

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2019

Katarína Šulíková

Univerzita Pardubice

Fakulta Chemicko-technologická

Málo rozpustná léčiva v pevných lékových formách

Katarína Šulíková

Bakalářská práce

2019

University of Pardubice

Faculty of Chemical Technology

Poorly soluble drugs in solid dosage forms

Katarína Šulíková

Bachelor Thesis

2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Katarína Šulíková**
Osobní číslo: **C16106**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Málo rozpustná léčiva v pevných lékových formách**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Zásady pro vypracování:

Vypracujte rešerši na téma "Málo rozpustná léčiva v pevných lékových formách. Zaměřte se zejména na následující body:

1. Rozpustnost, stanovení rozpustnosti léčiv.
2. Bioklasifikační systém léčiv.
3. Zvýšení rozpustnosti a biodostupnosti málo rozpustných léčiv.
4. Pevné disperze málo rozpustných léčiv.
5. Disoluční test málo rozpustných léčiv.
6. Sepište závěrečnou zprávu.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Alena Komersová, Ph.D.**

Katedra fyzikální chemie

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

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 28.6.2019

Katarína Šulíková

Chcela by som sa týmto poďakovať mojej vedúcej bakalárskej práce doc. Ing. Alene Komersovej, Ph.D. za odborné rady, trpezlivosť a pomoc pri písaní bakalárskej práce. Tiež by som sa chcela poďakovať svojim blízkym za trpezlivosť a podporu v neľahkom období.

ANOTÁCIA

Táto práca sa zaoberá spôsobmi pozitívneho ovplyvnenia rozpustnosti málo rozpustných liečiv. Stručne popisuje všeobecné metódy a špecifické látky, ktoré sa podieľajú na zvýšení rozpustnosti. V závere charakterizuje disolučné testy vybraných štúdií.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

liečivá, rozpustnosť, indomethacín, zvýšenie rozpustnosti

ANNOTATION

This work deals with methods of positively affecting the solubility of poorly soluble drugs. Briefly, it describes the general methods and specific substances involved in increasing solubility. At the end it characterizes dissolution tests of selected studies.

KEYWORDS

drugs, solubility, indomethacin, increased solubility

Obsah

Úvod	15
1. Rozpustnosť, stanovenie rozpustnosti liečiv	16
1.1. Rozpustnosť	16
1.2. Stanovenie rozpustnosti liečiv	17
2. Bioklasifikačný systém.....	19
2.1. Klasifikácia do tried podľa BCS	20
3. Indomethacín.....	24
4. Zvýšenie rozpustnosti a biodostupnosti málo rozpustných liečiv	25
4.1. Mikronizácia	27
4.2. Nanosuspenzie.....	27
4.3. Polymorfy	28
4.4. Kokryštály	28
4.5. Rozpustné prekurzory	29
4.6. Soli	29
4.7. Amorfné látky	30
4.7.1. Konkrétny prípad zvýšenia rozpustnosti pomocou amorfnej látky	30
5. Pevné disperzie málo rozpustných liečiv	33
5.1. Zvýšenie rozpustnosti indomethacínu pomocou pevnej disperzie	34
6. Disolučný test málo rozpustných liečiv	36
6.1. Konkrétne štúdie zvýšenia rozpustnosti	36
6.1.1. Komplex indomethacín a hydrolyzát kazeínu	36

6.1.2. Zvýšenie rozpustnosti Indomethacínu: Kollidon VA64 extrudát	37
6.2. Zvýšenie rozpustnosti Indomethacínu: Gelucire 50/13 a PEG4000.....	40
Bibliografia	45

Zoznam tabuliek

Tabuľka 1 „ <i>Stupeň rozpustnosti látok pri teplote 15 až 25 °C</i> “ ⁵	16
Tabuľka 2 <i>Bioklasifikačný systém</i> ⁹	19
Tabuľka 3 <i>Možnosti zvýšenia rozpustnosti látok</i> ¹³	26

Zoznam obrázkov

Obrázok 1 Zaradenie 130 zlúčenín do kategórií BCS ²⁰	22
Obrázok 2 Indometacín ⁷	24
Obrázok 3 Rozpúšťanie γ -indomethacínu (a) a amorfného indomethacínu (b) pri prietoku 0,5 ml/min pripravených mletím alebo cryogrindingom ³³	31
Obrázok 4 Rozpúšťanie γ -indomethacínu (a) a amorfného indomethacínu (b) pri prietoku 7 ml/min pripravených mletím alebo cryogrindingom ³³	32
Obrázok 5 Indomethacín (prvá polovica obrázka) a Solopulus (druhá polovica obrázka) pomocou DSC ¹⁵	35
Obrázok 6 Rozpúšťanie čistého Kopovidonu a 5 % extrudátu ³²	38
Obrázok 7 Obrázky získané počas experimentu rozpúšťania extrudátu indometacín-kopovidonu (od 15 % do 90 % zaťaženia liečivom) a 100 % amorfný a 100 % γ - formy indometacínu ³²	39
Obrázok 8 Výsledky elektrónovej mikroskopie pre systém indomethacín-PEG4000: Indomethacín (IND), PEG4000, fyzikálna zmes(PM), tuhá disperzia v pomere 1:4 (SD) ³⁴	40
Obrázok 9 Výsledky elektrónovej mikroskopie pre system indomethacín-gelucire: indomethacín (IND), Gelucire 50/13, fyzikálna zmes(PM), tuhá disperzia v pomere 1:4 (SD) ³⁴	41
Obrázok 10 Termogram pre IND a PEG a ich odlišné systémy pripravené v rôznych pomeroch PM a SD ³⁴	42
Obrázok 11 Termogram pre IND a Gelu a ich odlišné systémy pripravené v rôznych pomeroch PM a SD ³⁴	42
Obrázok 12 Rozpustnosť a termálne parametre indomethacínu a jeho systémov ³⁴	43

Zoznam skratiek

A- plocha potrebná pre rozpúštenie

API – hlavná liečivá látka

BCS- Biofarmaceutický klasifikačný systém

C- koncentrácia liečiva

C_s - rozpustnosť zložky

C_{∞} - rozpustnosť pevnej fázy

COX (1,2) – cyklooxygenáza

D- difúzny koeficient

DSC- diferenciálna skenovacia kalorimetria

FD- sušenie vymrazovaním

FDA- Úrad pre kontrolu potravín a liečiv

GIT- gastrointestinálny trakt

Gelu- Gelucire 50/13

h- hrúbka difúznej vrstvy

HG- homogenizácia

HPMC- hydroxypropyl methylcelulóza

IND-indomethacín

IR – okamžité uvoľnenie liečiva

m- hmotnosť rozpusteného materiálu

MAD -maximálne absorbovateľná dávka

PEG- polyethylén glykol

PM- fyzikálna zmes

PVP- polyvinylpyrolidón

R- plynová konštanta

S-rozpustnosť

Sd- sprejové sušenie

SD-tuhá disperzia

SITT- čas, ktorý liečivo strávi v tenkom čreve

SIWV- objem vody v tenkom čreve

t- čas

T- absolútna teplota

V-molárny objem

XPRD- röntgenová prášková difrakcia

ρ -hustota

r - rádius častíc

Úvod

V súčasnosti sa nové, vyvíjané liečivé látky potýkajú s čoraz väčším problémom ich schopnosti sa rozpúšťať, čo predstavuje častú komplikáciu pri formulácii liekovej formy. Tento problém sa môže prejavovať nízkou hodnotou biologickej dostupnosti. Kvôli tomu sa veľa farmaceutických firiem snaží optimalizovať biologickú dostupnosť novodobými technikami úpravy liečivej látky.

Približne 70 % liečiv vstupujúcich do vývoja má nedostatočnú rozpustnosť vo vode. Najdôležitejším parametrom pre orálnu biologickú dostupnosť je rozpustnosť liečiva. V súčasnosti má len 8 % nových liečiv vysokú rozpustnosť a permeabilitu.¹

Táto práca je zameraná na metódy zvýšenia rozpustnosti málo rozpustných liečiv. Pozostáva z niekoľkých všeobecných metód zvýšenia rozpustnosti a tiež predstavuje špecifické techniky.

1. Rozpustnosť, stanovenie rozpustnosti liečiv

1.1. Rozpustnosť

Termín rozpustnosť je jednou z hlavných fyzikálno-chemických vlastností látky, charakterizujúcej schopnosť pevných, kvapalných a plynných látok rozpustiť sa v pevných, kvapalných alebo plynných rozpúšťadlách za vzniku homogénnej sústavy, roztoku. V širšom význame termín rozpustnosť predstavuje maximálne množstvo látky, ktoré sa rozpustí v špecifickom objeme rozpúšťadla. Rozpustnosť závisí od fyzikálnych a chemických vlastností rozpúšťanej látky a rozpúšťadla. Taktiež závisí od teploty, tlaku a pH roztoku. Rozpúšťadlom býva najčastejšie kvapalina, menej častá je pevná látka a ojedinele je to plyn.² Pojmy ako rozpúšťanie a gastrointestinálna permeabilita sú dôležitými parametrami pre kontrolu rýchlosti či rozsahu absorpcie lieku a jeho biodostupnosti.³ Je veľmi dobre známe, že rozpustnosť pomáha pri objavovaní a vývoji liečiv a je nevyhnutná pre navrhnutie chemických operácií.²

Tabuľka 1 Stupeň rozpustnosti látok pri teplote 15 až 25 °C⁴

Stupeň rozpustnosti látky	Množstvo rozpúšťadla (g) potrebné na rozpustenie na 1,0 g látky
veľmi ľahko rozpustné	do 1,0
ľahko rozpustné	1,0 – 10
dobro rozpustné	10 – 30
mierne rozpustné	30 – 100
ťažko rozpustné	100 – 1000
veľmi ťažko rozpustné	1000 – 10 000
prakticky nerozpustné	viac ako 10 000

Pomer perorálne podávaných liečiv sa blíži 90 %. Následná absorpcia takéhoto liečiva, jeho biologická dostupnosť a farmakokinetický profil sa odvíja od jeho rozpustnosti vo vodnom prostredí.⁵

