslední době začala tato látka hrát i velmi důležitou roli v různých lékových formách. [29], [30], [31]

Compritol® 888 ATO lze použít jako lubrikant nebo potahový materiál pro orálně podávané lékové formy. Také se v poslední době hojně používá jako součást matric pro tablety s řízeným uvolňováním. V posledních letech roste množství článků, které zdůrazňují jeho použitelnost jako inovačního excipientu ve farmaceutické technologii, kde je velmi hojně používán nejen jako lipofilní retardant pro tablety s řízeným uvolňováním, ale také jako potahový materiál. [29], [30], [31]

Obr. 9. znázorňuje strukturu glyceryl dibehenátu s příměsí dichlormethanu v různých koncentracích.



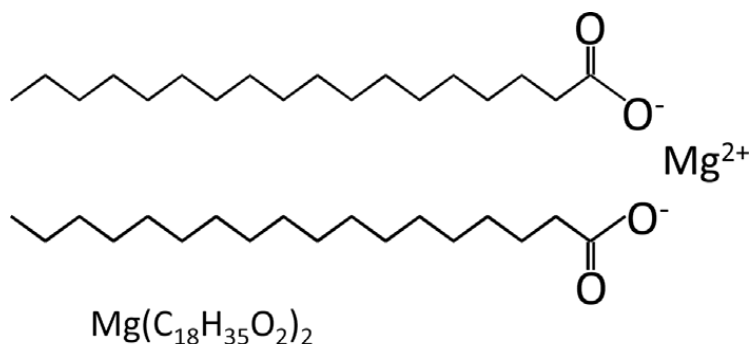
Obrázek 10. Compritol® 888 ATO- fotka z elektronového mikroskopu s různou koncentrací dichlormethanu A(1 %), B (2 %), C (4 %) a D (10 %), převzato z [32]

1.4.3. Parreck® SRP 80

Parreck® SRP 80 je polyvinylalkohol se stechiometrickým vzorcem $(C_2H_4O)_n$. Jeho teplota tání je závislá na stupni polymerace a pohybuje se od 160 do 240 °C. Tato látka je vhodná pro přípravu tablet metodou přímého lisování. Umožňuje rychlý, snadný a efektivní vývoj lékové formy stejně jako výrobního procesu. Parreck® SRP 80 je vhodnou volbou pro výrobu perorálních léků s prodlouženým uvolňováním. [32]

1.4.4. Stearát hořečnatý

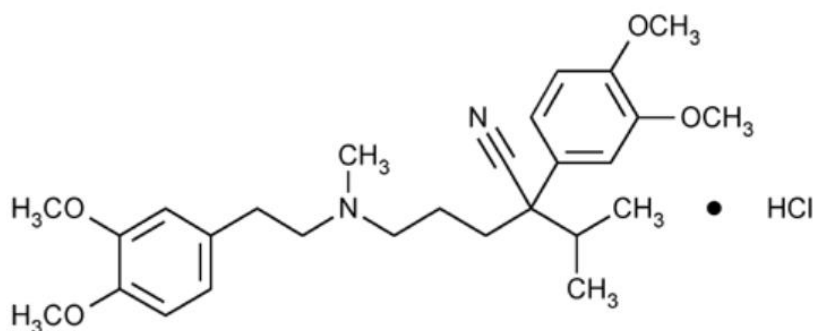
Hořečnatá sůl kyseliny oktadekanové neboli stearát hořečnatý je bílá látka, která je při pokojové teplotě v pevné fázi. Její vzorec je $\text{Mg}(\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O}_2)_2$, struktura stearátu je uvedena na obr. 10. Teplota tání stearátu hořečnatého je přibližně $88\text{ }^\circ\text{C}$, je nerozpustný ve vodě a obecně je považován za bezpečnou látku pro lidský organismus. Vzhledem k jeho zdravotní nezávadnosti je hojně používán při výrobě farmaceutických substancí, a to především tablet jako mazadlo bránící přísadám, aby se při lisování tabletoviny na pevné tablety přilepily na výrobní zařízení. Je nejběžněji používaný lubrikant pro pevné lékové formy. Jeho struktura je zobrazena na obr. 11.^[33]



Obrázek 11. Vzorec stearátu hořečnatého

1.5. Verapamil hydrochlorid

Verapamil hydrochlorid je bílá krystalická látka. Je dobře rozpustný ve vodě a mírně rozpustný v lihu. Jeho teplota tání je asi $144\text{ }^\circ\text{C}$. Molekulová hmotnost je $491,07\text{ g/mol}$. Jeho vzorec je $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{ HCl}$. Jeho struktura je zobrazena na obr 12.^{[34],[35],[36]}



Obrázek 12. Vzorec verapamil hydrochloridu (převzato z^[16])

1.5.1. Farmakodynamické vlastnosti

Verapamil hydrochlorid inhibuje vstup vápníkových iontů do buněk svaloviny myokardu a do buněk hladké svaloviny cévní stěny. Jeho antiarytmický účinek spočívá v jeho

schopnosti otevřít pomalý kanál v buňkách srdečního systému. Elektroaktivita sinoatriálních a atrioventrikulárních uzlů závisí ve značné míře na převodu kalciového vzruchu pomalým kanálem. Tím, že verapamil hydrochlorid inhibuje tento vzruch, zpomaluje též atrioventrikulární převod a prodlužuje refrakterní periodu v atrioventrikulárním uzlu. [33],[34],[35]

Verapamil hydrochlorid nemění normální akční potenciál síní nebo vedení vzruchu srdeční komorou, ale snižuje amplitudu, rychlost depolarizace a přenos vzruchu ve stlačených síňových tkáních. [34],[35],[36]

1.5.2. Farmakokinetické vlastnosti

Verapamil hydrochlorid je racemická směs obsahující stejný díl R-enantiomeru a S-enantiomeru. Verapamil hydrochlorid je rozsáhle metabolizován. Jeden z metabolitů je například norverapamil hydrochlorid, který je identifikovatelný v moči. Plazmatická koncentrace norverapamilu a verapamilu se dostává na ustálený stav po opakovaném jednodenním podávání za tři až čtyři dny. [34],[35],[36]

1.5.2.1. Absorpce

Více než 90% verapamil hydrochloridu se po perorálním podání vstřebává z tenkého střeva. Biologická dostupnost verapamilu po prvním podání je v důsledku first-pass efektu zhruba poloviční, než je dostupnost léčiva při opakovaném podání. [36]

1.5.2.2. Distribuce

Vazba verapamil hydrochloridu na plazmatické bílkoviny je zhruba 90%. Verapamil hydrochlorid je velmi široce distribuován tkáněmi, distribuční objem se u zdravých jedinců pohybuje od 1,8-6,8 l/kg. [36]

1.5.2.3. Eliminace

Po intravenózní infuzi je verapamil hydrochlorid eliminován exponenciálně s rychlým nástupem rané distribuční fáze a pomalejší konečnou fází eliminace. Po perorálním podání je eliminační poločas tři až sedm hodin. Přibližně 50 % podané dávky se vyloučí během 24 hodin ledvinami, 70 % zhruba za pět dní. Maximálně 16 % dávky je vyloučeno stolicí. [36]

2. Experimentální část

2.1. Laboratorní vybavení a pomůcky

- Analytické váhy - Kern ALT 310-4AM (Kern&Sohn, Balingen, Německo)
- Homogenizátor – Retsch MM200 (Retsch, Haan, Německo)
- Lis – Trystorm H-62 zbytek nevím
- Sušárna – Memmert Model 600 (Memmert, Schwabach, Německo)
- Disoluční aparatura - SOTAX AT 7 Smart (SOTAX Pharmaceutical Testing s.r.o., Praha, Česká republika)
- UV-VIS spektrometr – Agilent 8453 (Agilent Technologies Detschland, Waldbronn, Německo)
- Ultrazvuková lázeň – K12 (KRAINTEK s.r.o., Podhájska, Slovensko)
- Lékovky
- Filtrační papír
- Váženky
- Homogenizační patrona
- Lžičky
- Kyvety d=5 mm (Angilent Technologies Detschland, Waldbronn, Německo)
- Laboratorní sklo
- Kopist
- Poloautomatické pipety (Eppendorf, Německo)
- Lisovací forma (PIKE technologies, Madison, USA)

2.2. Použité chemikálie

- KH_2PO_4 (Lach-Ner s.r.o., Neratovice, Česká republika, p.a. čistota)
- Na_2HPO_4 (Lach-Ner s.r.o., Neratovice, Česká republika, p.a. čistota)
- NaCl (Lach-Ner s.r.o., Neratovice, Česká republika, p.a. čistota)
- HCl (Penta, Praha, Česká republika, p.a. čistota)
- Destilovaná a redestilovaná voda
- Verapamil hydrochlorid (Dr. Kulich Pharma s.r.o., Hradec Králové, Česká republika)
- Compritol[®] 888 ATO (Gattefossé sas, Saint-Priest, Francie)
- Prosolv[®] SMCC90 (JRS Pharma, Rosenberg, Německo)
- Parteck[®] SRP 80 (Merck KGaA, Darmstadt, Německo)

- Stearát hořečnatý (Acros Organics, USA)
- Zásobní roztok zředěné HCl
příprava: 36 ml 36% HCl bylo převedeno do 100 ml odměrné baňky a doplněno po rysku destilovanou vodou.
- 0,5M Na₂HPO₄
příprava: 179,07 g Na₂HPO₄ bylo převedeno do odměrné nádoby o objemu 1000ml a doplněno destilovanou vodou po rysku. Pro úplné rozpuštění bylo použito ultrazvukové lázně a pH bylo ověřeno na pH metru.
- 1M KH₂PO₄
příprava: 68,05g KH₂PO₄ bylo převedeno do odměrné nádoby o objemu 500ml a doplněno po rysku destilovanou vodou. Pro úplné rozpuštění bylo použito ultrazvukové lázně a pH bylo ověřeno na pH metru.
- Kyselé disoluční médium pH=1,2
příprava: na váženku byly naváženy 2 g NaCl a převedeny do odměrné baňky o objemu 1000 ml, k tomu bylo přidáno 7 ml zásobního roztoku HCl a doplněno destilovanou vodou po rysku a pH bylo ověřeno na pH metru.
- Médium pH=6,8
příprava: do 1000ml odměrné nádoby bylo převedeno 29 ml 1M KH₂PO₄ a 50 ml 0,5M Na₂HPO₄ a doplněno destilovanou vodou po rysku a pH bylo ověřeno na pH metru.

2.3. Složení a příprava tablet

Hydrofilní, lipofilní i duální matricové tablety s účinnou látkou verapamil hydrochloridem byly připraveny metodou přímého lisování. Složení daných formulací je uvedeno v tabulce 3. Hydrofilní tablety byly připraveny ve složení Parateck[®] SRP80 (hydrofilní retardující složka), verapamil hydrochlorid (účinná látka), stearát hořečnatý (mazadlo) a Prosolv[®] SMCC 90 (suché pojivo). Lipofilní tablety pak byly připraveny ve složení Compritol[®] 888ATO (lipofilní retardující složka), verapamil hydrochlorid, stearát hořečnatý a Prosolv[®] SMCC 90 a duální matricové tablety byly připraveny kombinací hydrofilní i lipofilní retardující složky a dalších excipientů dle tabulky složení (tabulka 3.). Pro tyto duální matrice byl použit Compritol[®] 888ATO a Parateck[®] SRP80 dle složení uvedeného v tabulce 3. Stearát hořečnatý byl použit jako mazadlo. Prosolv[®] SMCC90 byl použit jako suché pojivo a verapamil hydrochlorid jako účinná látka.

Na analytických vahách byly naváženy všechny potřebné složky pro každou formulaci a převedeny do mísící patry. Složky byly navažovány vždy v pořadí: Parateck[®] SRP80,

Compritol® 888ATO, verapamil hydrochlorid, stearát hořečnatý a Prosolv® SMCC90. V případě slepých vzorků (blank tablety) bylo množství verapamilu nahrazeno suchým pojivem Prosolv® SMCC90. Následně byla patrona vložena a upevněna do homogenizátoru Retsch MM200 a byla míchána 1 minutu na 10 kmitů/s, 1 minutu na 13 kmitů/s a 1 minutu na 15 kmitů/s. Poté byla tabletovina kvantitativně převedena do lisovací formy PIKE a metodou přímého lisování byla tableta lisována po dobu 5 minut silou 8 kN. Takto byly připraveny tablety válcovitého tvaru o hmotnosti 500 ± 1 mg a průměru 13,03 mm.

Tabulka 3. Složení formulací tablet v hmotnostních %

Formulace	Prosolv SMCC 90	Compritol 888ATO	Parateck SRP80	Verapamil hydrochlorid	Stearát horečnatý
F1	49	30		20	1
F2	49		30	20	1
F3	49	10	20	20	1
F4	49	20	10	20	1
F5	39	20	20	20	1
F6	39	30	10	20	1
F7	39	10	30	20	1
F8	59	20		20	1
F9	69	10		20	1
F10	69		10	20	1
F11	59		20	20	1

2.4. Použité PC programy

- Microsoft Excel 2003
- GraphPadPrism
- OriginPro

2.5. Metody

2.5.1. Disoluční zkouška léčiva obsahující verapamil hydrochlorid

Disoluční test byl prováděn dle lékopisu v pádelkovém uspořádání (kapitola 2.2). V disoluční aparatuře SOTAX AT 7 Smart v pádelkovém uspořádání byly naplněny skleněné disoluční nádoby disolučním médiem na objem 900 ml a v lázni vytemperovány na teplotu $37 \pm 0,5$ °C. [18] Rychlost míchání byla nastavená na 100 otáček/min (100 rpm). Po vytemperování lázně a disolučních médií byly následně do jednotlivých nádob s disolučním médiem vhozeny tablety. Na ovládacím panelu byla přednastavená metoda s předem určenou dobou experimentu a frekvencí odběru vzorků (viz tabulka 4. a 5.).

