

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Disoluční studie matricových tablet s indometacinem

Jana Macháčková

Bakalářská práce

2019

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

Jméno a příjmení: **Jana Macháčková**
Osobní číslo: **C16098**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Disoluční studie matricových tablet s indometacinem**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

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

1. Vypracujte stručnou literární rešerši na téma: indometacin v pevných lékových formách.
2. Připravte matricové tablety s obsahem výše uvedené málo rozpustné účinné látky.
3. Proveďte disoluční zkoušku připravených tablet v disolučním médiu o pH 6,8 a 7,2.
4. Na základě experimentálních dat zhodnoťte vliv disolučního média a vliv míchání na rychlost uvolňování indometacinu.
5. Výsledky zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Václav Lochař, Ph.D.**
Katedra fyzikální chemie

Datum zadání bakalářské práce: **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.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 29. 6. 2019

Jana Macháčková

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala Ing. Václavu Lochařovi, Ph.D. za odborné rady, čas a trpělivost, kterou vložil do vedení mé práce. Velké poděkování patří rovněž všem, kteří mi neváhali poradit a někdy i podat pomocnou ruku při vypracování experimentální části práce, i blízkým a přátelům, kteří mi byli oporou po celou dobu studia.

ANOTACE

Práce zahrnuje krátkou rešerši zaměřenou na indometacin v pevných lékových formách a experiment zkoumající chování matricových tablet s obsahem této účinné látky při disolučních zkouškách. Zaměřuje se na vliv podmínek, jmenovitě pH a intenzity míchání, na množství uvolněné účinné látky v závislosti na čase.

Matricové tablety připravené přímým lisováním byly podrobeny disolučnímu testu pádlovou metodou při 75 ot/min, 100 ot/min a 125 ot/min za konstantní teploty 37 °C v fosforečnanových disolučních médiích o pH 6,8 a 7,2. Množství uvolněné látky bylo stanovováno spektrofotometricky a vyhodnoceno ve formě disolučních křivek.

KLÍČOVÁ SLOVA

Indometacin, matricové tablety, disoluční test, fosfátové pufry, UV/VIS spektroskopie

TITLE

Dissolution study of indomethacin matrix tablets

ANNOTATION

This thesis includes short research on indomethacin in solid dosage forms and experimental part investigating behaviour of matrix tablets containing this active substance by dissolution testing. It focuses on the effect of dissolution parameters, namely pH and agitation on the amount of active ingredient released at time.

Matrix tablets prepared by direct compression were studied by dissolution testing using paddle method by agitation speeds of 75 rpm, 100 rpm and 125 rpm at constant temperature 37°C in phosphate dissolution buffers pH 6,8 and 7,2. Amount of substance released has been detected by spectrophotometry. Dissolution profiles were compared.

KEYWORDS

Indomethacin, matrix tablets, dissolution testing, phosphate buffers, UV/VIS spectroscopy.

Obsah

Poděkování	5
Seznam ilustrací	10
Seznam tabulek	10
Seznam grafů.....	11
Seznam použitých symbolů a zkratk	11
Úvod.....	12
1. Teoretická část	14
1.1. Indometacin	14
1.1.1. Syntéza	15
1.1.2. Mechanismus účinku.....	16
1.1.3. Vybrané vlastnosti ovlivňující chování indometacinu v organismu	17
1.2. Pevné lékové formy.....	20
1.2.1. Dělení pevných lékových forem.....	21
1.2.2. Tablety.....	21
1.2.3. Tobolky	23
1.2.4. Čípky	24
1.2.5. Chování pevných lékových forem v organismu.....	25
1.2.6. Faktory podílející se na vlastnostech pevných lékových forem.....	25
1.2.7. Modifikace pevných lékových forem.....	27
1.3. Disoluční test.....	27
1.3.1. Metody.....	28
1.3.2. Disoluční média.....	29
1.3.3. Odběr a analýza vzorků.....	31
1.3.4. Vyhodnocení	33
2. Experimentální část.....	34
2.1. Laboratorní technika (vybavení)	34

2.2.	Chemikálie.....	35
2.3.	Software.....	35
2.4.	Provedení disolučních testů.....	35
2.5.	Složení a příprava matricových tablet	37
2.6.	Disoluční média.....	38
3.	Výsledky	39
3.1.	Naměřená data.....	39
3.2.	Disoluční studie pH 6,8	47
3.3.	Disoluční studie pH 7,2	49
3.4.	Disoluční studie při 75 otáčkách	51
3.5.	Disoluční studie při 100 otáčkách	52
3.6.	Disoluční studie při 125 otáčkách	53
4.	Diskuze.....	54
5.	Závěr	61
	Seznam použité literatury.....	62