Parameter rozpustnosti hrá veľmi dôležitú úlohu v biologickej dostupnosti liečiva v organizme pri perorálnych liekových formách, hoci významný je aj vplyv efluxných transportérov, gastrointestinálna permeabilita či efekt prvého prechodu pečeňou. Biofarmaceutický klasifikačný systém je dnes už dobre zavedená a stále aktualizovaná sústava, rozdeľujúca liečiva na základe rozpustnosti vo vode a permeability perorálne podávaných liečiv.⁵

1.2. Stanovenie rozpustnosti liečiv

Schopnosť látky sa rozpúšťať vážne závisí na type rozpúšťadla, podmienkach reakcie, fyzikálno-chemických vlastnostiach rozpúšťanej látky a v neposlednej rade na polarite a polymorfii.⁶ Údaje o rozpustnosti bývajú nedostatočné alebo úplne chýbajú pri špecifických chemických zlúčeninách, liečivách či priemyselných chemikáliách. V dôsledku tohto nedostatku informácií je veľká snaha o zistenie konkrétnej rozpustnosti požadovanej látky. Problém môže nastať pri liečivách, ktoré sú nedostatočne rozpustné a môžu pôsobiť na organizmus toxicky.⁷ V dôsledku toho je biologická dostupnosť týchto málo rozpustných látok veľmi nízka.⁸

Liečivé látky sa v pevnom skupenstve musia rozpustiť predtým, než budú absorbované. Rýchlosť disolúcie je závislá na rozpustnosti účinnej látky. Preto sa stanovuje rozpustnosť liekovej formy spolu s obsahom aktívnej látky. Johnson a Swindell navrhli postup ako stanoviť maximálne absorbovateľnú dávku (MAD-maximum absorbable dose).⁹

Maximálna absorbovateľná dávka⁹

$$\text{MAD} = S \cdot K_a \cdot \text{SIWV} \cdot \text{SITT} \quad (1)$$

V tejto rovnici S je rozpustnosť (mg/ml) pri pH 6,5, K_a je konštanta rýchlosti intestinálnej absorpcie (min^{-1}), ktorá bola získaná z experimentov prevádzaných na potkanoch a je považovaná za podobnú ľudskej K_a konštante. $SIWV$ je objem vody tenkého čreva (ml), ten má hodnotu 250 ml, $SITT$ je čas, ktorý strávi liečivo v tenkom čreve, všeobecne je rovný trom hodinám. MAD koncept býva využívaný k počiatočnému zisteniu, či sa vyskytnú nejaké potencionálne problémy s disolúciou a absorpciou. Ďalšou výhodou je, že nám dáva taktiež možnosť navrhnúť nejaké vhodné riešenie, napr. použitie špeciálneho výrobného procesu, aby boli potencionálne rizika minimalizované.⁹

Toto stanovenie prebieha pri teplote 37 ± 1 °C vo vodnom médiu v rozsahu pH 1–7,5. Dostatočný počet stanovení pri rôznych pH je primeraný profilu pH závislosti od daného liečiva. Napríklad, keď pK_a daného liečiva je v rozmedzí 3-5 tak by sa rozpustnosť mala stanovovať pri $pH=pK_a$, $pH=pK_a+1$ a $pH=1$ a 7,5. Tieto merania sa minimálne trikrát opakujú pri jednom pH. Pokiaľ liečivo vykazuje známky chemickej nestability, môžu sa použiť aj iné pufrý ako tie, ktoré sú uvedené v americkom liekopise (United States Pharmacopeia). Najtradičnejšia metóda je metóda shake-flask (natriasaná banka), ale používajú sa aj acidobázické titrácie. Určenie rozpustnosti liečiva sa vypočíta z objemu vodného média, v ktorom sa rozpustila najvyššia koncentrácia liečiva. Liečivo získa označenie vysoko rozpustné v prípade, keď sa najväčšia sila rozpustí v 250 ml vodného média v rozsahu pH 1–7,5.⁹

2. Bioklasifikačný systém

Keďže rozpustnosť ako taká ešte nie je dostatočným meradlom klasifikácie biodostupnosti liečiv, v deväťdesiatych rokoch bol preto Amidonom navrhnutý biofarmaceutický klasifikačný systém (BCS).¹⁰ Tento systém rozdelil liečivá podľa ich permeability, ktorá koreluje „in vitro“ rozpúšťanie či „in vivo“ biologickú dostupnosť liekov a rozpustnosť do štyroch tried.³

Tabuľka 2 Bioklasifikačný systém¹⁰

TRIEDA	PERMEABILITA	ROZPUSTNOSŤ
1	Vysoká	Vysoká
2	Nízka	Vysoká
3	Vysoká	Nízka
4	Nízka	Nízka

BCS sa riadi týmito dvoma hlavnými faktormi: intestinálna permeabilita a rozpustnosť, ktoré riadia rýchlosť a rozsah absorpcie, orálne podaného liečiva z tuhých dávkových foriem a jeho biodostupnosť. Bioklasifikačný systém je teda základným nástrojom pri vývoji liekov, najmä pri vývoji orálne podávaných liekov. Kritérium pre klasifikáciu rozpustnosti podľa FDA (The Food and Drug Administration) je založená na najvyššej dávke perorálneho podaného lieku, ktorý sa okamžite uvoľní (IR). Klasifikácia permeability je založená priamo na rozsahu črevnej absorpcie u ľudí alebo nepriamo na meraní hodnoty prenosu hmoty cez črevnú membránu či už u ľudí alebo u „in vivo“ modelov.³

Mnoho regulačných úradov spravilo ešte viacero úprav vyššie spomenutých kritérií. Jedným z nich je aj úprava od Lipanského, ktorý zostavil pravidlo troch pätiiek. Jeho hlavnou úlohou bolo empirické posúdenie permeability API. Prvá päťka hovorí, že by molekula mala mať 5 a viac vodíkových donorov. Ako ďalšia je päťka predstavujúca molekulovú hmotnosť, ktorá má mať hodnotu vyššiu než 500. Posledná päťka hovorí, že dekadický logaritmus rozdeľovacieho koeficientu v systéme oktán-1-ol a voda by mal byť väčší než päť. Liečivé látky, ktoré splňujú tieto kritéria sú obyčajne ťažko vstrebateľné a nevhodné pre ďalší výzkum.¹¹

2.1. Klasifikácia do tried podľa BCS

Liečivo sa môže nazývať vysoko rozpustné, triedou 1, pokiaľ sa jeho najvyššia liečebná dávka rozpustí v 250 ml vodného pufru (pH 1-7,5). Vysoko vstrebateľné liečivo je vtedy, keď miera permeability je najmenej 90% alebo je vyššie založené na hmotnostnej bilancii či v porovnaní s intravenózne podanou dávkou.^{10,3} Príkladom môžu byť propranolol a theofylin (vid'.obr.2). Liečivá tejto triedy sa používajú pre prípravu liečiv s okamžitým uvoľňovaním podávaných vo forme tabliet či kapsulí.¹²

Biodostupnosť liekov triedy 2 je obmedzená rýchlosťou rozpúšťania. Na základe ich vysokej permeability sa v posledných rokoch zameriavalo na zvýšenie rozpustnosti, čo by malo za následok zvýšenie biodostupnosti.³ Patria sem liečivá ako chlórpromazín, diflunisal aj indomethacín.¹² Disolučný profil sa riadi fyzikálne-chemickými faktormi, ako sú povrchová plocha, difúzny koeficient, hrúbka difúznej vrstvy, saturačná solubilita, objem rozpúšťadla alebo množstvo samotného rozpúšťaného liečiva.¹³ Pre zlepšenie rýchlosti rozpúšťania sú účinnými metódami pre túto triedu zmeny kryštálovej modifikácie, samoemulgace, redukcia veľkosti častíc a modifikácia pH.¹⁴

V prípade liekov triedy 3 BCS je problémom permeabilita, ale rozpustia sa rýchlo. Zaradzujeme sem liečivá ako atropin, cefazolin a nadolol.¹² Aktívny transcelulárny transport, ktorý je sprostredkovaný prenášačom je prvý z troch teoretických transepitelových ciest. Druhou cestou je pasívny transcelulárny

transport a posledný sa nazýva paracelulárny transport. Pomocou paracelulárneho transportu sa absorbuje väčšina perorálne podávaných liekov. Aby liečivo dosiahlo značnú membránovú priepustnosť, malo by byť výrazne lipofilné. Keďže membránová priepustnosť je daná chemickou štruktúrou, preto je nutné vylepšenie s cieľom zvýšenia priepustnosti transcelulárnou cestou. Aj keď liečivá triedy 3 môžu byť limitované permeabilitou, majú veľký farmaceutický význam.³

Poslednú triedu tvoria lieky triedy 4, kde je biodostupnosť obmedzená aj rozpustnosťou aj permeabilitou. Keďže je permeabilita nízka, lieky tejto kategórie sa ojedinele podrobujú vývoju alebo pokiaľ ich biodostupnosť nebude vyššia. Súčasný postup využívaný na zlepšenie rozpustnosti pre triedu liečiv 2 BCS spolu s látkami, čo zvyšujú absorpciu, môžu byť použité pri formovaní liečiv triedy 4. Ďalšou formou prístupu k triede 4 je výber lepšieho liečiva s výhodnejšími fyzikálno-chemickými vlastnosťami počas fázy optimalizácie.³