Tabulka 4. Schéma odběru vzorků pro disoluční metodu 36

Počet odběrů	interval mezi odběry
24	15
4	60
1	840

Tabulka 5. Schéma odběru vzorků pro disoluční metodu 37

počet odběrů	interval mezi odběry
8	15
4	30
8	60
4	120

Celková doba disoluce byla 24 hodin. Uvolněné množství verapamil hydrochloridu bylo následně stanoveno pomocí UV-VIS spektrometru při vlnové délce 278 nm.

V disolučním médiu o pH = 1,2 byly proměřeny všechny formulace. Pro měření v disolučním médiu o pH = 6,8 byly vybrány formulace F1, F2 a F3, aby bylo získáno srovnání pro lipofilní, hydrofilní i duální matricové tablety při různých pH.

2.5.2. UV-VIS spektrometrie

UV-VIS spektrometrie je analytická metoda pro měření vzorků (např. koncentrace látky v roztoku) založená na interakci vzorku s UV-VIS zářením. Při měření jsou získána absorpční spektra, která jsou při grafickém vyjádření uvedena jako závislost absorbance na vlnové délce. Absorbance je funkcí míry pohlceného záření. Využívá se měření absorbance, což je matematicky popsáno Lambert-Beerovým zákonem (rovnice (15)),

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (15)$$

kde A je absorbance, d je tloušťka absorpční vrstvy (cm), ε je molární absorpční koeficient (l/cm·mol) a c je látková koncentrace (mol/l).

2.5.3. Měření kalibrační závislosti verapamil hydrochloridu pomocí UV-VIS spektrometrie

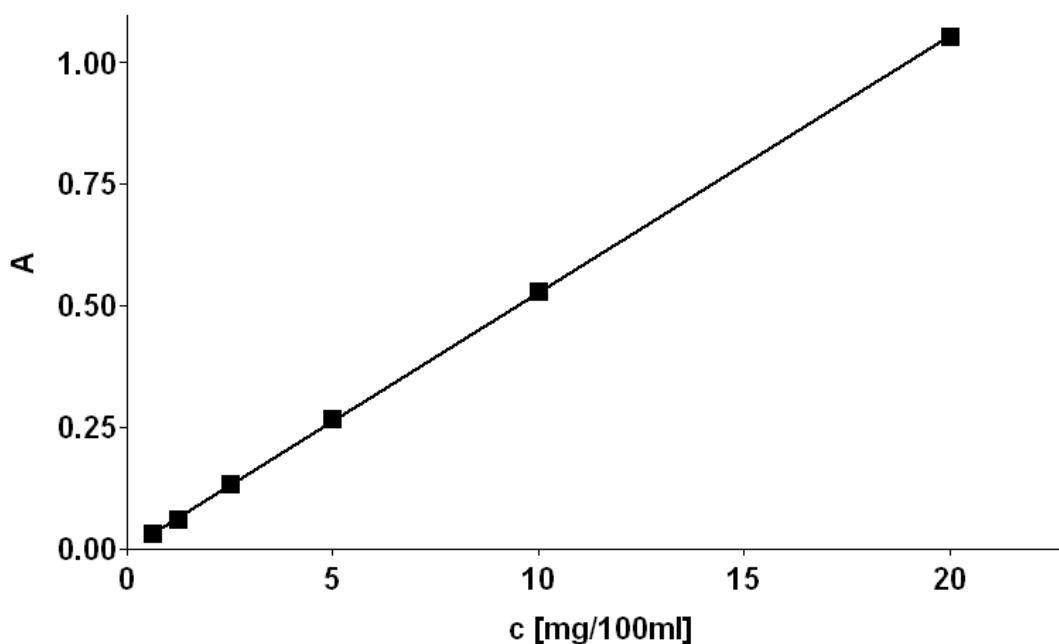
Do 100 ml odměrné baňky bylo naváženo 20 mg verapamil hydrochloridu a doplněno příslušným médiem po rysku. Z tohoto roztoku byla následně připravena kalibrační řada roztoků metodou dvojkového ředění až na koncentraci 1,25 mg/5 ml (tj. 20 mg/5 ml, 10 mg/5 ml, 5 mg/5 ml, 2,5 mg/5 ml a 1,25 mg/5 ml). Měření probíhalo při konstantní vlnové délce 278 nm s tříbodovou korekcí pozadí a platnost Lambert-Beerova zákona byla ověřena v očekávaném rozmezí.

3. Výsledky

3.1. Kalibrace roztoků verapamil hydrochloridu v disolučních médiích

Ze změřených spekter verapamil hydrochloridu rozpuštěném v příslušném médiu (pH=1,2 a pH=6,8), byly odečteny absorbance v maximu píku (278 nm) a následně vytvořeny kalibrační závislosti absorbance na koncentraci účinné látky. Získané kalibrační přímky jsou uvedeny v grafech 1. a 2..

3.1.1. Kalibrace roztoků verapamil hydrochloridu v disolučním médiu o pH=1,2



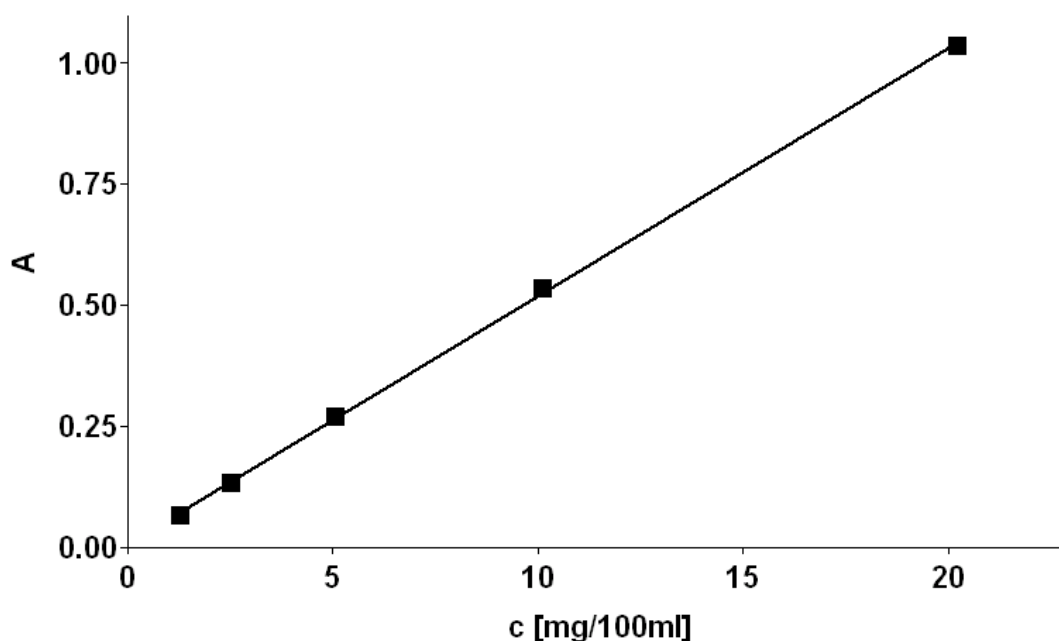
Graf 1. Kalibrace v médiu o pH=1,2 s verapamil hydrochloridem

Vyhodnocením pomocí lineární regrese byla získána rovnice:

$$y = 0,05279 \cdot x + 0,000097$$

$$R^2 = 1$$

3.1.2. Kalibrace roztoků verapamil hydrochloridu v disolučním médiu o pH=6,8



Graf 2. Kalibrace v médiu o pH=6,8 s verapamil hydrochloridem

Rovnice regrese pro tuto kalibraci byla získána ve tvaru:

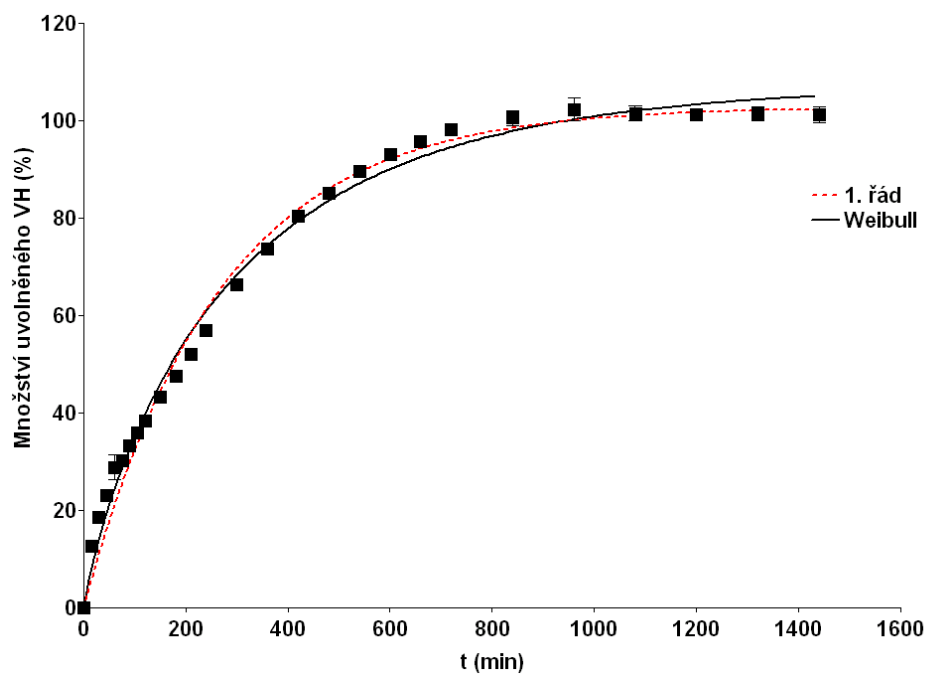
$$y = 0,0513 \cdot x + 0,0074$$

$$R^2 = 0,9996$$

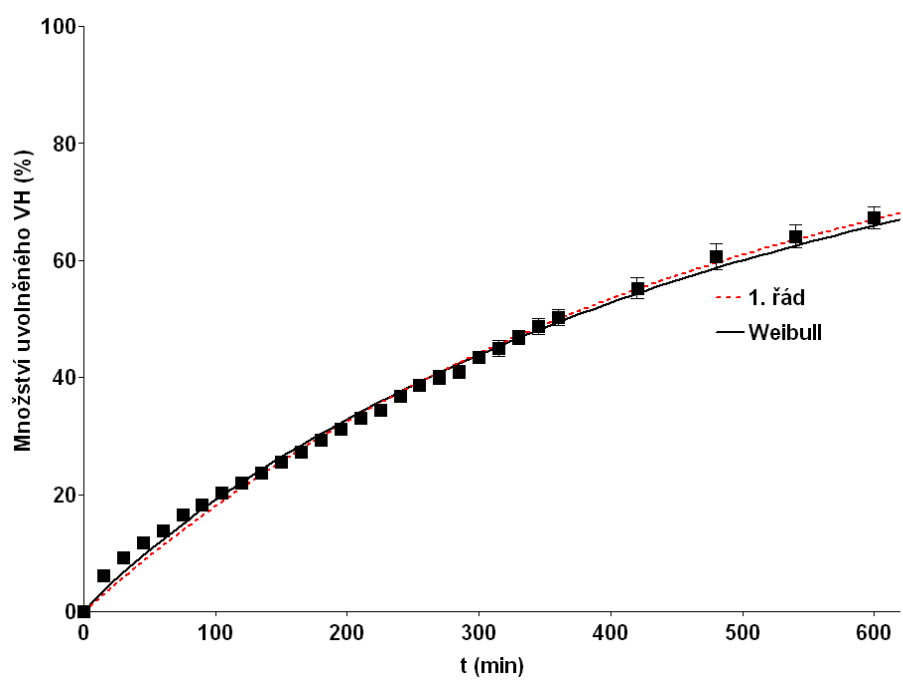
3.2. Disoluční profily s proložením I. řádem a modelem Weibull

3.2.1. Formulace F1

Tablety formulace F1 jsou složeny z lipofilního excipientu Compritol® 888ATO (30%), mazadla stearátu hořečnatého (1%), účinné látky verapamil hydrochloridu (20%) a suchého pojiva Prosolv® SMCC90 (49%). Disoluční profily této formulace při pH = 1,2 a pH = 6,8 jsou zobrazeny v grafech 3. a 4..