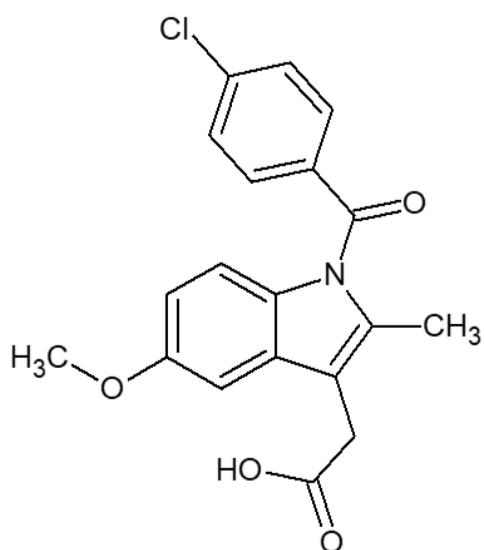
		High solubility	Low solubility
High permeability	Class 1		Class 2
	Abacavir	Ketoprofen	Amiodarone
	Acetaminophen	Ketorolac	Atorvastatin
	Acyclovir	Labetolol	Azithromycin
	Amiloride	Levodopa	Carbamazepine
	Amitriptyline	Levofloxacin	Carvedilol
	Antipyrine	Lidocaine	Chlorpromazine
	Atropine	Lomefloxacin	Ciprofloxacin
	Buspirone	Meperidine	Cisapride
	Caffeine	Metoprolol	Cyclosporine
	Captopril	Metronidazole	Danazol
	Chloroquine	Midazolam	Dapsone
	Chlorpheniramine	Minocycline	Diclofenac
	Cyclophosphamide	Misoprostol	Diflunisal
	Desipramine	Nifedipine	Digoxin
	Diazepam	Phenobarbital	Erythromycin
	Diltiazem	Phenylalanine	Flurbiprofen
	Diphenhydramine	Prednisolone	Glipizide
	Disopyramide	Primaquine	Glyburide
	Doxepin	Promazine	Griseofulvin
Doxycycline	Propranolol	Ibuprofen	
Enalapril	Quinidine	Indinavir	
Ephedrine	Rosiglitazone	Indomethacin	
Ergonovine	Salicylic acid		
Ethambutol	Theophylline		
Ethinyl estradiol	Valproic acid		
Fluoxetine	Verapamil		
Glucose	Zidovudine		
Imipramine			
Low permeability	Class 3		Class 4
	Acyclovir	Fexofenadine	Amphotericin B
	Amiloride	Folic acid	Chlorothiazide
	Amoxicillin	Furosemide	Chlorthalidone
	Atenolol	Ganciclovir	Ciprofloxacin
	Atropine	Hydrochlorothiazide	Colistin
	Bidismide	Lisinopril	Furosemide
	Bisphosphonates	Metformin	Hydrochlorothiazide
	Captopril	Methotrexate	Mebendazole
	Cefazolin	Nadolol	Methotrexate
	Cetirizine	Penicillins	Neomycin
	Cimetidine	Pravastatin	
	Ciprofloxacin	Ranitidine	
	Cloxacillin	Tetracycline	
	Dicloxacillin	Trimethoprim	
Erythromycin	Valsartan		
Famotidine	Zalcitabine		

Obrázok 1 Zaradenie 130 zlúčenín do kategórií BCS¹²

V 90. rokoch bolo vyvíjaných farmaceutickým priemyslom veľké množstvo liečiv, ktoré sa podľa systému BCS radili do triedy 1. Postupom času však pribúdali liečivé látky, ktoré spadali do triedy druhej alebo tretej triedy liečiv a je veľká snaha o ich použiteľnosť vo farmaceutickom priemysle. V týchto triedach je splnená aspoň jedna z podmienok možnej aplikovateľnosti, to je buď vysoká permeabilita, alebo vysoká rozpustnosť. V prípade liečiv triedy 4 podľa BCS je treba rozpustnosť zvýšiť, pretože tieto liečivá vykazujú nízku rozpustnosť aj permeabilitu. Pre ich prípadné využitie je potrebné zlepšenie týchto vlastností, ak majú aspoň odpovedajúcu vysokú biologickú dostupnosť.³

3. Indomethacín

Indomethacín je málo rozpustné liečivo (podľa bioklasifikačného systému trieda BCS II). V rade štúdií týkajúcich sa rozpustnosti je indomethacin používaný ako modelový príklad málo rozpustného liečiva. Chemický názov indomethacínu je 1-(4-chlórbenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-1H-indol-3-octová kyselina a patrí do skupiny nesteroidné antiflogistiká a antireumatiká. Svojím mechanizmom účinku pôsobí proti bolesti, preto sa používa tiež na krátkodobú liečbu bolesti, ako je bolesť hlavy, zubov, menštruačná bolesť a pod.¹⁵ Štruktúrny vzorec indomethacínu je na obrázku 2.¹⁶



Obrázok 2 Indomethacín ¹⁶

Pri skúmaní mechanizmu účinku na zvieracích modeloch sa dokázali účinky indomethacínu ako nesteroidného protizápalového liečiva. Podstatou účinku je inhibícia syntézy prostaglandínov. Dochádza k zablokovaniu enzýmu cyklooxygenázy (COX), ktorý existuje v dvoch formách: COX-1 a COX-2. Forma COX-1 je konštitutívnym členom normálnych buniek a COX-2 je indukovaný v zápalových bunkách. Tento enzým sa podieľa na syntéze biologicky aktívnych látok a mediátorov zápalu, čo má za následok vznik bolesti.¹⁵

4. Zvýšenie rozpustnosti a biodostupnosti málo rozpustných liečiv

Už celé desaťročia existujú liečivá, ktorých rozpustnosť predstavuje výzvu pre výskum vhodných foriem na perorálne podanie. Zvýšenie biodostupnosti ťažko rozpustných liečiv pri snahe zachovania ich biologicky aktívnej štruktúry sa dosahuje chemicky, fyzikálne alebo biologicky.¹⁰

Pomocou modifikácie rovnice Noyes-Whitney¹⁰ z 19. storočia (rovnica 2) sa získava možnosť, ako zvýšiť rozpustnosť aj málo rozpustných liečiv a pritom minimalizovať problémy pri perorálnom podaní.¹⁰

Noyes-Whitney rovnica¹⁰

$$\frac{dm}{dt} = \frac{AD(C_s - C)}{h} \quad (2)$$

Hmotnosť rozpusteného materiálu predstavuje m , t je čas, A je plocha potrebná pre rozpúšťanie, D je difúzny koeficient zložky, C_s je rozpustnosť zložky v disolučnom médiu, C je koncentrácia liečiva v médiu v čase t a hrúbke h , čo predstavuje difúznu hraničnú vrstvu susediacu s povrchom rozpúšťanej zlúčeniny. Zvýšenie dostupnej plochy A (rovnica 2) rozpúšťanej látky, môže byť jedným z hlavných možných zlepšení rozpustnosti. Jedno z ďalších zlepšení rozpustnosti je zníženie parametru h (rovnica 2), a to optimalizáciou máčacích charakteristík. V neposlednej rade tu máme zvýšenie zdanlivej rozpustnosti liečiva za fyziologicky podstatných podmienok. Za takýchto podmienok sa zmeny v hydrodynamike považujú za jedny z obťažne prevediteľných v „in vivo“ a zachovanie podmienok zmývania bude závisieť od toho, aká bude permeabilita sliznice gastrointestinálneho traktu¹⁰.

Spomedzi všetkých je avšak najatraktívnejšia možnosť zvýšenia rýchlosti uvoľňovania liečiva práve prostredníctvom typu podania liekovej formy.¹⁷ Podľa rovnice Noyese-Whitney (rovnica 2) platí že, zmenšenie veľkosti častíc zodpovedá zvýšeniu povrchovej plochy častíc, čo zvyšuje rýchlosť rozpúšťania tejto látky. V roku 2012 Sun a kol. a v roku 2013 Williams a kol. uviedli, že

zmenšenie veľkosti častíc má skutočne účinky na kinetickú rozpustnosť látky, a to podľa Ostwald-Freundlichovej rovnice (rovnica 3). Z rovnice 3 vyplýva, že rozpustnosť sa významne zvyšuje po redukcii pod 1 mm. Dôvodom môže byť zvýšenie solvatačného tlaku.³

Ostwald-Freundlich rovnica ³

$$\log \frac{c_s}{c_\infty} = \frac{2 \cdot \sigma \cdot V}{2,303 \cdot R \cdot T \cdot \rho \cdot v} \quad (3)$$

Rovnica 3, kde c znamená rozpustnosť nasýteného roztoku, c_∞ rozpustnosť pevnej fázy veľkých častíc a V molárny objem. V menovateli je plynová konštanta R , absolútna teplota T , hustota tuhých látok ρ a rádius častíc v .³

Nasledujúca tabuľka zobrazuje rozličné možnosti zvýšenia rozpustnosti alebo plochy pre rozpustenie.¹⁷

Tabuľka 3 Možnosti zvýšenia rozpustnosti látok¹⁷

Fyzikálne modifikácie	
Veľkosť častíc	mikročastice nanosuspénzie
Kryštalové modifikácie	
Polymorfy	
Pseudopolymorfy	
Zlúčenie/Rozpustenie	požitie povrchovo aktívnych látok použitie cyklodextrínov
Disperzie nosičov liečiv	eutektické zmesi tuhé disperzie tuhé roztoky
Chemické modifikácie	
Rozpustné prekurzory	
Soli	

4.1. Mikronizácia

Jednou z najstarších techník je zvýšenie rozpustnosti liečiv pomocou zmenšenia veľkosti častíc. Táto metóda sa veľmi často používa na zvýšenie biodostupnosti málo rozpustných liečiv. Pokiaľ sa znižuje plocha častíc, dochádza úmerne ku zvýšeniu rýchlosti rozpúšťania liečiva. Je to bezpečná metóda bez zmeny chemickej štruktúry.³ Podľa Prandtlovej rovnice pri znížení veľkosti častíc pod 5 μm , klesá hrúbka difúznej vrstvy, a to vedie k vyššej rýchlosti rozpúšťania liečiv. Mechanickým rozdrobovaním a drtením väčších častíc liečiva získavame mikronizované častice liečiva. Kolíkový, guľový a tryskový mlynček sa používajú pre suché mletie.¹⁴

Tieto častice môžeme vyrobiť s využitím superkritických kvapalín, tj. zlúčeniny nad ich kritickým tlakom aj teplotou s vlastnosťami plynov aj kvapalín. Najčastejšie používaný je oxid uhličitý. Metódou, ktorá využíva superkritickú kvapalinu je procedúra označovaná ako rýchla expanzia superkritických roztokov, pri ktorej je liečivo rozpustené v superkritickej kvapaline za vysokého tlaku a teploty. Pri tomto procese dôjde k precipitácii rozpusteného liečiva z roztoku následkom zníženia tlaku a vzniku veľmi malých častíc.¹⁸

Nevýhoda mikronizácie sa skrýva v občasnom zvyšovaní aglomerácie častíc API. To sa môže prejavovať znížením špecifického povrchu, ktorý je dostupný pre rozpúšťanie. Jednou z nevýhod je aj vysoká energetická náročnosť ale aj vznik častíc nepravidelného tvaru aj veľkosti.¹⁴

4.2. Nanosuspenzie

Nanosuspenzie sú koloidné disperzné častice liečivej látky o veľkosti menšej než 1 mikrometer a veľmi často stabilizované surfaktantom. Môžu byť využité na zvýšenie rozpustnosti ťažko rozpustných liečiv vo vodnom aj nevodnom prostredí. Môžu byť vyrábané tradičnými metódami riadenej precipitácie, vtedy je liečivo rozpustené v solvate a pridaním antisolventu dôjde k precipitácií jemných

kryštálov. Surfaktant zabráni rastu kryštálov na nežiadúcu veľkosť. Ostatné metódy sú založené na mletí a vysokotlakej homogenizácii.¹⁹

4.3. Polymorfy

Polymorfy sa môžu charakterizovať ako kryštálové štruktúry s rovnakým chemickým zložením, ale sú rozdielne v molekulárnych konformáciách a mriežkových štruktúrach. Každý polymorf má iné vlastnosti, ako napr. rozdielnu hustotu, stabilitu, rozpustnosť či bod topenia (melting point). K zvýšeniu rozpustnosti sa využívajú viacej metastabilné polymorfy, než tie termodynamicky stabilnejšie, a to kvôli ich nižšej rozpustnosti. Problémom u zmienených metastabilných polymorfov je ich častá transformácia na ich stabilnejšiu formu. Vďaka tomuto obmedzeniu treba zaistiť pri výrobe dávkových foriem na základe transformačných polymorfov vhodný pracovný postup s podmienkou kontroly ich transformácie.¹⁴ Prednedávnom bolo publikované,²⁰ že hodnoty rozpustnosti u polymorfných foriem sa pri väčšine skúmaných liečiv nelíšili o viac ako dvojnásobok. Taký rozdiel nie je z hľadiska biodostupnosti významný.²⁰

4.4. Kokryštály

Medzi ďalšiu metódu zvýšenia rozpustnosti môžeme zaradiť aj kokryštály – molekulárne komplexy.²¹ Môžu byť definované ako tuhé látky, ktoré sú kryštalické jednofázové materiály, zložené z dvoch alebo viacerých rôznych molekulárnych či ionových zlúčenín. Vo všeobecnosti bývajú v stechiometrickom pomere, v ktorom nie sú zahrnuté solváty ani jednoduché soli. Rozpustnosť kokryštálov môže byť určená rovnovážnou rozpustnosťou a kinetickou rozpustnosťou.²² Ich veľkou výhodou je zmena vlastností v pevnej fáze, rozpustnosť či rýchlosť rozpustenia pri zachovaní chemickej identity liečivej látky.²¹ Farmaceutický kokryštál musí obsahovať zložku API a farmaceuticky prijateľnú kokryštalickú zlúčeninu. Ich atraktivitu zvyšuje to, že na rozdiel od solí

sa kokryštály nespoľiehajú na ionizovateľné lieky a môžu sa vyrábať bez ohľadu na ionizovateľný stav API.²²

4.5. Rozpustné prekurzory

Často dochádza aj k prevedeniu liečivej látky na rozpustnejší prekurzor (proliečivo). Toto chemicky upravené liečivo má vylepšené chemicko-fyzikálne vlastnosti. Vďaka biotransformácii je toto proliečivo schopné previesť sa na pôvodné liečivo. Proliečivá sa delia do dvoch kategórií. V prvej kategórii sú zahrnuté proliečivá, ktoré sú transportnými formami liečiv. Spojenie medzi pomocnou, transportnou skupinou a pôvodným liečivom predstavuje kovalentná väzba, ktorá sa jednoducho štiepi po absorpcii. Druhú kategóriu tvoria bioprekurzory, ktoré sú modifikáciou pôvodného liečiva. Tieto bioprekurzory sú substrátom pre enzýmy, ktoré z nich aktívne liečivo vyrobia. K najpoužívanejším technikám a metódam na zvýšenie biodostupnosti patrí využitie proliečiv.. Jediným problémom je stabilita proliečiv, a to vďaka ich veľmi rýchlej transformácii.^{23,24}

4.6. Soli

Necelú polovicu súčasných liečivých prípravkov na trhu tvoria odpovedajúce soli. Keďže soli sú iontové zlúčeniny, rozpúšťajú sa v polárnych rozpúšťadlách (voda) lepšie než neiontové zlúčeniny, preto sa mnoho ťažko rozpustných liečiv práve prevádza do iontovej formy.²¹ Rozpustnosť ionizovaného liečiva vo vode je preto ovplyvnená zmenou pH podľa Henderson-Hasselbachovej rovnice.²⁵ S klesajúcim pH sa rozpustnosť liečiva zvyšuje exponenciálne. Kvôli pH závislej rozpustnosti je pravdepodobné, že dôjde v prípade voľnej kyseliny alebo bázy k precipitácii behom disolúcie soli za určitých pH podmienok v GIT. V závislosti od pKa a rozpustnosti voľnej formy dochádza aj k precipitácii formy voľnej kyseliny za nízkeho pH, tj. v žalúdku, tak aj pri relatívne vyššom pH v črevách. Často sa stáva, že dochádza k použitiu inej soli, tj. napr. miesto draselnej soli sa

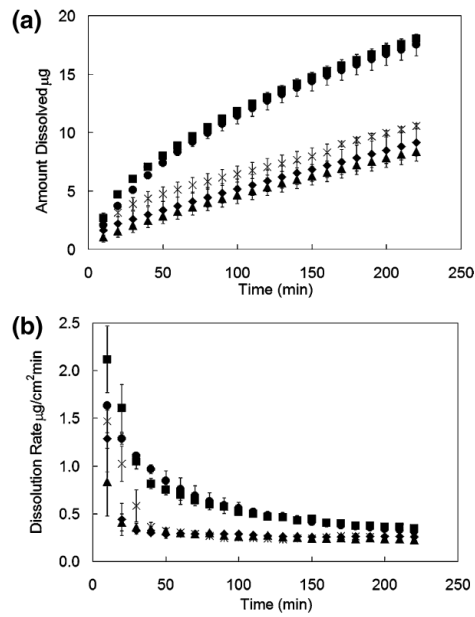
použije sodná soľ.²⁶ Existujú dôkazy o zvýšení výskytu nežiadúcich vedľajších účinkov po podaní inej soli aktívnej látky. Na tomto príklade došlo vďaka lepším disolučným vlastnostiam liečiva ku zvýšeniu plazmatických hladín aktívnej látky, a tým sa objavili častejšie nežiadúce účinky. Tento všedný príklad ukazuje, že je potrebné voliť správnu soľ liečiva, ako aj vhodnú liekovú formu, aby boli dosiahnuté optimálne plazmatické koncentrácie a biodostupnosti.²⁶ Veľmi často sa tiež prevádzajú aj na fosfáty. Príkladom môžu byť antivirotiká acykloviru.²¹

4.7. Amorfné látky

Amorfné látky sú nekryštalické materiály, ktoré majú nepravidelne usporiadané častice. Amorfizácia liečiva je jednou z metód zvýšenia rozpustnosti liečiva. Amorfné liečivá sú často termodynamicky nestabilné. Jedna z nevýhod použitia metastabilnej formy je častý sklon k návratu do stabilnej formy, často menej rozpustnej. Tieto fázové transformácie spôsobujú zníženie rýchlosti rozpúšťania. Amorfné pevné látky prechádzajú fázovou transformáciou na menej rozpustné kryštalické formy. Z tohto dôvodu tvorba amorfných pevných látok s vyššou rozpustnosťou nemusí viesť k zvýšeniu biodostupnosti. Riešenie prebieha v 3 krokoch: 1, rozpúšťanie metastabilnej fázy 2, nukleácia stabilnej fázy a 3, rast stabilnej fázy. Pri tomto procese je blízko presýtená, stabilná kryštalická forma, ktorá pravdepodobne kryje pevnú amorfnú látku, kryštalickým povlakom, čím sa eliminuje rozpustnosť amorfnej pevnej látky.²⁷

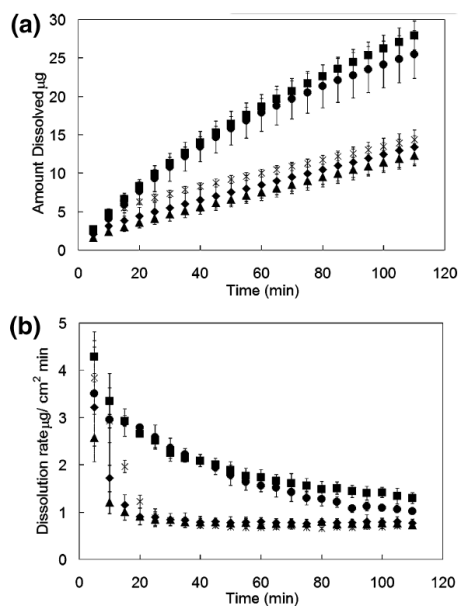
4.7.1. Konkrétny prípad zvýšenia rozpustnosti pomocou amorfnej látky

Indomethacín bol zvolený ako modelové liečivo pre výskum fázovej transformácie amorfnej zlúčeniny. Cieľom tejto štúdie bolo vyhodnotenie účinku spracovania na fázovú premenu sprostredkovanú roztokom. Vzorky v štúdií boli pripravené mletím a zaliatím/ kalením pod kryogénnu teplotu v kvapalnom dusíku u amorfného indomethacínu.²⁷



Obrázok 3 Rozpúšťanie γ -indomethacínu (a) a amorfného indomethacínu (b) pri prietoku 0,5 ml/min pripravených mletím alebo cryogrindingom²⁷