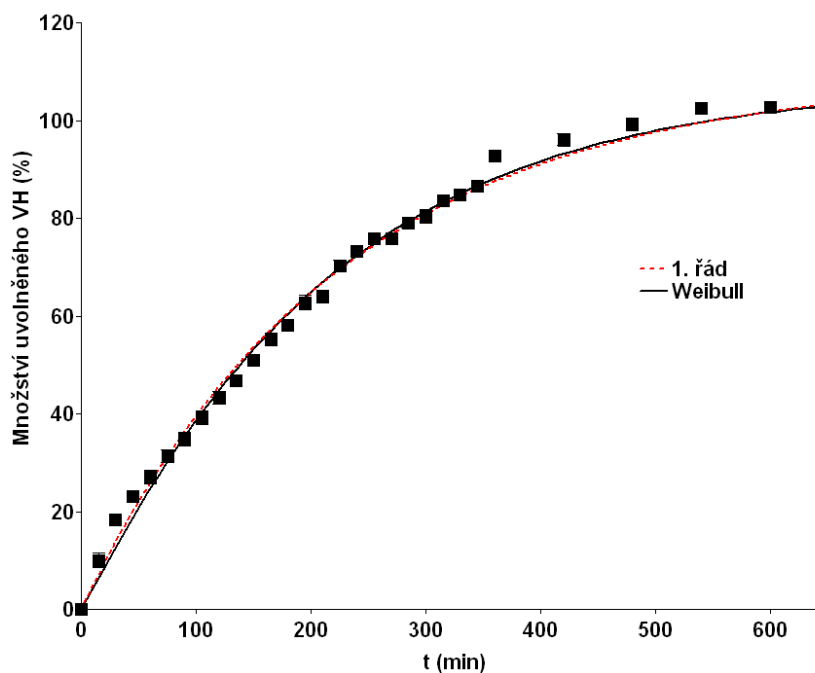
Graf 3. Disoluční profil formulace F1 při pH=1,2



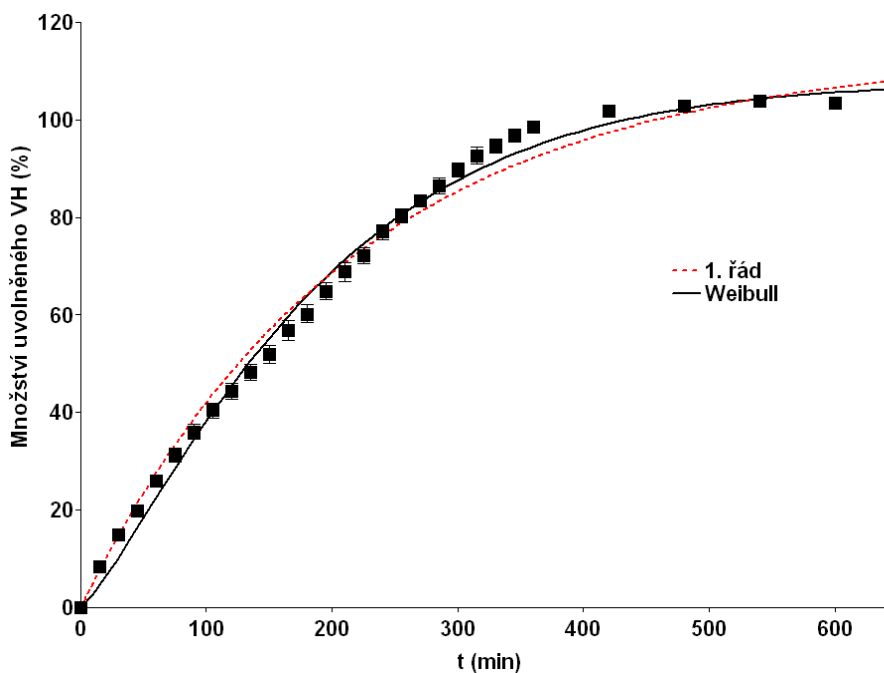
Graf 4. Disoluční profil formulace F1 při pH=6,8

3.2.2. Formulace F2

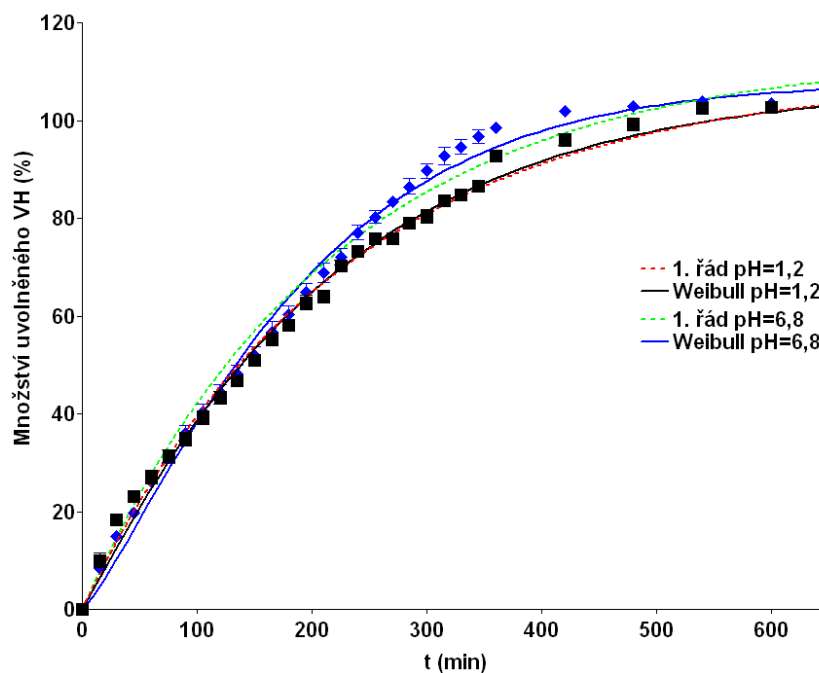
Tablety formulace F2 jsou složeny z hydrofilního excipientu Parateck® SRP80 (30%), mazadla stearátu hořečnatého (1%), účinné látky verapamil hydrochloridu (20%) a suchého pojiva Prosolv® SMCC90 (49%). Disoluční profily této formulace při pH = 1,2 a pH = 6,8 jsou zobrazeny v grafech 5. a 6..



Graf 5. Disoluční profil formulace F2 při pH=1,2



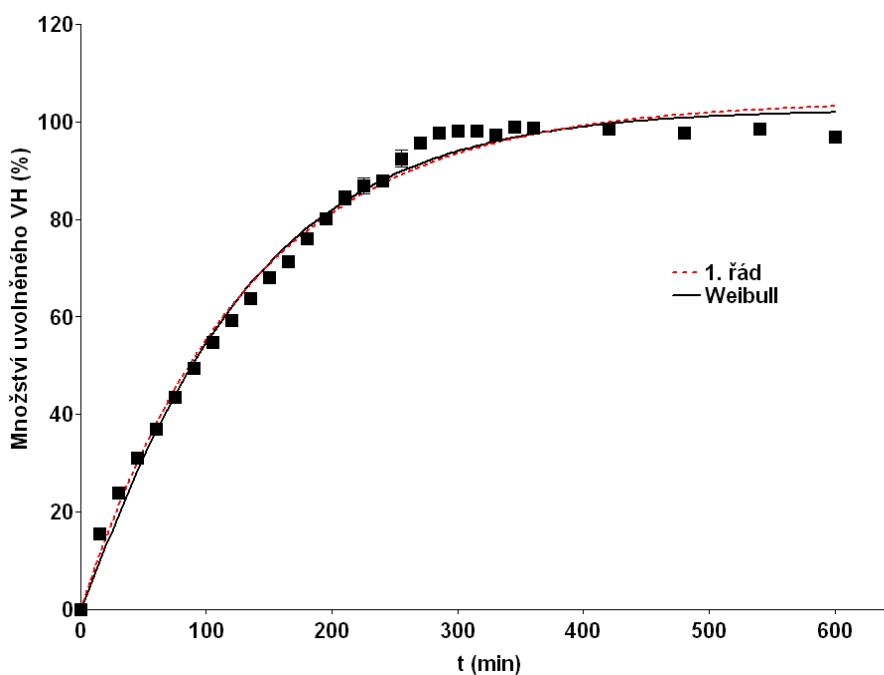
Graf 6. Disoluční profil formulace F2 při pH=6,8



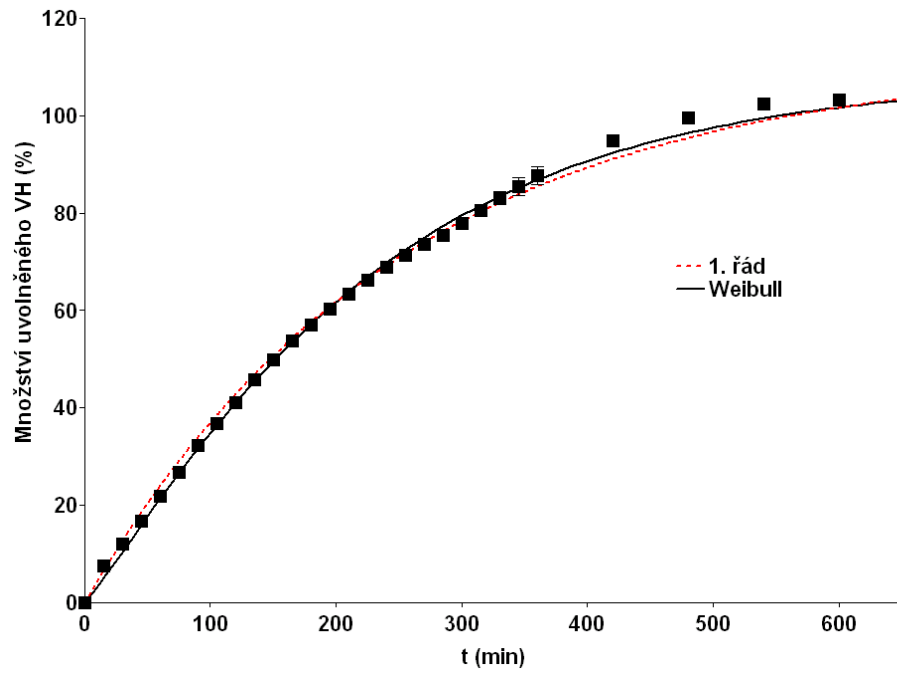
Graf 7. Srovnání disolučních profilů formulace F2 při pH=1,2 a pH=6,8

3.2.3. Formulace F3

Tablety formulace F3 jsou složeny z hydrofilní retardující složky Pardeck® SRP80 (20%), lipofilní retardující složky Compritol® 888ATO (10%), mazadla stearátu hořečnatého (1%), účinné látky verapamil hydrochloridu (20%) a suchého pojiva Prosolv® SMCC90 (49%). Disoluční profily této formulace při pH = 1,2 a pH = 6,8 jsou zobrazeny v grafech 8. a 9..



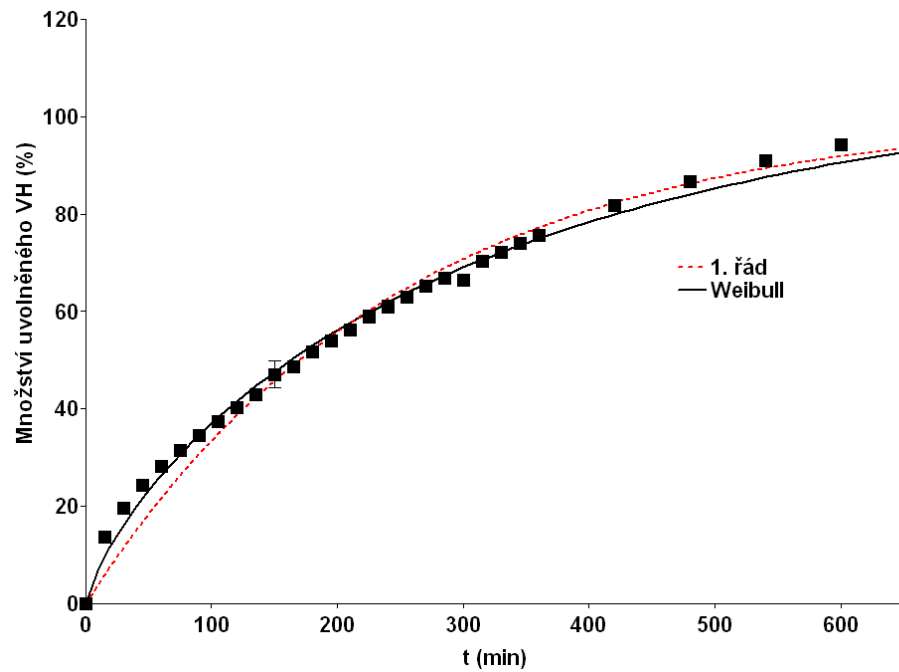
Graf 8. Disoluční profil formulace F3 při pH=1,2



Graf 9. Disoluční profil formulace F3 při pH=6,8

3.2.4. Formulace F4

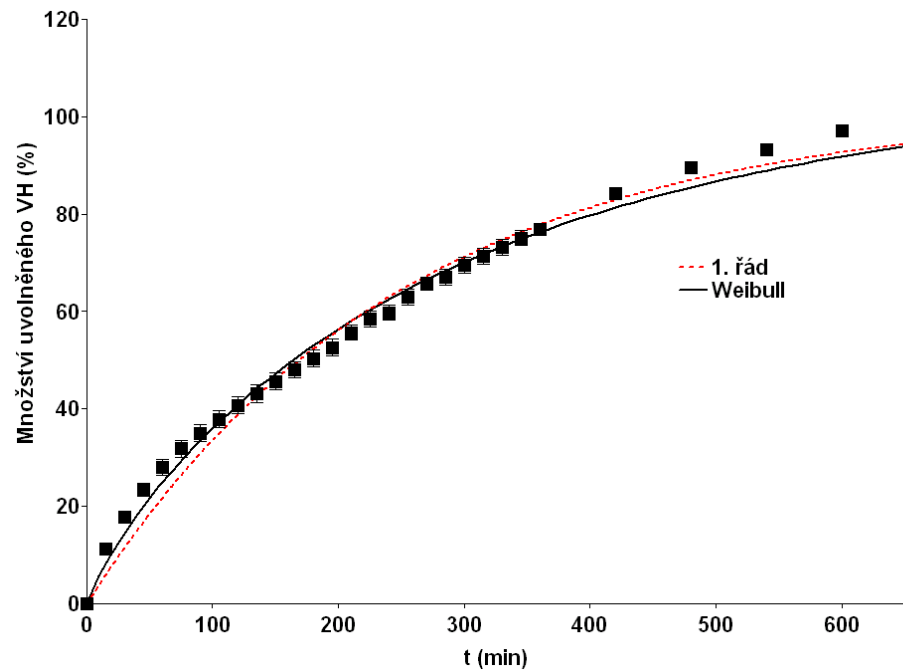
Tablety formulace F4 jsou složeny z hydrofilní retardující složky Pardeck® SRP80 (10%), lipofilní retardující složky Compritol® 888ATO (20%), mazadla stearátu hořečnatého (1%), účinné látky verapamil hydrochloridu (20%) a suchého pojiva Prosolv® SMCC90 (49%). Disoluční profil této formulace při pH = 1,2 je zobrazen v grafu 10..