Zakrivenie na obrázku 3 v časti (a) znázorňuje výsledok zrážania stabilnejšej, menej rozpustnej formy v metastabilnej podobe. Rozpúšťaný povrch vystavený rozpúšťaciemu médiu sa znižoval s časom. Toto zakrivenie je zrejmé pri rozpúšťaní indomethacínu v kalených vzorkách pri prietoku 0,5 ml/min. Obrázok 3 časť (b) ukazuje údaje z rýchlostí rozpúšťania v závislosti na čase a prezentuje, ako sa mení hodnota rozpúšťania s časom.²⁷



Obrázok 4 Rozpúšťanie γ -indomethacínu (a) a amorfného indomethacínu (b) pri prietoku 7 ml/min pripravených mletím alebo cryogrindingom²⁷

Zakrivenie pri vyššom prietoku je porovnateľné so zakrivením pri nižšom prietoku (obrázok 4 a). Avšak hodnoty vzoriek rozpustnosti indomethacínu pripraveného cryogrindingom sú vyššie ako pri prietoku 0,5ml/min (obrázok 4 b).²⁷

Hodnota rozpúšťania γ -formy indomethacínu pri prietoku 0,5 ml/min je trojnásobne vyššia ako pri prietoku 7ml/min, čo nám ukazuje, že povrchová modifikácia, ktorá absentuje pri fázových zmenách závisí od rýchlosti tekutiny a prenosu hmoty. Na druhej strane rozpustnosť γ -formy indomethacínu a amorfnej vzorky pripraveného cryogrindingom má podobný čas konverzie pri oboch formách prietoku. Toto nám značí, že fázové zmeny nezávisia od prietoku kvapaliny v rozsahu rýchlostí.²⁷

5. Pevné disperzie málo rozpustných liečiv

Orálne podávanie liekov je najjednoduchší a najľahší spôsob podávania liekov. Veľkou výhodou pevnej orálnej dávky je hlavne ľahká výroba a presné dávkovanie. Preto sa pri vyvíjaní nových chemických subjektov kladie dôraz na použitie liečiva vo forme tuhej dávky. Ako už bolo zmienené, množstvo nových liečiv je slabo rozpustných vo vode a ich perorálne podanie je neefektívne. Dôvodom je znížená absorpcia liečiva a následkom toho je znížená účinnosť lieku. Uvoľňovanie liečiva je rozhodujúcim krokom pre orálnu biologickú dostupnosť liečiva, najmä pre nízku gastrointestinálnu rozpustnosť a vysokú priepustnosť.²⁸

Pevné disperzie sú jednou z najúspešnejších stratégií na zlepšenie uvoľňovania liečiva slabo rozpustných liečiv. Kombinujú niekoľko výhod, ktoré vedú ku zlepšeniu rozpustnosti liečiva. Zmenšenie častíc na čo najmenšiu možnú úroveň je prevádzané predovšetkým u molekulárnych disperzií. Tieto častice sú po rozpustení nosiča uvoľnené do disolučného média. Pevné disperzie môžu byť definované ako molekulárne zmesi vo vode slabo rozpustných liečiv v hydrofilných nosičoch s profilom uvoľňovania liečiva, ktorý je riadený polymérnymi vlastnosťami.²⁸

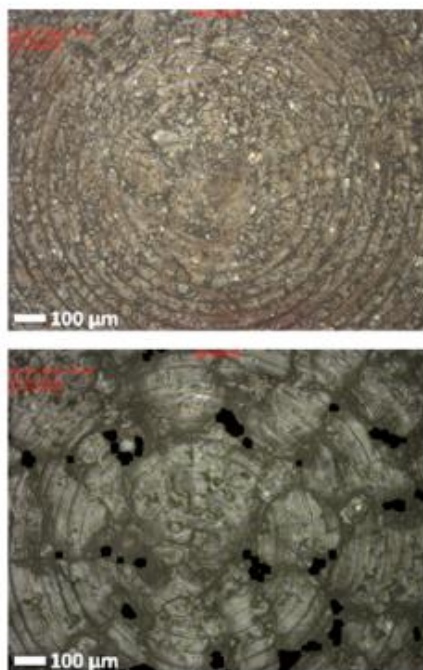
Pevné disperzie sa delia na heterogénne a homogénne disperzie. Princíp výroby pevných disperzií býva rozmanitý. Často sa vychádza z pevnej disperzie liečivej látky v pomocnej látke, pripravenej spoločným tavením a ochladením. Ďalšiu metódu prípravy pevnej disperzie predstavuje odparenie rozpúšťadla, ktoré je spoločné pre liečivú i pomocnú látku. Následne sa disperzia upraví mletím a spracuje sa do liekovej formy²⁹. Jedinou výzvou býva často voľba správneho nosiča. Najčastejšie sa volia vo vode rozpustné polyméry, ako sú polyethylén glykol (PEG), soloplus, polyvinylpyrolidón (PVP) alebo hydroxypropyl methylcelulózy (HPMC).³⁰

5.1. Zvýšenie rozpustnosti indomethacínu pomocou pevnej disperzie

Publikovaný článok analyzuje, okrem iného, výrobné techniky pevných disperzií. Metódou XRPD (X-Ray Powder Diffraction) sa potvrdila tuhá povaha tuhých disperzných vzoriek, ako aj povahy indomethacínu. Výsledné píky naznačujú γ -polymorfíu indomethacínu. Z difrakcií bolo zrejmé, že soloplus je úplne amorfný. Z halogénového difraktogramu bolo zrejmé, že kryštalický indomethacín bol molekulárne dispergovaný v solopluse. Tieto výsledky naznačujú potencióálny vplyv na rýchlosť rozpúšťania indomethacínu v tuhých disperziách.³⁰

Diferenciálnou skenovacou kalorimetriou (DSC) sa dokázalo, že pridanie soloplusu do indomethacínu spôsobuje inhibíciu kryštalizácie indomethacínu pri použití rôznych techník prípravy. XRPD a DSC sa teda ukázali ako prijateľné pri určovaní stavu indomethacínu v tuhých disperziách.³⁰

Metódou skenovacej elektrónovej mikroskopie sa hodnotili vzorky indomethacínu, soloplusu a rôznych tuhých disperzných zložiek. Analýzou výsledkov sa ukázali značné rozdiely v morfológii a mikroštruktúre medzi vzorkami vyrobenými rôznymi technikami Sd (spray drying), FD (freeze drying), HG (homogenizing). Všetky častice pripravené týmito technikami mali rôzne tvary a veľkosti. Veľkosť získaných častíc zostala pomerne konzistentná a jednotná, pričom sa častice aglomerovali dohromady. Hoci obe vzorky FD a HG boli podrobené procesu sušenia vymrazovaním, mali rôznu morfológiu. Disperzie FD sa zdali byť vysoko porézne s vrásčitými povrchmi a relatívne zložitou štruktúrou. V porovnaní s HG, ktoré nemá jednoznačnú štruktúru. Tento stav môžeme pripísať procesu homogenizácie, čo môžu mať vplyv na rozpustnosť. Vzorky pripravené metódami Sd, FD, HG vykazovali vyššiu rozpustnosť v porovnaní s liečivom.³⁰



Obrázok 5 5 Indomethacín (prvá polovica obrázka) a Solopulus (druhá polovica obrázka)
pomocou DSC³⁰

6. Disolučný test málo rozpustných liečiv

Disolučné testy patria k veľmi dôležitým metódam kontroly liečiv a sú podmienkou pre registráciu daného lieku.³¹ Pomocou týchto testov sa stanovuje uvoľňovanie účinnej látky z pevnej liekovej formy v podmienkach in vitro. Liečivo sa testuje v predpísanej kvapaline a v predpísanom čase, výsledky testovania nás informujú o kinetike uvoľňovania liečiv a v niektorých prípadoch aj o priepustnosti biologickými membránami.³²

Keďže disolúcia je úzko spätá s uvoľňovaním účinnej látky do GIT, patrí k jedným z hlavných charakteristík, ktoré definujú liekové formy s riadeným uvoľňovaním účinnej látky.³² Disolučné chovanie môže byť ovplyvnené použitými pomocnými látkami, výrobným procesom a konečnými parametrami testovanej liekovej formy. Pri jeho návrhu je potrebné brať zväžiť nielen parametre disolučnej metódy (rýchlosť miešania, tvar miešadla), ale aj vlastnosti disolučného média (objem, pH, viskozitu). Dôležité a potrebné je aj posúdenie fyzikálno-chemických vlastností (rozpustnosť vo vode či tukoch, acidobázické vlastnosti). Dnes má disolučný test dôležitú úlohu pri kontrolovaní biologickej dostupnosti liečiva, teda je potrebné čo najviac priblížiť disolučné podmienky fyziologickým hodnotám GIT.³³

6.1. Konkrétne štúdie zvýšenia rozpustnosti

Ako modelové liečivo bolo vybrané liečivo Indomethacín. Toto liečivo patrí do 2. triedy bioklasifikačného systému, ktorý je v práci už zmieňovaný.