Graf 10. Disoluční profil formulace F4 při pH=1,2

3.2.5. Formulace F5

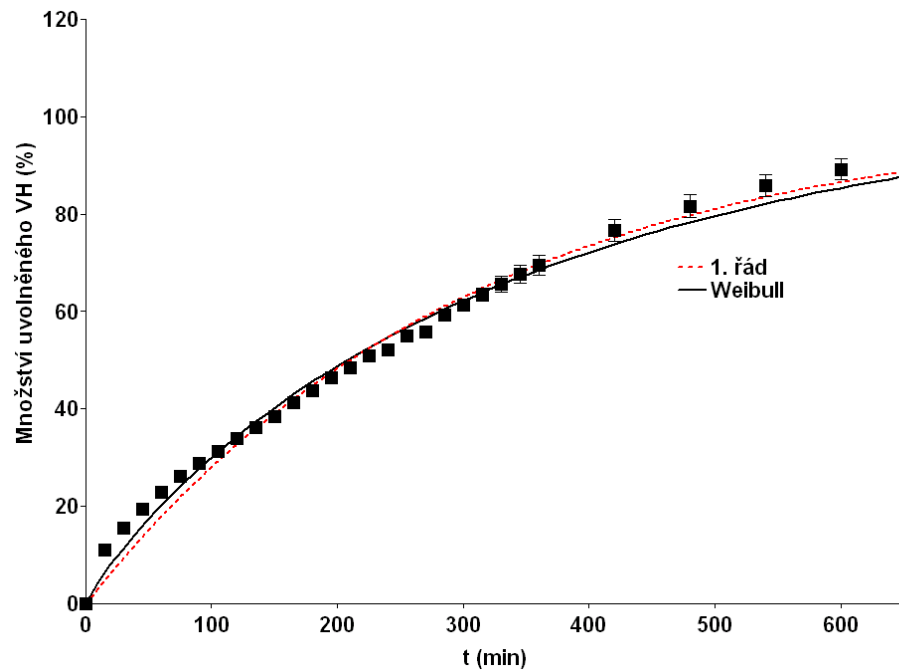
Tablety formulace F5 jsou složeny z hydrofilní retardující složky Pardeck® SRP80 (20%), lipofilní retardující složky Compritol® 888ATO (20%), mazadla stearátu hořečnatého (1%), účinné látky verapamil hydrochloridu (20%) a suchého pojiva Prosolv® SMCC90 (39%). Disoluční profil této formulace při pH = 1,2 je zobrazen v grafu 11..



Graf 11. Disoluční profil formulace F5 při pH=1,2

3.2.6. Formulace F6

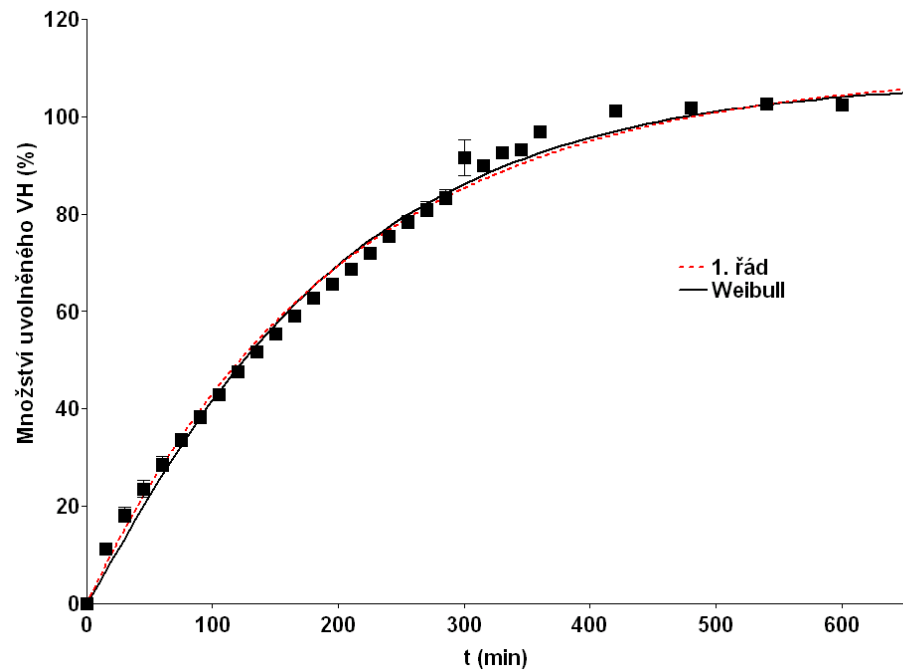
Tablety formulace F6 jsou složeny z hydrofilní retardující složky Pardeck® SRP80 (10%), lipofilní retardující složky Compritol® 888ATO (30%), mazadla stearátu hořečnatého (1%), účinné látky verapamil hydrochloridu (20%) a suchého pojiva Prosolv® SMCC90 (39%). Disoluční profil této formulace při pH = 1,2 je zobrazen v grafu 12..



Graf 12. Disoluční profil formulace F6 při pH=1,2

3.2.7. Formulace F7

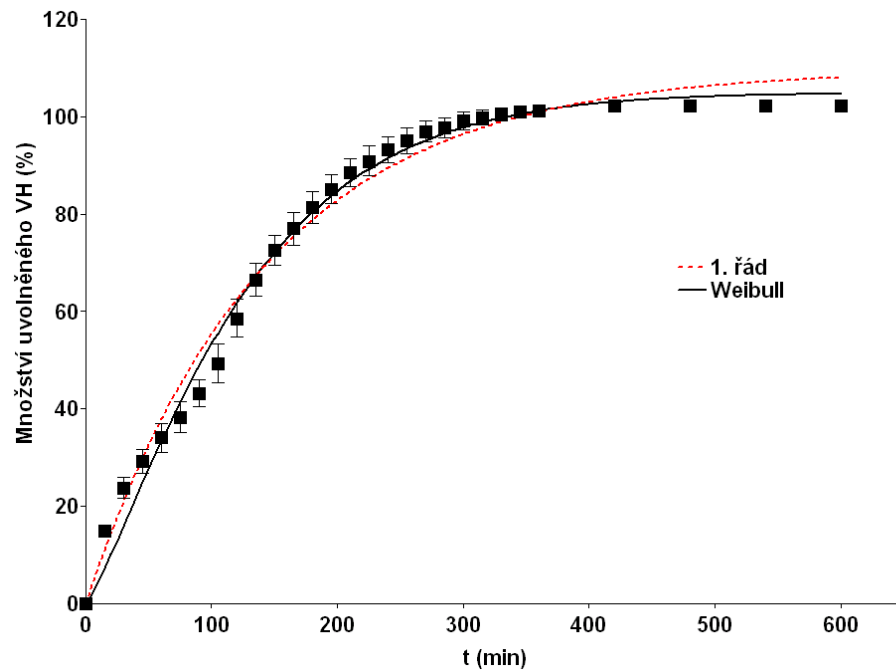
Tablety formulace F7 jsou složeny z hydrofilní retardující složky Pardeck® SRP80 (30%), lipofilní retardující složky Compritol® 888ATO (10%), mazadla stearátu hořečnatého (1%), účinné látky verapamil hydrochloridu (20%) a suchého pojiva Prosolv® SMCC90 (39%). Disoluční profil této formulace při pH = 1,2 je zobrazen v grafu 13..



Graf 13. Disoluční profil formulace F7 při pH=1,2

3.2.8. Formulace F8

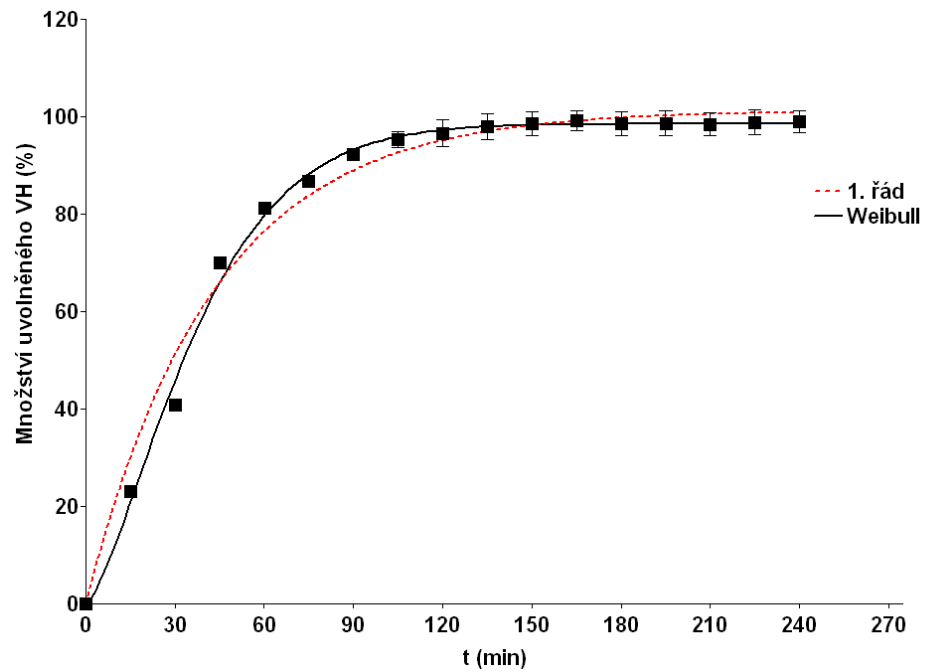
Tablety formulace F8 jsou složeny z lipofilní retardující složky Compritol® 888ATO (20%), mazadla stearátu hořečnatého (1%), účinné látky verapamil hydrochloridu (20%) a suchého pojiva Prosolv® SMCC90 (59%). Disoluční profil této formulace při pH = 1,2 je zobrazen v grafu 14..



Graf 14. Disoluční profil formulace F8 při pH=1,2

3.2.9. Formulace F9

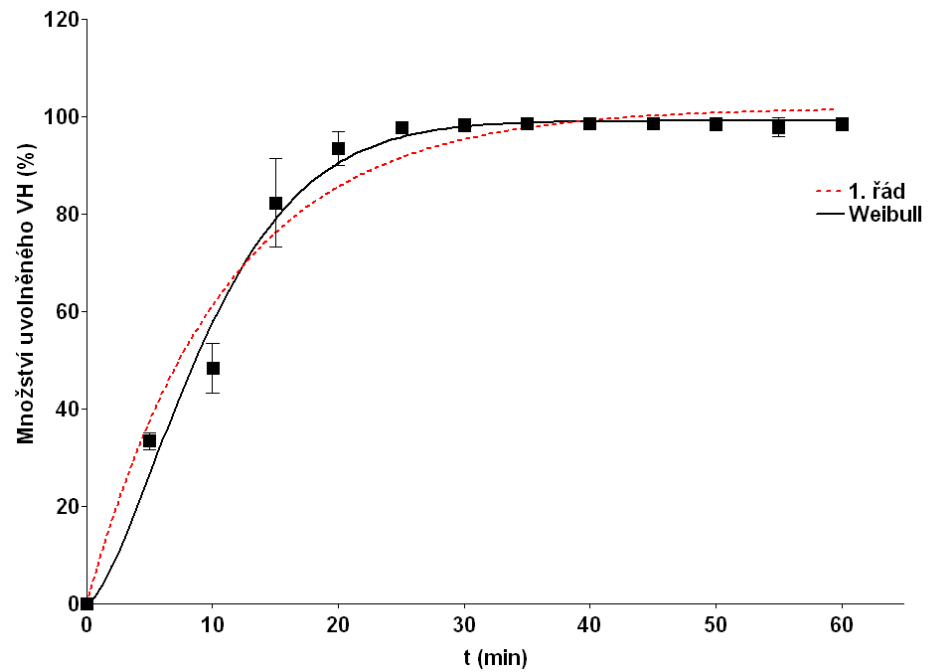
Tablety formulace F9 jsou složeny z lipofilní retardující složky Compritol® 888ATO (10%), mazadla stearátu hořečnatého (1%), účinné látky verapamil hydrochloridu (20%) a suchého pojiva Prosolv® SMCC90 (69%). Disoluční profil této formulace při pH = 1,2 je zobrazen v grafu 15..



Graf 15. Disoluční profil formulace F9 při pH=1,2

3.2.10. Formulace F10

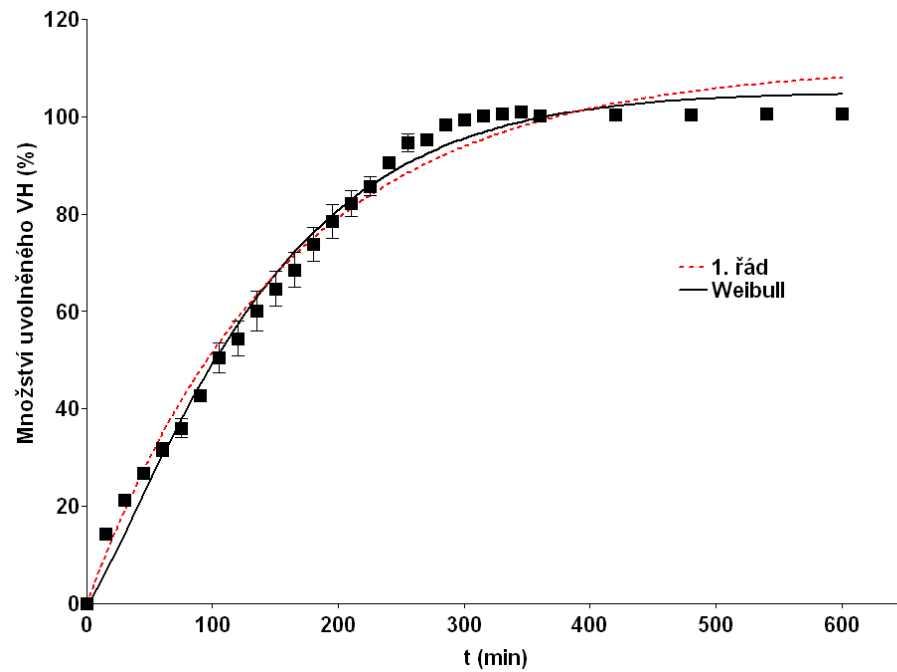
Tablety formulace F10 jsou složeny z hydrofilní retardující složky Pardeck® SRP80 (10%), mazadla stearátu hořečnatého (1%), účinné látky verapamil hydrochloridu (20%) a suchého pojiva Prosolv® SMCC90 (69%). Disoluční profil této formulace při pH = 1,2 je zobrazen v grafu 16..



Graf 16. Disoluční profil formulace F10 při pH=1,2

3.2.11. Formulace F11

Tablety formulace F11 jsou složeny z hydrofilní retardující složky Pardeck® SRP80 (20%), mazadla stearátu hořečnatého (1%), účinné látky verapamil hydrochloridu (20%) a suchého pojiva Prosolv® SMCC90 (59%). Disoluční profil této formulace při pH = 1,2 je zobrazen v grafu 17..

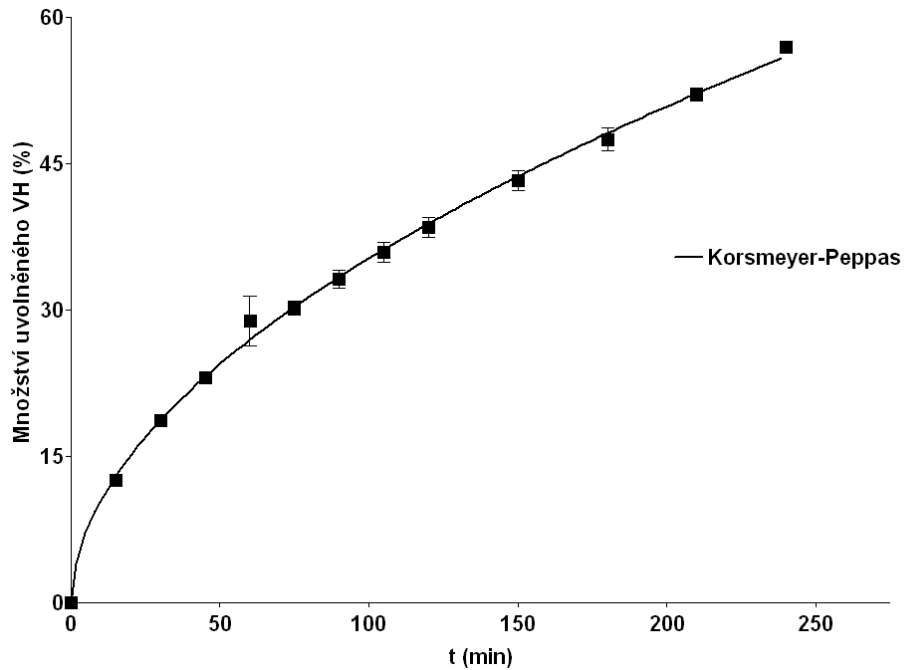


Graf 17. Disoluční profil formulace F11 při pH=1,2

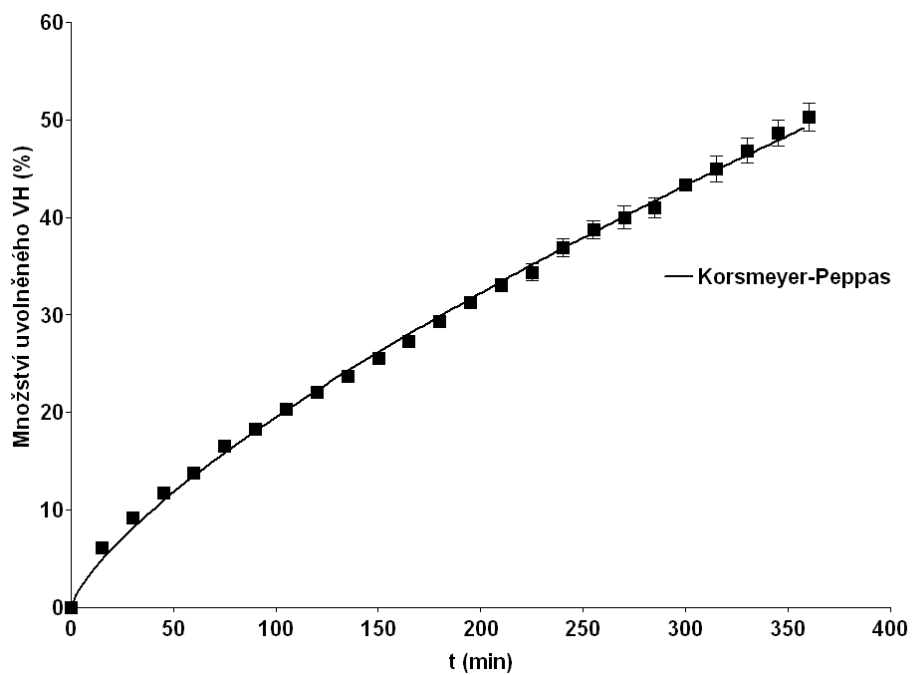
3.3. Disoluční profily formulací F1-F11 proložené modelem Korsmeyer-Peppas

3.3.1. Formulace F1

Proložení prvních 60 % disolučního profilu formulace F1 modelem Korsmeyer-Peppas při $\text{pH} = 1,2$ a $\text{pH} = 6,8$.

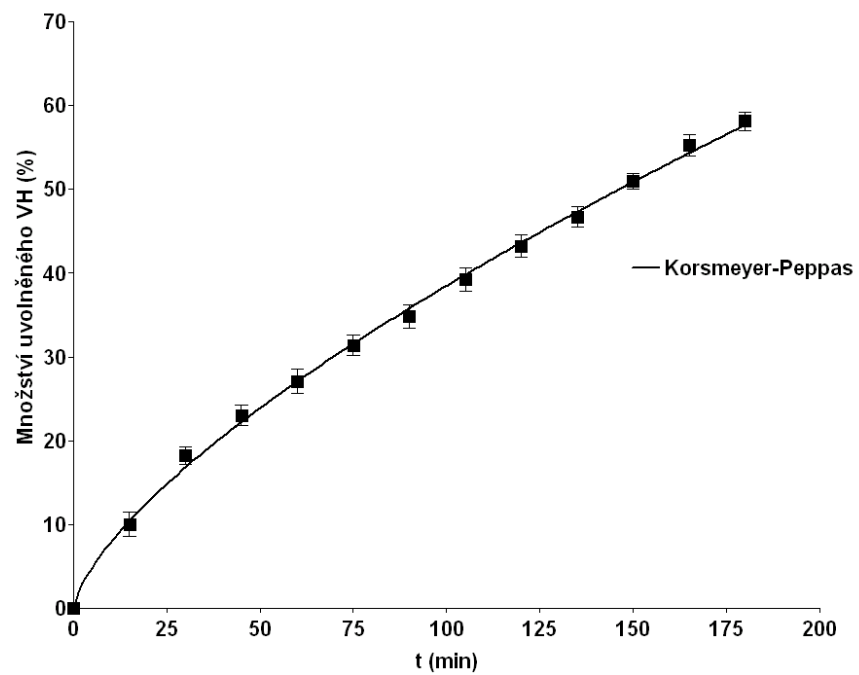


Graf 18. Disoluční profil formulace F1 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při $\text{pH}=1,2$

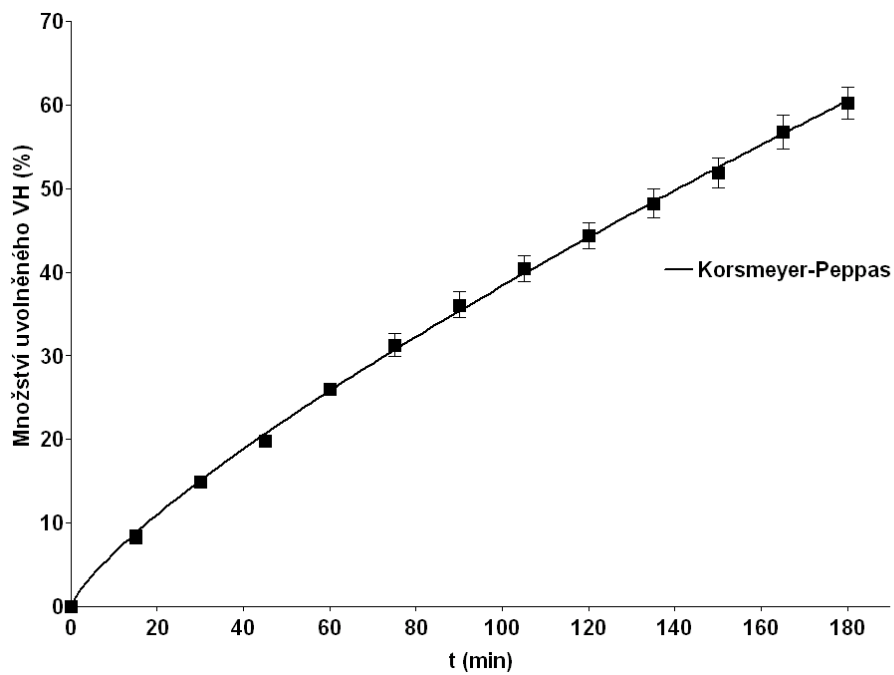


Graf 19. Disoluční profil formulace F1 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při $\text{pH}=6,8$

3.3.2. Formulace F2

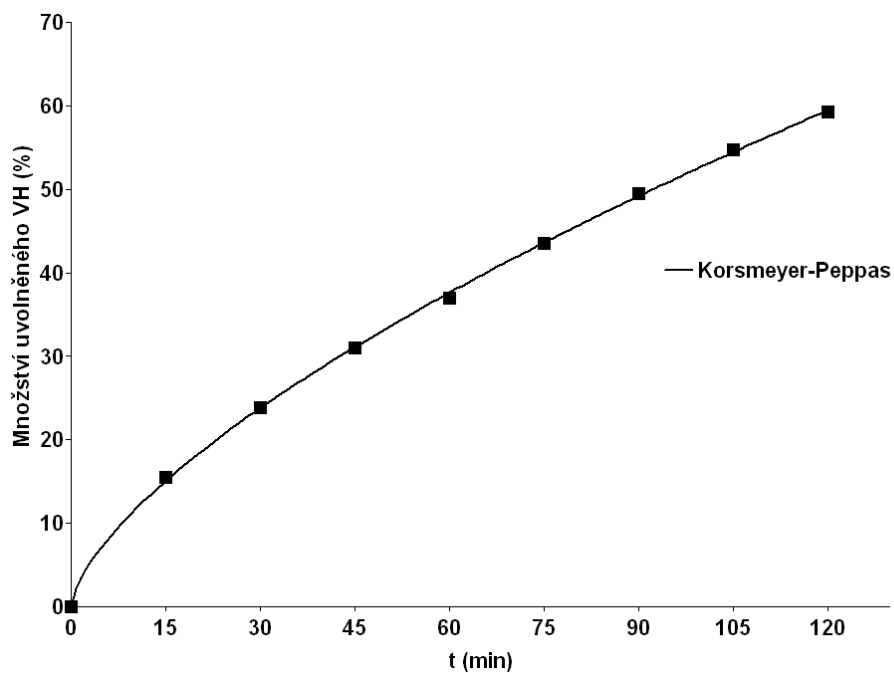


Graf 20. Disolucni profil formulace F2 prolozeny modelem Korsmejer-Peppas pri pH=1,2

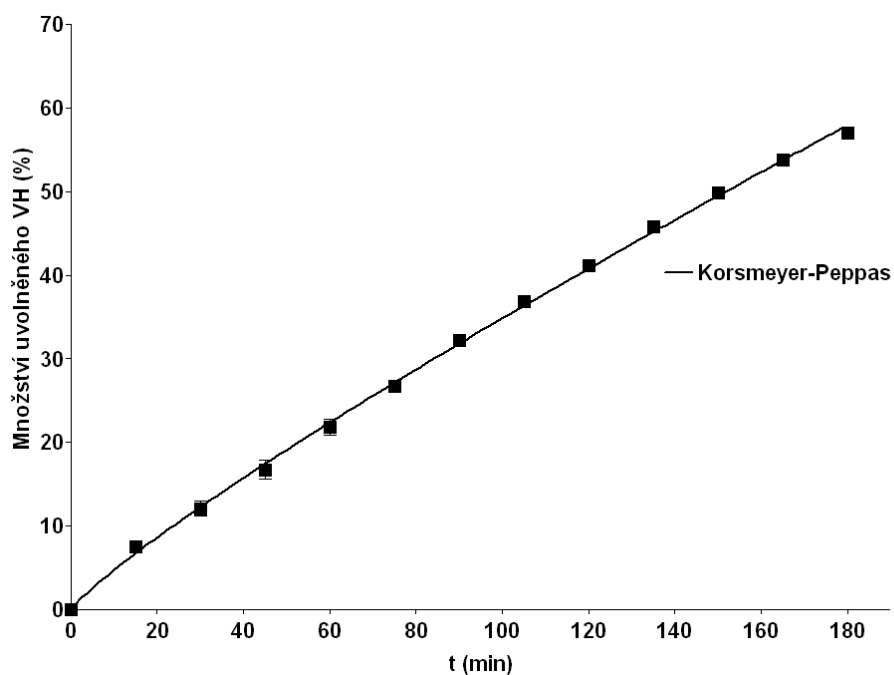


Graf 21. Disolucni profil formulace F2 prolozeny modelem Korsmejer-Peppas pri pH=6,8