6.1.1. Komplex indomethacín a hydrolyzát kazeínu

Pomerne novou technikou na zvýšenie rozpustnosti indomethacínu je tvorba komplexu s hydrolyzátom kazeínu.³⁴ Príprava komplexu pozostáva zo zmiešania etanolového roztoku indomethacínu a vodného roztoku peptidovej zmesi, za čím nasleduje lyofilizácia. Pod pojmom lyofilizácia alebo proces mrazovej sublimácie, si môžeme predstaviť zmrazený roztok, ktorý uvoľňuje za

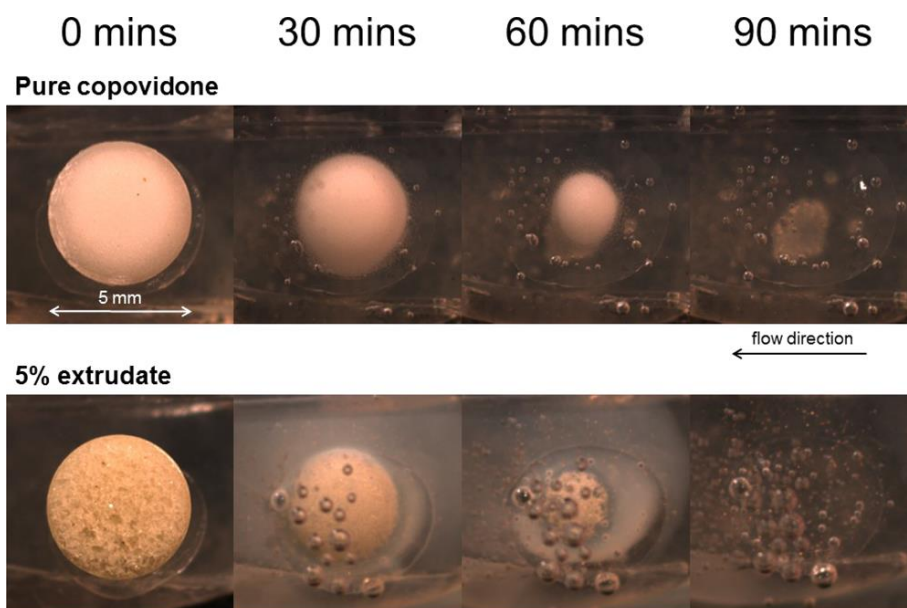
zníženého tlaku rozpúšťadlo z pevného skupenstva do plynného.³⁴ Liečivo pritom zostáva v pevnom skupenstve a je takto mrazovo vysušené. Táto tuhá časť si zachová špeciálnu pórovitú štruktúru, ktorá pri styku s vodou umožní rýchly prienik do vnútra štruktúry.¹⁰ Bolo dokázané, že na základe množstva peptidu sa zvyšuje rozpustnosť indomethacínu vo vode. Na zvýšenie rozpustnosti pôsobili aj iné faktory, ako napríklad zvyšujúce sa pH a teplota do 50 °C. Zvýšená rozpustnosť komplexu vo vode by zvýšila biodostupnosť indomethacínu.³⁴

6.1.2. Zvýšenie rozpustnosti Indomethacínu: Kollidon VA64 extrudát

V nasledujúcom texte je charakterizovaná metóda zvýšenia rozpustnosti indomethacínu. Na skúmanie sa využila UV-VIS spektrometria spolu s Ramanovou spektroskopiou. Ramanova spektroskopia využíva tzv. Ramanov jav, ktorý sa môže zjednodušene charakterizovať ako neelastický rozptyl svetla. Pri neelastickom rozptyle žiarenia dochádza k posunu vlnových dĺžok a na základe vzniknutého posunu je možné danú látku charakterizovať.⁹

Disolučné testy boli prevádzané s HCl pri pH 2 (ako žalúdok) a s fosfátovými puframi pri pH 6,8 k stimulácii postžalúdočných podmienok. Aby sa zabránilo rekryštalickému procesu liečiv, začleňujú sa do polymérov vo forme stabilizátorov za vzniku amorfnej pevnej disperzie. Dôsledkom zvýšenej stability pevných disperzií je udržiavanie molekúl liečiva od seba cez stérickú zábranu, zníženie molekulárnej pohyblivosti liečiva a látok formovacích liečivo.³⁵

Indomethacín je zle rozpustný vo vode a ako bolo zmienené už v tejto práci, patrí do 2. triedy BCS. Amorfný indomethacín vykázal lepšie hodnoty rozpustnosti v porovnaní s kryštalickou formou. Rozpustnosť sa zvýšila z 1,5 µm/ml pri pH 2 na 105,2 µm/ml pri pH 7,4.³⁵



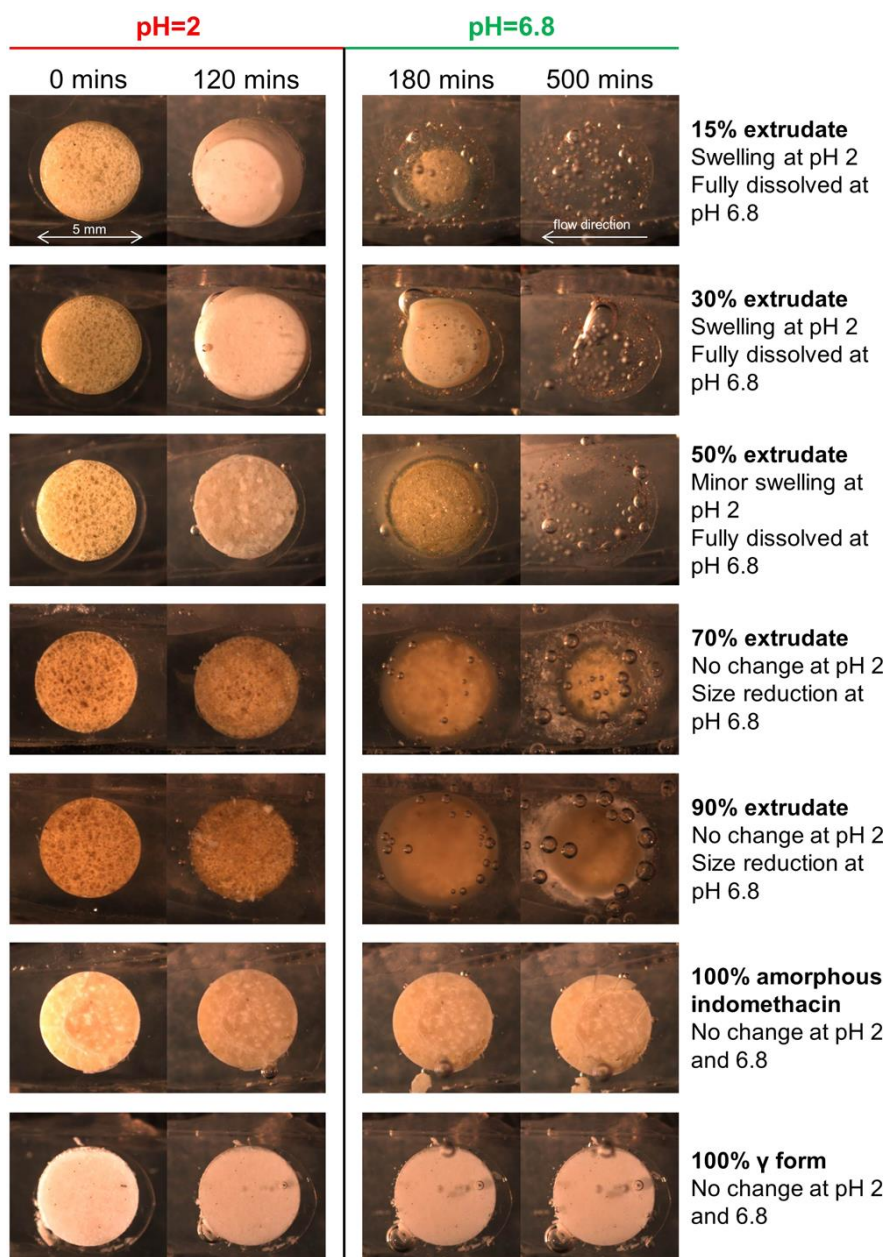
Obrázok 6 Rozpúšťanie čistého Kopovidonu a 5% extrudátu ³⁵

Na obrázku 6 je znázornené rozpúšťanie čistého kopovidonu a 5 % extrudátu v rôznych časových intervaloch.³⁵

Z obrázka 7 je zreteľné, že pri 15 % extrudáte, 100 % amorfnej a 100 % γ -formy indomethacínu nedochádzalo k narušeniu povrchu pri pH 2. Obrázok tiež zobrazuje značnú rozpustnosť v prípade všetkých foriem pri pH 6,8 fosfátového pufru. Hodnoty 15 %, 30 %, 50 % extrudátu sa úplne rozpustia za 500 minút, zatiaľ čo 70 % a 90 % extrudátu zostávajú nerozpustené. Namerané hodnoty 100 % amorfného indomethacínu aj 100 % γ -formy ilustrujú, že pri pH pod aj nad hodnotu pKa 4,5 indomethacínu sa nerozpúšťajú a potvrdzujú dôležitú úlohu kopovidónu pri rozpúšťaní.³⁵

Tieto optické experimenty (obrázok 6 a 7) ukázali, že len čistý kopovidón a 5 % extrudát sa úplne rozpustia vtedy, keď má rozpúšťacie médium pH 2 s pufrom. Indomethacín sa uvoľňuje z 5 % extrudátu pri oboch hodnotách pH, s disolučným testom lepším pri pH 6,8. Pri tejto hodnote pH sa všetky extrudáty správajú podobne ako najvyššia hodnota rozpúšťania z 50 % extrudátu, ktorý vykazuje 29-násobné zvýšenie rýchlosti rozpustnosti v porovnaní so 100 % indomethacínom γ -formy.³⁵

Zaujímavé je aj to, že 90 % extrudát ukazuje približne 17-násobné zvýšenie rýchlosti rozpúšťania v porovnaní so 100 % γ -formou, čo naznačuje, že aj malé množstvo kopovidónu v disperzii výrazne zvyšuje rozpúšťací výkon. Dramatické rozdiely v disolučnom správaní indomethacín-kopovidónových extrudátov pri pH 2 a 6,8 sú odvodené rozpustnosťou indomethacínu v kyslom a neutrálnom pH. Tento disolučný model môže byť aplikovaný na širokú škálu ťažko rozpustných liečiv.³⁵