3.3.3. Formulace F3

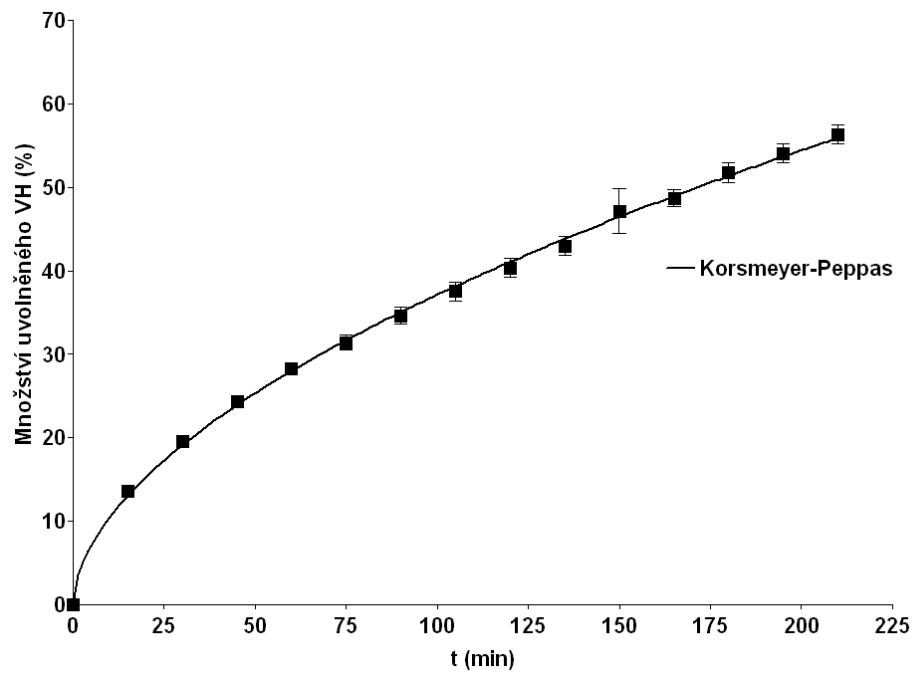


Graf 22. Disolucni profil formulace F3 proložený modelem Korsmeier-Peppas při pH=1,2



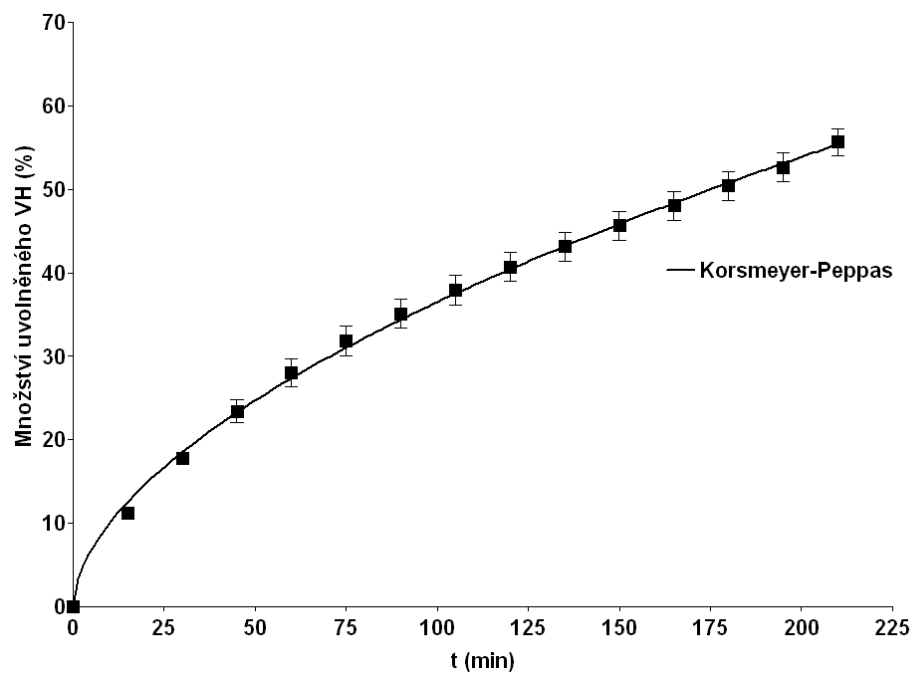
Graf 23. Disolucni profil formulace F3 proložený modelem Korsmeier-Peppas při pH=6,8

3.3.4. Formulace F4



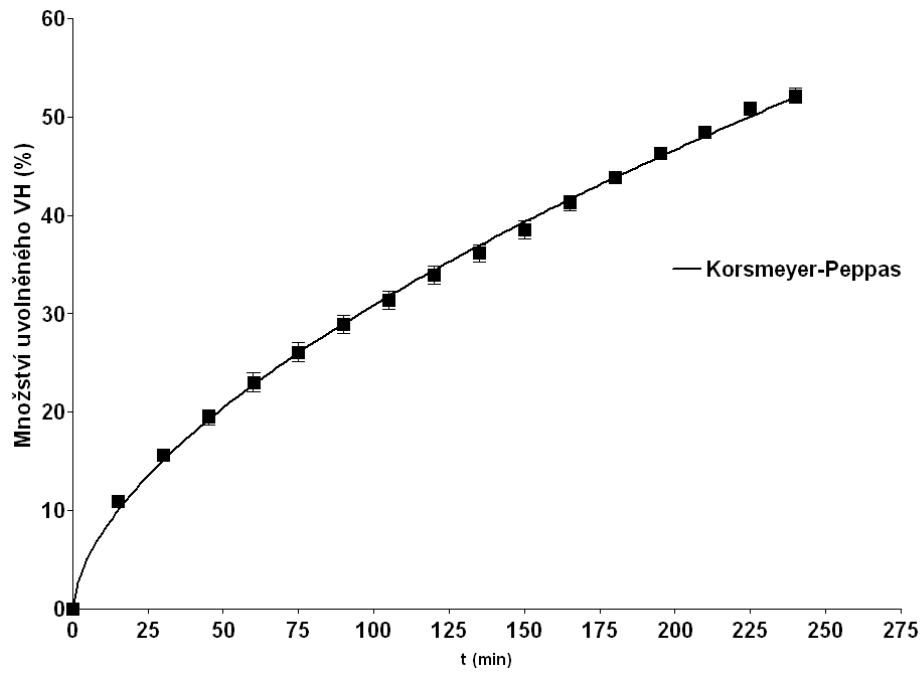
Graf 24. Disolucní profil formulace F4 proložený modelem Korsmeier-Peppas při pH=1,2

3.3.5. Formulace F5



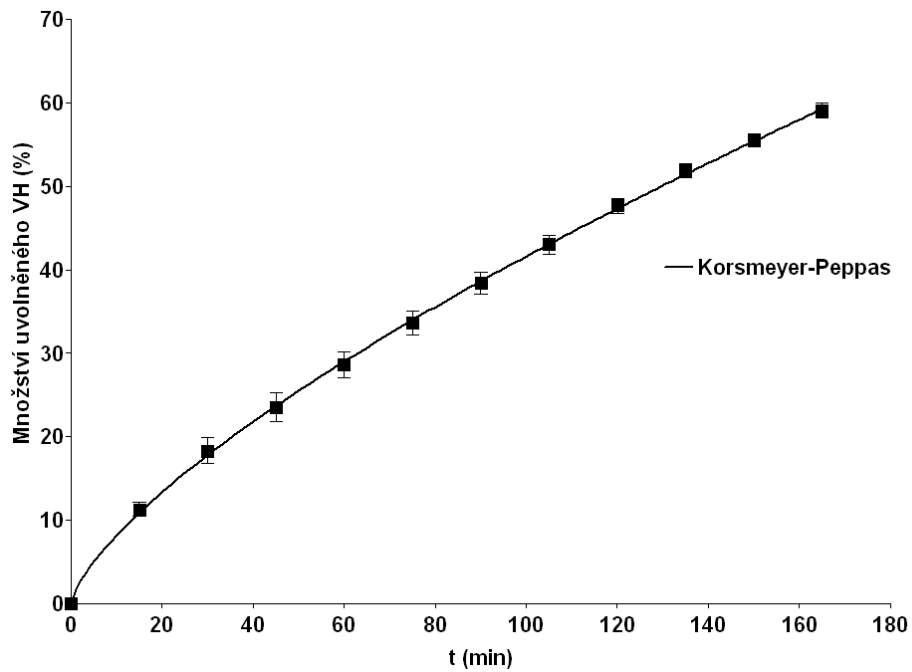
Graf 25. Disolucní profil formulace F5 proložený modelem Korsmeier-Peppas při pH=1,2

3.3.6. Formulace F6



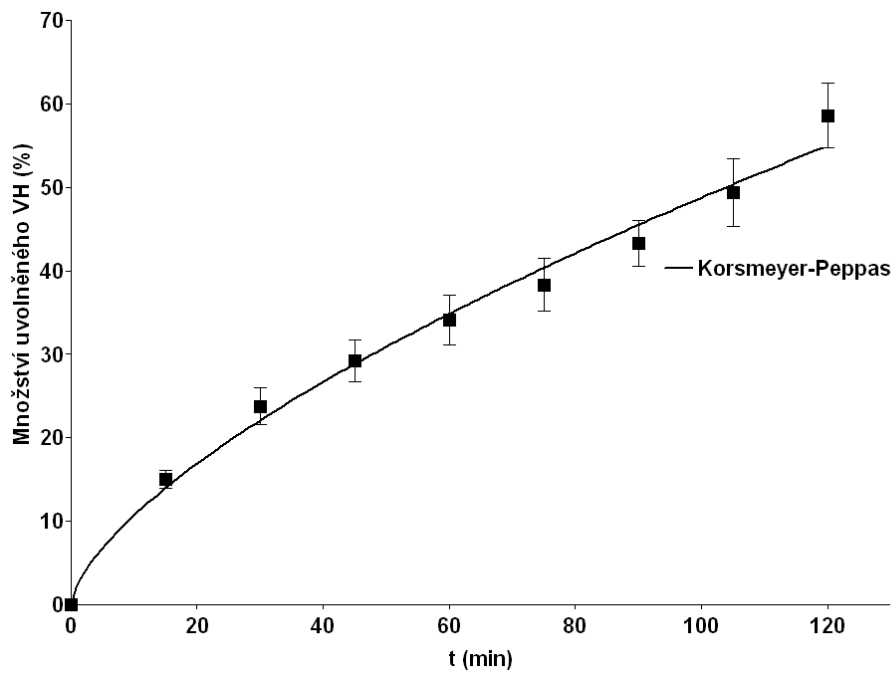
Graf 26. Disoluční profil formulace F6 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2

3.3.7. Formulace F7



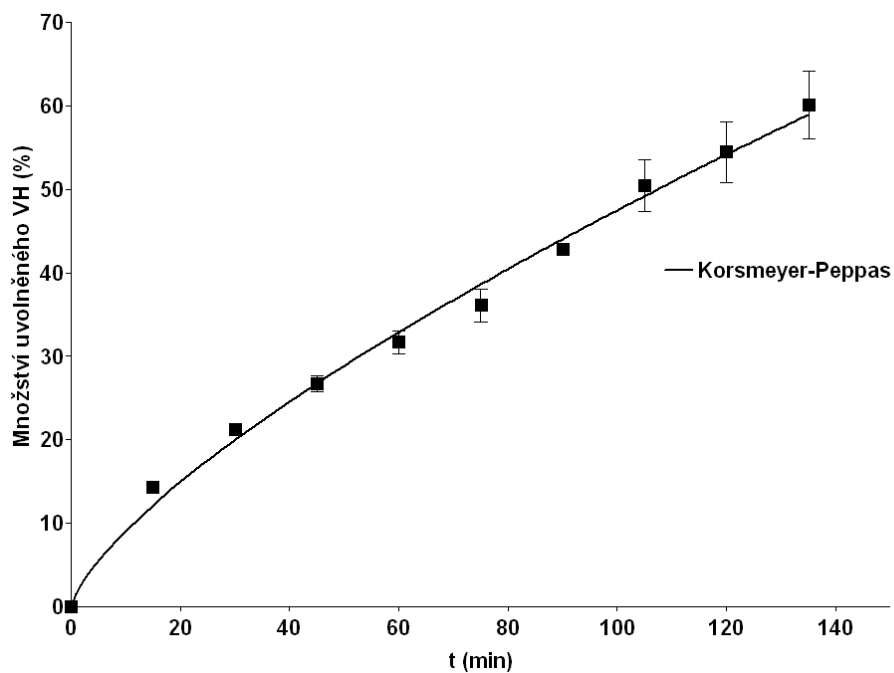
Graf 27. Disoluční profil formulace F7 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2

3.3.8. Formulace F8



Graf 28. Disoluční profil formulace F8 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2

3.3.9. Formulace F11

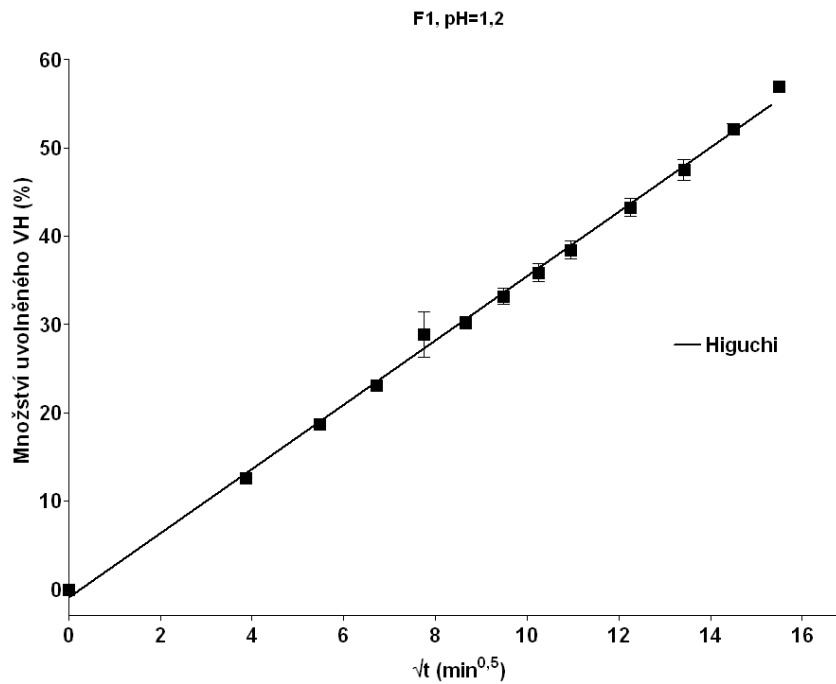


Graf 29. Disoluční profil formulace F11 proložený modelem Korsmeyer-Peppas při pH=1,2

3.4. Disoluční profily proložené modelem Higuchi

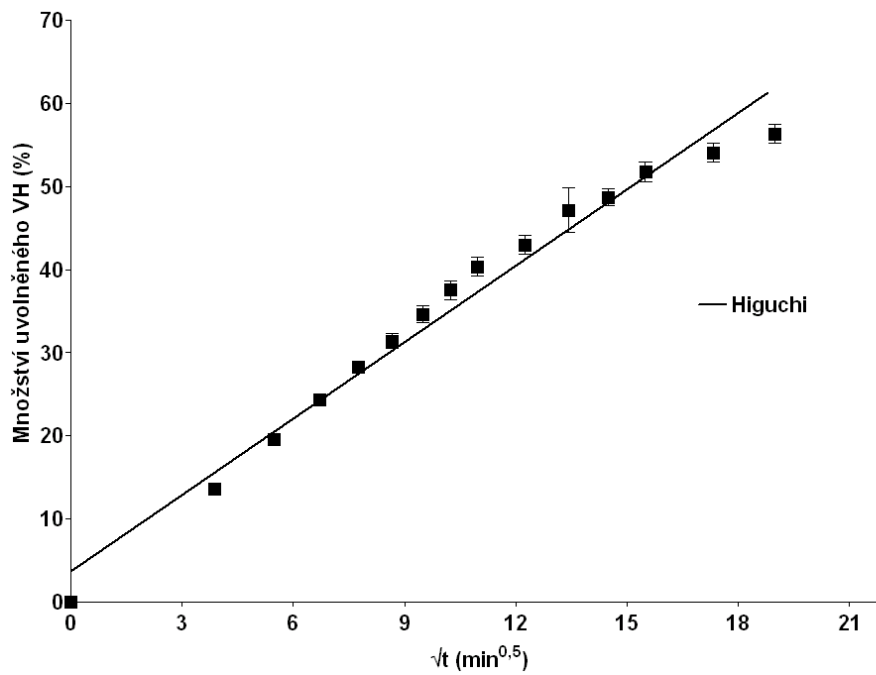
Na základě indentifikace difúzního mechanismu podle modelu Korsmeyer-Peppas byly proloženy pouze formulace, u kterých lze předpokládat uvolnění difúzí. Konkrétně se jedná o formulace F1, F4, F5 a F6, jelikož bylo u těchto formulací dosaženo relativně nízkého koeficientu n při proložení Korsmeyer-Peppas modelem.

3.4.1. Formulace F1



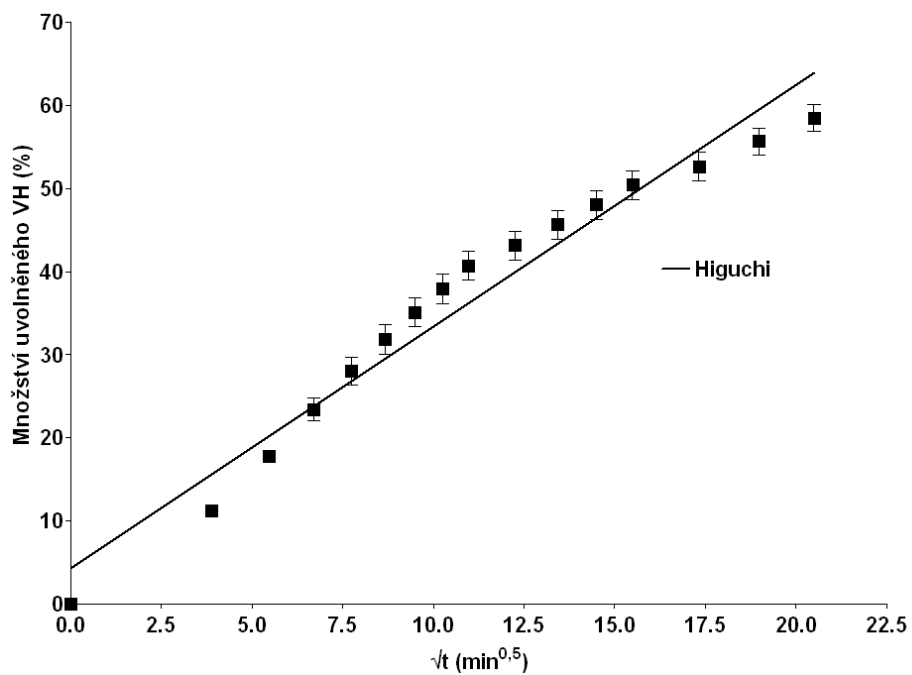
Graf 30. Disoluční profil formulace F1 proložený modelem Higuchi při pH=1,2

3.4.2. Formulace F4



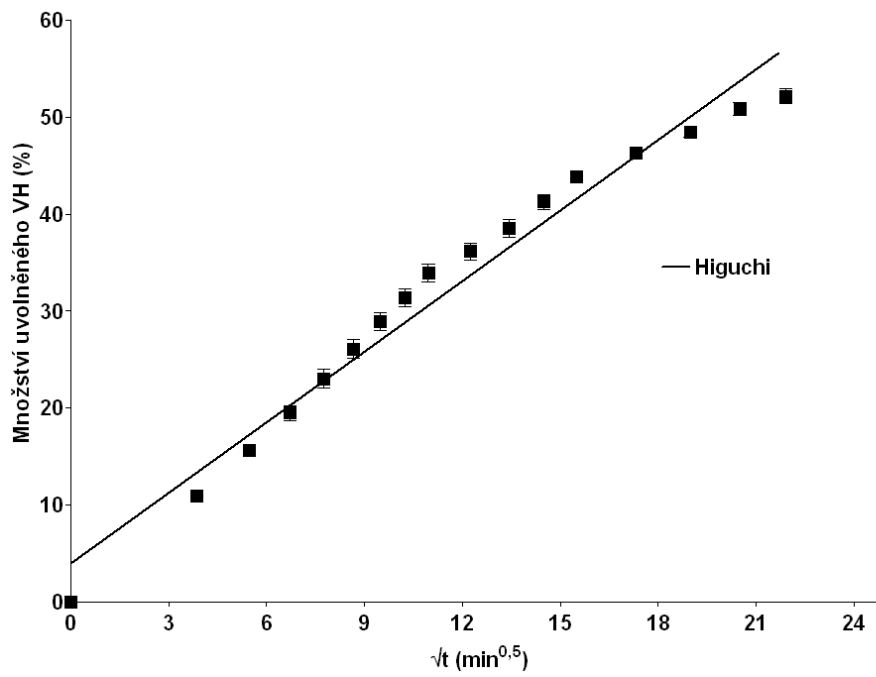
Graf 31. Disolucní profil formulace F4 proložený modelem Higuchi při pH=1,2

3.4.3. Formulace F5



Graf 32. Disolucní profil formulace F5 proložený modelem Higuchi při pH=1,2

3.4.4. Formulace F6



Graf 33. Disoluční profil formulace F6 proložený modelem Higuchi při pH=1,2

3.5. Regresní analýza disolučních profilů

V následujících tabulkách pro I. řád je uvedeno k_I jako rychlostní konstanta kinetiky I. řádu, A_∞ jako maximální uvolnitelné množství. Pro model Weibull je N uvedeno jako parametr charakterizující průběh křivky, K_w jako rychlostní konstanta modelu Weibull. Pro model Korsmeyer-Peppas je uvedeno n jako exponent uvolnění charakterizující mechanismus. Pro model Higuchi je k_H Higuchiho konstantou. Pro všechny modely pak platí, že ASS je suma čtverců a R^2 koeficient determinace.

Tabulka 6. Regresní analýza disolučních profilů F1-F11 pro disoluční médium pH=1,2 a pro I. řád.

Formulace	I. řád, pH=1,2 $A_{t(l)} = A_0 \cdot (1 - e^{-k_1 \cdot t})$			
	$k_I \pm SD$ (min^{-1})	$A_\infty \pm SD$ (%)	ASS	R^2
F1	0,0038 ± 0,00012	102,8 ± 1,14	765	0,9868
F2	0,0045 ± 0,00009	109,1 ± 1,04	1788	0,9860
F3	0,0075 ± 0,00018	104,3 ± 0,90	890	0,9876
F4	0,0040 ± 0,00013	100,7 ± 1,59	1255	0,9771
F5	0,0040 ± 0,00011	101,9 ± 1,41	2736	0,9719
F6	0,0033 ± 0,00009	100,8 ± 1,51	1459	0,9791
F7	0,0050 ± 0,00012	109,9 ± 1,14	1643	0,9848
F8	0,0070 ± 0,00027	109,7 ± 1,56	2287	0,9726
F9	0,0234 ± 0,00119	101,3 ± 1,23	600	0,9797
F10	0,0922 ± 0,00789	101,8 ± 2,11	987	0,9608
F11	0,0063 ± 0,00027	110,5 ± 1,89	1169	0,9789

Tabulka 7. Regresní analýza disolučních profilů F1-F3 pro disoluční médium pH=6,8 a pro I. řád

Formulace	I. řád, pH=6,8 $A_{t(l)} = A_0 \cdot (1 - e^{-k_1 \cdot t})$			
	$k_I \pm SD$ (min^{-1})	$A_\infty \pm SD$ (%)	ASS	R^2
F1	0,0022 ± 0,00005	91,63 ± 1,40	369	0,9894
F2	0,0045 ± 0,00015	113,6 ± 1,66	1696	0,9894
F3	0,0040 ± 0,00008	111,5 ± 1,07	564	0,9930

Tabulka 8. Regresní analýza disolučních profilů formulací F1-F11 pro disoluční médium pH=1,2 pomocí modelu Weibull

Formulace	Weibull model, pH=1,2 $A_t = A_0 \cdot (1 - e^{-k \cdot t^N})$				
	$N \pm SD$	$K_w \pm SD$	$A_\infty \pm SD$ (%)	ASS	R^2
F1	0,85 ± 0,028	0,0080 ± 0,00108	107,4 ± 1,78	507	0,9913
F2	1,05 ± 0,022	0,0035 ± 0,00037	107,4 ± 1,23	1713	0,9866
F3	1,08 ± 0,030	0,0054 ± 0,00075	102,5 ± 1,06	825	0,9885
F4	0,79 ± 0,018	0,0106 ± 0,00085	111,6 ± 2,07	532	0,9903
F5	0,86 ± 0,023	0,0077 ± 0,00080	107,8 ± 2,05	2206	0,9773
F6	0,89 ± 0,023	0,0056 ± 0,00059	106,1 ± 2,19	1223	0,9825
F7	1,08 ± 0,027	0,0033 ± 0,00042	107,5 ± 1,29	1494	0,9861
F8	1,21 ± 0,048	0,0027 ± 0,00060	104,9 ± 1,38	1839	0,9779
F9	1,40 ± 0,065	0,0053 ± 0,00129	98,55 ± 0,67	231	0,9922
F10	1,48 ± 0,146	0,0289 ± 0,01017	99,14 ± 1,41	597	0,9763
F11	1,21 ± 0,050	0,0023 ± 0,00055	105 ± 1,59	857	0,9845

Tabulka 9. Regresní analýza disolučních profilů formulací F1-F3 pro disoluční médium pH=6,8 pomocí modelu Weibull

Formulace	Weibull model, pH=6,8 $A_t = A_0 \cdot (1 - e^{-k \cdot t^N})$				
	$N \pm SD$	$K_w \pm SD$	$A_\infty \pm SD$ (%)	ASS	R^2
F1	0,9241 ± 0,0205	0,0031 ± 0,00030	96,3 ± 2,21	323	0,9908
F2	1,221 ± 0,0317	0,0016 ± 0,00024	107,8 ± 1,28	991	0,9890
F3	1,12 ± 0,01694	0,0023 ± 0,00019	107,5 ± 0,91	330	0,9959

Tabulka 10. Regresní analýza disolučních profilů F1-F11 pro disoluční médium pH=1,2 pomocí modelu Korsmeier-Peppas

Formulace	Korsmeier-Peppas, pH=1,2 $\frac{A_t}{A_\infty} = K \cdot t^n$		
	$n \pm SD$	ASS	R^2
F1	0,53 ± 0,012	38	0,9939
F2	0,69 ± 0,020	406	0,9787
F3	0,66 ± 0,008	11	0,9988
F4	0,55 ± 0,014	126	0,9886
F5	0,56 ± 0,021	723	0,9618
F6	0,59 ± 0,011	132	0,9907
F7	0,71 ± 0,019	200	0,9869
F8	0,66 ± 0,057	504	0,9379
F9	0,82 ± 0,017	1	0,9997
F10	0,53 ± 0,142	59	0,9765
F11	0,72 ± 0,039	130	0,9801

Tabulka 11. Regresní analýza disolučních profilů F1-F3 pro disoluční médium pH=6,8 pomocí modelu Korsmeier-Peppas

Formulace	Korsmeier-Peppas, pH=6,8 $\frac{A_t}{A_\infty} = K \cdot t^n$		
	$n \pm SD$	ASS	R^2
F1	0,72 ± 0,011	107	0,9926
F2	0,77 ± 0,021	153	0,9884
F3	0,86 ± 0,013	97	0,9958

Tabulka 12. Výsledky regresní analýzy s využitím Higuchiho modelu

Formulace	Higuchi	$(A_t = k_H\sqrt{t})$
	k_H	R^2
F1	$3,66 \pm 0,06$	0,9933
F4	$3,07 \pm 0,09$	0,9662
F5	$2,91 \pm 0,09$	0,9274
F6	$2,46 \pm 0,06$	0,9632
F10	$8,79 \pm 0,79$	0,9762

4. Diskuze

Tato diplomová práce je zaměřená na studium kinetiky uvolňování léčiva z matricových tablet s lipofilní, hydrofilní i duální matricí obsahující účinnou látku verapamil hydrochlorid. Jako lipofilní retardant byl použit glyceryl dibehenát (Compritol® 888 ATO) a jako hydrofilní retardant byl použit polyvinylalkohol (Parreck® SRP 80). Jako suché pojivo byla použita silikovaná mikrokrytalická celulóza (Prosolv® SMCC 90) a jako mazadlo byl použit stearát hořečnatý. Metodou přímého lisování byly připraveny lipofilní, hydrofilní i duální matricové tablety.