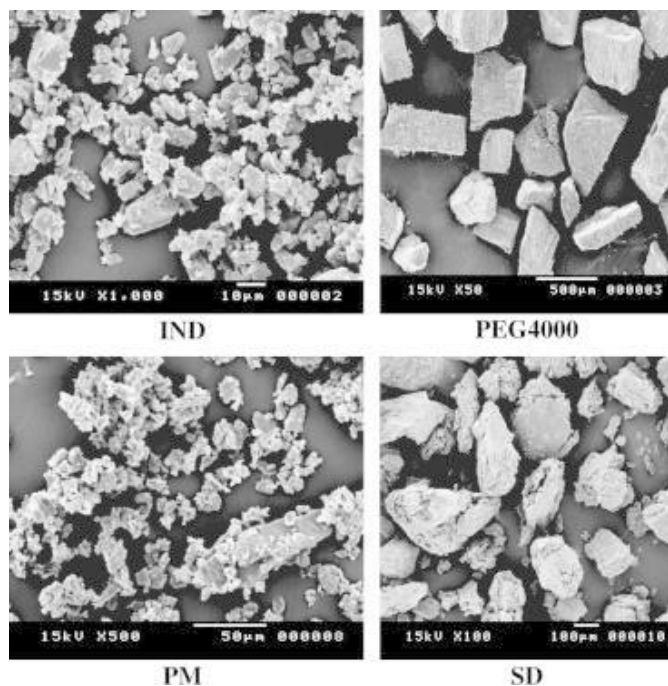


Obrázok 7 Obrázky získané počas experimentu rozpúšťania extrudátu indometacín-kopovidónu (od 15 % do 90 % zaťaženia liečivom) a 100 % amorfný a 100 % γ - formy indometacínu³⁵

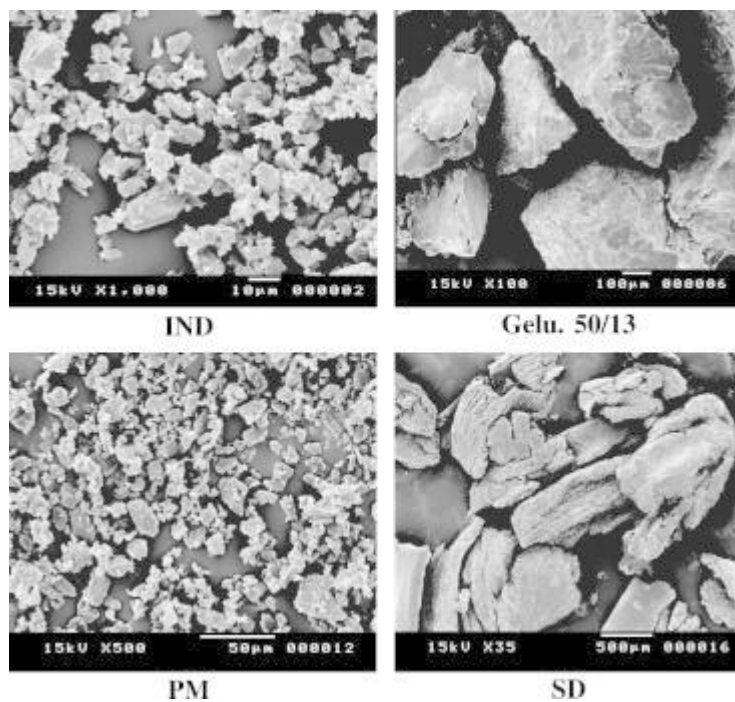
6.2. Zvýšenie rozpustnosti Indomethacínu: Gelucire 50/13 a PEG4000

Nosiče PEG sa využívajú často, a to vďaka svojej nízkej teplote topenia, nízkej toxicite a výbornej kompatibilite s liečivami. Gelucire je skupina nosičov odvodených zo zmesí mono-, di- a triglyceridov s polyethylénglykolom (PEG) esterov mastných kyselín. Majú širokú škálu aplikácií vo farmaceutických technológiách, jednou z nich je napríklad príprava liekových foriem s rýchlym uvoľňovaním a predĺženým uvoľňovaním.³⁶

Vzťah indomethacínu s týmito nosičmi bol skúmaný viacerými metódami. Pomocou elektrónovej mikroskopie boli experimentálne stanovené indomethacín aj oba nosiče. Výsledky tejto metódy sú zobrazené na obrázkoch 8 a 9. Kryštály indomethacínu sa zdali byť nepravidelného tvaru i veľkosti a v porovnaní s nosičmi boli oveľa menšie. Napriek zmenšeniu veľkosti častíc polymérov počas miešania, bolo ľahké rozlíšiť kryštály liečiva od kryštálov nosičov. V prípade tuhej disperzie bolo ťažké rozlíšiť prítomnosť kryštálov indomethacínu. Vzhľadom na predošlé zistenia, tuhá disperzia sa správa ako jednotná fáza.³⁶

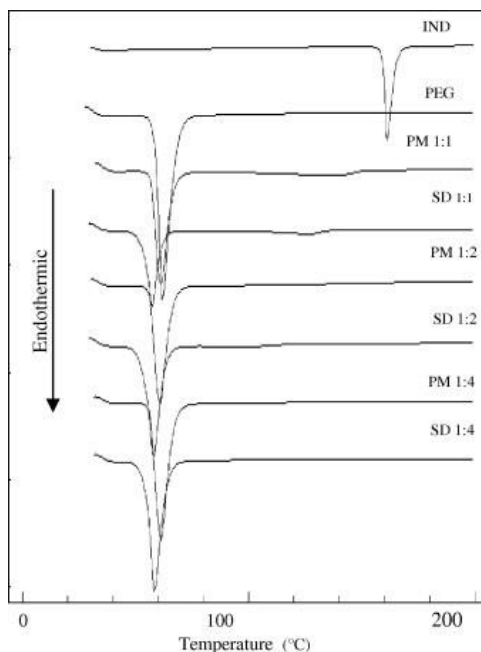


Obrázok 8 Výsledky elektrónovej mikroskopie pre systém indomethacín-PEG4000: Indomethacín (IND), PEG4000, fyzikálna zmes (PM), tuhá disperzia v pomere 1:4 (SD)³⁴



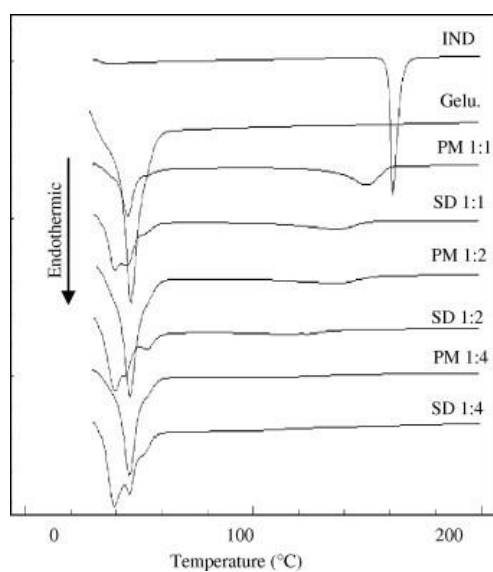
Obrázok 9 Výsledky elektrónovej mikroskopie pre systém indomethacín-gelucire: indomethacín (IND), Gelucire 50/13, fyzikálna zmes (PM), tuhá disperzia v pomere 1:4 (SD)³⁶

Ďalšou metódou stanovenia bola diferenciálna skenovacia kalorimetria (DSC). Teplota topenia indomethacínu bola zaznamenaná pri 161,26 °C a PEG mal endotermný pík pri teplote 61,8 °C. Endotermný pík pre PM sa objavil pri teplote 136,1 °C a pri meraní SD sa endotermný pík objavil pri teplote 115,52 °C. Pri vyšších pomeroch vykazovali tepelné profily oboch nosičov jeden endotermný pík zodpovedajúci fúzii nosiča. Výsledky naznačujú, že indomethacín sa úplne rozpustí v polyméri. Výsledky sú graficky znázornené na obrázku 10.³⁶



Obrázok 10 Termogram pre IND a PEG a ich odlišné systémy pripravené v rôznych pomeroch PM a SD³⁶

Na obrázku 11 sú znázornené termogramy indomethacínu a gelucire 50/13 a ich PM a SD. Endotermný pík pre gelucire sa objavil pri 46,66 °C. V prípade PM v pomere 1:1 bol pík INDO zaznamenaný pri teplote 150,72 °C, v pomere 1:2 mal hodnotu 135,85 °C a v pomere 1:4 pík úplne zmizol. V systéme SD v pomere 1:1 sa pík indomethacínu objavil pri teplote 135,83 °C a v pomere 1:2 a 1:4 úplne zmizol.³⁶



Obrázok 11 Termogram pre IND a Gelu a ich odlišné systémy pripravené v rôznych pomeroch PM a SD³⁶

Rozdiely v tepelnom správaní indomethacínu vo formách PM a SD ukázali, že kryštalicita liečiva sa znížila pri forme SD a toto zníženie bolo závislé od pomeru polyméru. V prípade PM (1:1,1:2) množstvo roztaveného polyméru nestačilo na rozpustenie kryštálov indomethacínu kvôli jeho prítomnosti vo vysokom množstve. Zvýšenie množstva polyméru v pomere 1:4 sa stalo dostatočným na rozpustenie liečiva. Výsledky diferencielnej skenovacej kalorimetrie ukázali pokles kryštalicity indomethacínu v prítomnosti vyššieho množstva gelucire.³⁶

Indomethacín s pKa 4,5 sa považuje za prakticky nerozpustné liečivo v simulovanej žalúdočnej tekutine (pH 1,2) a mierne rozpustný v simulovanej črevnej tekutine (pH 7,4). Vo fosfátovom pufry (pH 7,4) sa rozpustnosť indomethacínu výrazne zvýšila v prítomnosti PEG a Gelucire. Vo všeobecnosti bol nárast rozpustnosti indomethacínu vyšší pri forme SD ako pri PM. Ukázalo sa, že PEG4000 má vyšší solubilizačný účinok ako gelucire 50/13. Výsledky potvrdili, že rozsah narušenia kryštalicity indomethacínu pomocou PEG4000 bol vyšší ako rozsah geluciru. Výsledky meraní znázorňuje nasledujúci obrázok 12.³⁶

System type	Ratio	IND-PEG4000				IND-Gelu. 50/13			
		Thermal parameters				Thermal parameters			
		Onset temperature (°C)	Peak temperature (°C)	Heat of fusion (J/g)	Solubility ^a (mg/ml)	Onset temperature (°C)	Peak temperature (°C)	Heat of fusion (J/g)	Solubility (mg/ml)
IND	1:0	151.24	161.26	-50.7	0.223				
PEG	0:1	56.43	61.82	-160					
Gelu.	0:1					37.05	46.56	-150	-
PM	1:1	128.92	136.61	-5.2	0.297	137.19	150.72	-50.4	0.280
	1:2	-	-	-	0.367	123.01	135.85	-15.6	0.317
	1:4	-	-	-	0.401	-	-	-	0.354
SD	1:1	126.82	115.52	-7.2	0.611	119.3	135.83	-22.8	0.528
	1:2	-	-	-	0.764	-	-	-	0.617
	1:4	-	-	-	0.974	-	-	-	0.739

Obrázok 12 Rozpustnosť a termálne parametre indomethacínu a jeho systémov³⁶

Záver

Málo rozpustné liečivá tvoria viac ako polovicu súčasných liečiv. Vďaka tomu sa stretávame s veľkou iniciatívou na zvýšenie ich rozpustnosti, čo má za následok zlepšenie biodostupnosti. Cieľom tejto práce je charakterizácia všeobecných metód zvýšenia rozpustnosti málo rozpustných liečiv. Táto práca je zameraná na opis fyzikálnych (mikronizácia, nanosuspenzie, kokryštály, polymorfy), ako aj chemických modifikácií (soli a rozpustné prekurzory) liečiva vedúceho k zvýšeniu jeho rozpustnosti.