Všechny formulace (F1-F11) byly podrobeny disoluci v disolučním médiu o pH = 1,2. Z těchto formulací byly následně vybrány formulace F1 jako zástupce tablety s lipofilní matricí, F2 jako zástupce tablety s hydrofilní matricí a F3 jako zástupce tablety pro duální matrici a tyto tablety byly podrobeny disoluci v disolučním médiu o pH = 6,8. Získané disoluční profily byly proloženy kinetickým modelem I. řádu a empirickým modelem Weibull. U všech získaných disolučních profilů se ukázal model Weibull jako vhodnější matematický model pro prokládání těchto profilů. Následně byly všechny disoluční profily proloženy modelem Korsmeyer-Peppas k identifikaci mechanismu uvolňování účinné látky. Při vyhodnocování pomocí modelu Korsmeyer-Peppas byla zahrnuta část disolučního profilu, kde uvolněné množství nepřekročilo 60 % ($\frac{A_t}{A_\infty} < 0,6$). Pro formulace F1, F4, F5, a F6 byl koeficient n (koeficient určující mechanismus uvolňování) blízký mezní hodnotě pro Fickovu difúzi. Z tohoto důvodu byly disoluční profily vyhodnocovány rovněž pomocí modelu Higuchi k ověření mechanismu uvolňování.

Formulace F1 s 30 hm. % lipofilního retardantu Compritol® 888 ATO, formulace F2 s 30 hm. % hydrofilního retardantu Parreck® SRP 80 a formulace F3 s 10 hm. % lipofilního retardantu Compritol® 888 ATO a 20 hm. % hydrofilního retardantu Parreck® SRP 80 byly podrobeny disoluci v obou disolučních médiích. Z disolučních profilů formulace F1 a získaných parametrů je patrné, že se účinná látka verapamil hydrochlorid uvolňovala rychleji v disolučním médiu o pH = 1,2. Z disolučních profilů formulace F2 je pak patrné, že se účinná látka uvolňovala rychleji v disolučním médiu o pH = 6,8 a v případě formulace F3 je pak ze získaných dat a disolučních profilů patrné, že se léčivo uvolňovalo rychleji v disolučním médiu o pH = 1,2. Při proložení disolučního profilu F1 modelem Korsmeyer-Peppas se mechanismus uvolňování při pH = 1,2 velmi blíží mechanismu Fickovy difúze, což bylo dokázáno analýzou pomocí modelu Higuchi ($R^2 = 0,9933$). Při disoluci v disolučním médiu

o pH = 6,8 se již jedná o anomální transport. V případě formulací F2 a F3 koeficient n pro Korsmeyer-Peppas model indikoval anomální transport mechanismu uvolňování.

U tablet formulací F4, F5 a F6 (duální matricové tablety) byl proveden disoluční test v kyselém disolučním médiu o pH = 1,2. Disoluční profily byly proloženy modelem Korsmeyer-Peppas a na základě získaného koeficientu n byly následně proloženy modelem Higuchi. U těchto formulací se po proložení modelem Higuchi ukázalo, že mechanismus uvolňování je pravděpodobně anomálním transportem.

Disoluční profily formulací F7 a F8 byly proloženy modelem Korsmeyer-Peppas, avšak na základě vysoké hodnoty koeficientu n se jeví anomální transport jako mechanismus uvolňování léčiva z tablety.

Disoluční profily formulací F9 a F10 byly prokládány pouze modelem I. řádu a Weibull modelem z důvodu velmi rychlého uvolnění veškerého množství účinné látky z tablety. V případě formulace F9 se jednalo o 90 minut a v případě formulace F10 o 30 minut. Tyto disoluční profily není možné analyzovat modelem Korsmeyer-Peppas ani modelem Higuchi z důvodu nedostatečného množství získaných bodů. V případě formulace F10 se s velkou pravděpodobností jednalo o nedokonale homogenizovanou směs v tabletovinu před lisováním. Z toho důvodu mají jednotlivé body velké rozptylové úsečky.

Formulace F11 byla opět proložena modelem Korsmeyer-Peppas k identifikaci mechanismu uvolňování, ale i v tomto případě se jedná o anomální transport.

Porovnáním rychlostních konstant u čistě lipofilních formulací F1 a F8 a rychlostních konstant u hydrofilně-lipofilních formulací F4 a F6, je z tabulky 6. patrné, že nejnižší hodnotu rychlostní konstanty ($0,0033 \pm 0,00009 \text{ min}^{-1}$) má formulace F6. Z výše uvedených tablet je tedy pro prodloužené uvolňování verapamil hydrochloridu nejvhodnější formulace F6 s 30 hm. % lipofilního retardantu Compritol[®] 888 ATO a 10 hm. % hydrofilního retardantu Pardeck[®] SRP 80. U formulace F6 byla uvolněna většina účinné látky po zhruba 600 minutách.

Porovnáním disolučních profilů tablet s čistě hydrofilním základem (formulace F2 a F11) a hydrofilně-lipofilních formulací F3 a F7, je z tabulky 6. patrné, že nejnižší rychlostní konstanty bylo dosaženo u formulace s čistě hydrofilní maticí F2 (s hodnotou rychlostní konstanty $0,0045 \pm 0,00009 \text{ min}^{-1}$) s 30 hm. % hydrofilního retardantu Pardeck[®] SRP 80. U formulace F2 byla uvolněna většina účinné látky po zhruba 550 minutách.

5. Závěr

Tato diplomová práce je zaměřena na studium kinetiky uvolňování verapamil hydrochloridu z lipofilních, hydrofilních a duálních (hydrofilně lipofilních) matricových tablet a zejména pak na identifikaci mechanismu uvolňování účinné látky verapamil hydrochloridu z těchto tablet připravených metodou přímého lisování.

Jako nejvhodnější formulace pro prodloužené uvolňování se jeví formulace F6 ve složení 30 hm. % lipofilního retardantu Compritol® 888 ATO, 10 % hydrofilního retardantu Parateck® SRP 80, 39 % hm. suchého pojiva Prosolv® SMCC 90, 1 % stearátu hořečnatého a 20 % účinné látky verapamil hydrochloridu. Na základě nelineární regresní analýzy dosáhla tato formulace nejnižší hodnoty rychlostní konstanty ($0,0033 \pm 0,00009 \text{ min}^{-1}$). Maxima uvolněného množství bylo dosaženo po 600 minutách. Nejvíce se jí přiblížila formulace F1 z čehož vyplývá, že jako vhodnější retardant pro uvolnění verapamil hydrochloridu se jeví lipofilní Compritol® 888 ATO.

Disoluční profily byly vyhodnoceny na základě nelineární regresní analýzy s použitím modelu Korsmeyer-Peppas, kde se podle koeficientu n určují mechanismy uvolňování. Majoritním mechanismem uvolňování u formulace F1 byla Fickova difúze, což potvrdilo proložení modelem Higuchi, kde bylo dosaženo vysokého korelačního koeficientu ($R^2 = 0,9933$). U ostatních testovaných formulací F4, F5, F6 a F10 se difúzní mechanismus uvolňování léčiva nepotvrdil.

U formulací F2-F11 byl identifikován mechanismus uvolňování léčiva jako anomální transport, což pravděpodobně znamená, že mechanismus uvolňování je založen na kombinaci více transportních dějů.

6. Literatura

- [1] Dvořáčková K., Rabišková M., Masteiková R., Vocílková L., (2007), Thermoplastic granulation as an alternative method for the preparation of hydrophilic-lipophilic oral matrix tablets, *Česká a Slovenská farmacie: časopis České farmaceutické společnosti a Slovenské farmaceutické společnosti*, 56(3), 129-134
- [2] Bruschi M.L., (2015) Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems, *Woodhead Publishing*, 87-194, ISBN: 978-0-08-100112-7
- [3] Rabišková M., Fričová V., (2008), Perorální formy s řízeným uvolňováním léčiv, *Praktické lékařství*, 4(4), 186-190
- [4] Dvořáčková K., (2009) Principy uvolňování léčiv z perorálních matricových tablet obsahující hypromelosu, *Chemické listy*, 103, 66-72
- [5] Rabišková M., (2007) Perorální matricové tablety s řízeným uvolňováním léčiva, *Remedia*, 2, 188-192
- [6] Lieberman H.A., Lachman L., Schwarz J.B., (1990), Pharmaceutical dosage forms: Tablets, New York and Basel, *Marcel Dekker Inc* 3,238-241
- [7] Robinson J.R., Lee V.H., (1987), Controlled drug delivery, *New York and Basel, Marcel Dekker Inc* 388-396
- [8] Banker G.S., Rhodes C.T., (2002), Modern Pharmaceutics, *New York and Basel, Marcel Dekker Inc* 67, 313-318
- [9] Kiortsis S., Kachrimanis K., Broussali T. Malamataris S., (2005), Drug release from tableted wet granulations comprising celulosic (HPMC or HPC) and hydrophobic component, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 59(1), 73-83
- [10] Mužíková J., Hávová Š., Ondřejček P. Komersová A., Lochař V., (2014), A study of tablets with a co-processed dry binder containing hypromellose and A-Lactose monohydrate, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 24(1) 100-104
- [11] Hirayama F., Uekema K., (1999) Cyclodextrin-based controlled drug release systém, *Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University*, 36, 125-141
- [12] Robinson J.R., Lee V.H., (1987), Controlled drug delivery Second Edition, *New York and Basel, Marcel Dekker Inc* 253-288
- [13] Uhrich K.E., Cannizzaro S.M., Langer R.S., Shakesheff K.M. (1999), Polymeric systems for controlled drug release, *Chem reviews*, 10;99(11), 3181-98
- [14] Dvořáčková K., Bautzová T., Rabišková M., (2011), Disoluční studie v hodnocení perorálních léků s řízeným uvolňováním léčiva, *Chemické listy*, 105, 50-54

- [15] Vetchý D., Rabišková M., Švarcová M., Sýkora T., Häring A., (2006) Porovnání vybraných perorálních originálních a generických léků používaných v kardiologii na základě disoluční studie, *Praktické lékárenství*, 2(4), 188-191
- [16] Dressman J.B., Amidon G.L., Reppas Ch., Shah P.V., (1998), Disolution Testing as a Prognostic Tool for Oral Drug Absorption: Immediate Release Dosage Forms, *Pharmaceutical Research*, 15, 1
- [17] Jirásková J., Ondrejček P., Wolaschka T., Řehula M., Rabišková M., (2015), Aplikační možnosti disoluční metody s průtokovou celou, *Chemické listy*, 109, 34-40
- [18] Kolektiv autorů, (2009), Český lékopis 2009, *Grada Publishing a.s., Praha*
- [19] McCarthy L.G., Kosiol C., Healy A.M., Bradley G., Sexton J.C., Corrigan O.I., (2003), Simulating the Hydrodynamic Conditions in the United States Pharmacopeia Paddle Dissolution Apparatus, *PharmSciTech*, 4(2), 83-98
- [20] Udiin R., Saffoon N., Sutradhar K.B., (2011), Dissolution and Dissolution Apparatus: A Review, *Internation Journal of Current Biomedical and Pharmaceutical Research* 1(4), 201-207
- [21] Costa P., Lobo J.M.S., (2001), Modeling and comparison of dissolution profiles, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13, 123-133
- [22] Bruschi M.L., (2015) Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems, *Woodhead Publishing*, 63-86, ISBN: 978-0-08-100112-7
- [23] Dash G., Murthy P.N., Nath L., Chowdhury P., (2010), Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems, *Acta Poloniae Pharmaceutica* 67(3), 217-233
- [24] Schwartz J.B., Simonelli A.P., Higuchi W.I., (1968), Drug release from wax matrices I. Analysis of data with first order kinetics and with the diffusion-controlled model, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 57(2), 274-277
- [25] Yang L., Fassihi R., (1995), Zero-Order Release Kinetics from a Self-Correcting FLoatable Asymtric Configuration Drug Delivery Systems, *Journal if Pharmaceutical Sciences*, 85(2), 1-4
- [26] Seilerová L., Brusová H., Kratochvíl B., (2011), Polymorfy a jiné pevné formy farmaceutických pomocných látek, *Chemické listy*, 105, 438-444
- [27] Marczynski Z., Zgoda M.M., Jambor J., (2007) Application of silicified microcrystalline cellulose (Prosolv[®]) as a polymeric carrier of (Epilobium parviflorum) extract in oral solid drug form, *Polymers in medicine*, 37(2), 21
- [28] http://www.jrspharma.com/pharma_en/products-services/excipients/hfe/prosolv-smcc.php

- [29] Aburahma M.H., Badr-Eldin S.M., (2014), Compritol® 888 ATO: a multifunctional lipid excipient in drug delivery systems and nanopharmaceuticals, *Taylor and Francis*, 11(12), 1865-1883
- [30] Barthelemy P., Laforêt J.P., Farah N., Joachim J., (1999), Compritol® 888 ATO: an innovative hot-melt coating agent for prolonged-release drug formulation, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 47,87-90
- [31] Souto E.B., Mehnert W., Müller R.H., (2008) Polymorphic behaviour of Compritol® 888 ATO as a bulk lipid and as SLN and NLC, *Journal of Microencapsulation*, 23(4) 417-433
- [32] Jannin V., Blas L., Chevrier S., Miolane C., Demarne F., Spitzer D., (2018) Evaluation of the digestibility of solid lipid nanoparticles of glyceryl dibehenate produced by two techniques: Ultrasonication and spray-flash evaporation, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 111(1), 91-95
- [33] <https://www.prnewswire.com/cs/tiskova-zprava/merck-millipore-pedstavuje-pomocnou-latku-parteck-srp-80-pro-tuhe-peroralnich-lekove-formy-s-trvalym-uvolovanim-537317361.html>
- [34] https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/magnesium_stearate#section=Top
- [35] Pasparakis G., Bouropoulos N., (2006) Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate-chitosan beads, *International Journal of Pharmaceutics*, 323, 34-42
- [36] Jawed S., Sorathiya A., Srivastava A.K., (2017), Formulation and evaluation of verapamil hydrochlorid loaded hollow microspheres, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(10), 4213-4221
- [37] <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0054032&tab=texts>
- [38] <http://www.dissolutiontech.com/DTresour/299articles/HollowShaft.html>