Ďalej sa táto práca venovala špecifickým chemickým látkam a polymérom, ktoré potencióálne zvyšujú rozpustnosť modelového liečiva indomethacínu. V tejto bakalárskej práci sú popísané látky: Kollidon V64 extrudát, Gelucire 50/13 a PEG4000 a hydrolyzát kazeínu.

Hoci vývoj nových liečiv sa stretáva s problémami rozpustnosti, existuje mnoho metód úpravy liečivých látok, ktoré optimalizujú ich rozpustnosť. Predpokladá sa zdokonaľovanie súčasných a vývoj nových techník na zvýšenie rozpustnosti liečiv.

Bibliografia

1. JINAL, N.Patel,DHARMENDRA, M.Rathod, NIRAV, A.Patel, MOIN K. Modasiya,Techniques to improve the solubility of poorly soluble drugs, International Journal od Pharmacy and Life Sciences, 2012, 3(2), 1459-1469
2. RAZEI,Homa,JOUYBAN,Abolghasen,BARZEGAR-JALALI,Mohammad,MARTINEZ,Fleming,RAHIMPOUR,Elaheh, Solubility of lamotrigine in 2-propanol + water mixtures at T= (293,2 to 313,2) K, *Journal of Molecular Liquids*, **2019**,278 (15),592-599
3. KHADKA,Prakash, RO,Jieun, KIM,Hylongmin, KIM,Iksoo, KIM,Jeong Tae,KIM,Hyunil, CHO, Jae Min, YUN,Gyial,LEE, Jaehwi, Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solobility, dissolution and bioavailability, *Asian Journal of pharmaceutical sciences*, **2014**, 9, 304-316
4. MZSR,Slovenský liekopis, **2005**, 1.vyd.,zvázok 1, 1.3. články,s.23
5. KETAN T., SAVJNI, A. K., Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques , *Institute of Pharmacy, Nirma University, India*, **2012**, Arcticle ID 195727
6. SOU,Tomás,BERGSTRÖM,Christel A.S., Automated assays for thermodynamic (equilibrium) solubility determination, *Drug Discover Today: Technologies*, **2018**,27, 11-19
7. SAPOUNDIJIEV,Dragomir,LORENZ,Heike,SEIDEL-MORGENSTERN,Andreas, Determinination of solubility data by means of calorimetry,*Thermochimica acta*, **2005**, 436(1-2), 1-9
8. PAUS,R.,PRUDIC,A.,JI,Y., Influence of excipients on solubility and dissolution of pharmaceuticals, *International Journal of Pharmaceutics*,**2015**,485(1-2), 277-287

9. HAUSS, D. J., *Lipid-Based Self-Emulsifying Solid Dispersions, in: Oral Lipid-Based Formulations, Enhancing the Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs: CRC Press. New York: CRC Press, 2007. ISBN 9780824729455*

10. OKÁČOVÁ, Ladislava, VETCHÝ, David, FRANC, Aleš, RABIŠKOVÁ, Miloslava, KRATOCHVÍL, Bohumil, *Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek a jejich modifikací, Chemické Listy, 2010, 104, 21-26*

11. LIPINSKI, Christopher Andrew, FRANCO LOMBARDO, Beryl W. DOMINY a Paul J. FEENEY. *Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. Advanced Drug Delivery Reviews. 1997, 23(1-3), 3-25*

12. WU, Chi-Yuan, BENET, L., COSTUDIO, J.M., *Predicting drug disposition, absorption/elimination/transporter interplay and the role of food on drug absorption, Advanced drug delivery reviews, 60(6), 2008, 717-733*

13. HÖRTER, D., DRESSMAN, J.B., *Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. Advanced drug delivery reviews. 2001, 46(1-3), 75-87.*

14. KAWABATA, Y., WADA, K., NAKATANI, M., YAMADA, S., ONOUE, S., *Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. International Journal of Pharmaceutics. 2011, 420(1), 1-10*

15. ŠUKL [online]. ©2019 [27.05.2019]. Dostupné z https://www.sukl.sk/hlavna-stranka/slovenska-verzia/pomocne-stranky/detail-lieku?page_id=386&lie_id=05871

16. Indomethacín. The Merck Index* online [online]. Whitehouse Station (New Jersey): Royal Society of Chemistry, ©2019. Last Revised 2013. [cit. 27. 5. 2019]. Dostupné z: <https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/m6279/indomethacin?q=authorize>
17. LEUNER, Christian, DRESSMAN, Jennifer, Improve drug solubility for oral delivery using solid dispersions, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2000**, 50, 47-60
18. JOSHI, J.T., A Review on Micronization Techniques. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, **2011**, 3, 651-681
19. KAMBLE, V.A, JAGDAL, D.M., KADAM, V.J, Nanosuspension a novel drug delivery system, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **2010**, 1, 352-360
20. PUDIPEDDI, M., SERAJUDDIN, A., Trends in solubility of polymorphs, *Journal of Pharmaceutical Science*, **2005**, 94(5), 929-939
21. VISHWESHWAR, Peddy, McMAHON, Jennifer A., BIS, Joanna A., ZAWOROTKO, Michael J., Pharmaceutical Co-Crystals, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2006**, 95(3), 499-516
22. SHAIKH, Rahamatullah, SINGH, Ravendra, WALKER, Gavin M., CROKER, Denise M., Pharmaceutical Cocrystal drug products: An outlook on product development, *Trend in Pharmacological Sciences*, **2018**, 39 (12), 1033-1048
23. RODRIGUEZ-ALLER, M., GUILLARME, D., VEUTHEY, J.V., GURNY, R., Strategies for formulating and delivering poorly water-soluble drugs, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **2015**, 30(1), 342-351
24. STELLA, V.J., Prodrugs: Some Thoughts and Current Issues, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2010**, 99(12), 4755-65

25. AVDEEF, Alex, Solubility of sparingly-soluble ionizable drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **2007**, 59(7), 568-590
26. LI S, He H., PARTHIBAN, J.L, YIN, H, IV-IVC considerations in the development of immediate-release oral dosage form, *Journal of Pharmaceutical Science*, **2005**, 94(7), 1396-1417
27. GRECO,K.,BOGNER,R., Crystallization of Amorphous Indomethacin during Dissolution: Effect of Processing and Annealing, *Molecular Pharmaceutics*,**2010**, 7,1406-1408
28. VASCONCELOS,Teófilo,SARMENTO,Bruno,COSTA,Paulo,Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs, *Drug Discovery Today*, **2007**, 12 (23124). 1068-1075
29. OKÁČOVÁ,Ladislava,VETCHÝ,David,FRANC,Aleš,RABIŠKOVÁ,Miloslava, Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek technologickými postupy usnadňujícími jejich rozpuštění, *Chemické Listy*,**2011**, 34-40
30. KOFI,Asare -Addo, ALSHAFIEE, Maen, WALTON, Karl,WARD,Adam,TOTEA,Ana-Maria, TAMERI,Sadof, MAWLA, Nihad, ADEBISI,Adeola O., ELAWAD, Sheima,DIZA, Chantel, TIMMINS,Peter, CONWAY,Barbara R., Effect of preparation methods on the surface properties and UV imaging of indomethacin solid dispersions, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*,**2019**,137,148-163
31. DVORÁČKOVÁ,K.,BAUTZOVÁ,T.,RABIŠKOVÁ,M., Disoluční studie v hodnocení perorálních léků s řízeným uvolňováním léčiva, *Chemické Listy*, **2011**,105, 50-54
32. JIRÁSKOVÁ,J, et.al.,Aplikační možnosti disoluční metody s průtokovou celou, *Chemické Listy*,**2015**, 109, 34-40

33. VRANÍKOVÁ,B.,FRANC,A.,GAJDZIOK,J.,VETCHÝ,D.,Biorelevantné disolučné media simulujúce podmienky tráviaceho traktu, *Chemické listy*, **2016**, 110, 126-132
34. INADA,Asula,OSHIMA,Tatsuya,TAKAHASHI,Hiromi,BABA,Yoshinari ,Enhancemet of water solubility of indomethacin by complexation with protein hydrolysate, *International Journal of Pharmaceutics*, **2013**,453,587-593
35. TRES,F.,TREACHER,K.,BOOTH,J.,HUGHES,L.P.,WREN,S.AC.,AYLOTT,J.W.BURLEY,J.C., Indomethacin-Kollidon VA64 Extrudates: A Mechanistic Study of pH Dependent Controlled Release, *Molecular Pharmaceutics*, **2016**, 13, 1166-1175
36. EL-BADRY,M.,FETIH,G.,FATHY,M., Improvement of solubility and dissolution rate of indomethacin by solid dispersions in Gelucire 50/13 and PEG4000, *Saudi Pharmaceutical Journal*, **2009**,17