Seznam ilustrací

Obrázek 1 - Strukturní vzorec indometacinu	14
Obrázek 2 - Reakční schéma syntézy indometacinu I	15
Obrázek 3 - Reakční schéma syntézy indometacinu II	16
Obrázek 4 - Uvolňování účinné látky z matricové tablety s nerozpustným matricovým základem	23
Obrázek 5 - Disoluční aparatura Sotax Smart AT7	34
Obrázek 6 - Matricová tableta v disolučním médiu - pádélková metoda	36
Obrázek 7 - Lisované matricové tablety před disolučním testováním.....	38
Obrázek 8 - Tableta po ukončení disolučního testu pH 6,8 (75 ot/min)	56
Obrázek 9 - Tableta po ukončení disolučního testu pH 6,8 (100 ot/min)	56
Obrázek 10 - Průběh disolučního testu v médiu pH= 7,2 (75 ot/min).....	59

Seznam tabulek

Tabulka 1 – Lékové formy s obsahem indometacinu	12
Tabulka 2 - Zařazení látek v biofarmaceutickém klasifikačním systému.....	17
Tabulka 3 - Působení jednotlivých významných pasáží trávicího traktu na léčivo ...	19
Tabulka 4 - Složení matricových tablet s účinnou látkou	37
Tabulka 5 - Složení blankových tablet.....	37
Tabulka 6 - Složení disolučních médií.....	38
Tabulka 7 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 6,8 při 75 ot/min.....	41
Tabulka 8 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 6,8 při 100 ot/min....	42
Tabulka 9 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 6,8 při 125 ot/min....	43
Tabulka 10 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 7,2 při 75 ot/min....	44
Tabulka 11 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 7,2 při 100 ot/min..	45
Tabulka 12 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 7,2 při 125 ot/min..	46
Tabulka 13 - Celkové množství uvolněné látky v čase 24 hodin.....	56
Tabulka 14 – Střední disoluční časy	57

Seznam grafů

Graf 1 - Disoluční profil pH 6,8 (75 ot/min) - dílčí měření	47
Graf 2 - Disoluční profil pH 6,8 (100 ot/min) - dílčí měření	48
Graf 3 - Disoluční profil pH 6,8 (125 ot/min) - dílčí měření	48
Graf 4 – Disoluční profil pH 7,2 (75 ot/min) - dílčí měření	49
Graf 5 - Disoluční profil pH 7,2 (100 ot/min) - dílčí měření	50
Graf 6 - Disoluční profil pH 7,2 (125 ot/min) - dílčí měření	50
Graf 7 - Porovnání vlivu pH na uvolňování indometacinu při 75 ot/min	51
Graf 8 - Porovnání vlivu pH na uvolňování indometacinu při 100 ot/min	52
Graf 9 - Porovnání vlivu pH na uvolňování indometacinu při 125 ot/min	53
Graf 10 - Časový profil uvolňování indometacinu při pH 6,8	55
Graf 11 - Časový profil uvolňování indometacinu při pH 7,2	55
Graf 12 - Množství uvolněné látky po 24 hodinách.....	57
Graf 13 – Střední disoluční čas IND ve fosfátovém pufru pH = 6,8	58
Graf 14 - Střední disoluční čas IND ve fosfátovém pufru pH = 7,2	58

Seznam použitých symbolů a zkratek

COX – cyklooxygenáza

GIT – gastrointestinální trakt

HPLC - vysokoúčinná kapalinová chromatografie

IND – indometacin

P – rozdělovací koeficient mezi vodou a nepolární fází

t_{50} – střední disoluční čas

Úvod

Indometacin byl do klinické praxe zaveden primárně k terapii revmatických onemocnění již v roce 1963. Postupem času našel uplatnění také jako nenarkotické analgetikum, antipyretikum, antidiaroidikum, tokolytikum a při léčbě opožděného uzavírání ductus arteriosus u předčasně narozených dětí.^[1, 2, 3, 4] Ve farmakologických studiích nesteroidních antiflogistik je využíván jako srovnávací látka.^[1] Jako modelové léčivo je volen i pro studie zabývající se chováním málo rozpustných léčiv.

Napříč široké škále možných uplatnění je indometacin v důsledku zjištěných nežádoucích účinků a kontraindikací dnes v klinické praxi často nahrazován jinými bezpečnějšími léčivy.^[3] Zároveň jsou studovány i nové možnosti jeho využití v klinické praxi (například v terapii nádorových onemocnění). Za účelem pohodlnější a bezpečnější aplikace indometacinu ve stávajících indikacích se vyvíjí nové lékové formy, s cílem maximalizovat terapeutickou účinnost a minimalizovat rizika spojená s jeho užíváním.

Perorální aplikace indometacinu je spíše výjimečná. Často se podává zevně. Jako účinná látka je obsažen například v mastech nebo gelech určených k potlačení bolestí různého původu.^[1] Ve formě roztoku se indometacin aplikuje lokálně do oka při chirurgických zákrocích v oblasti přední oční komory a k tišení pooperačních bolestí po odstranění části rohovky.^[5] Injekční roztok se využívá v oblasti porodnictví. Přehled dostupných lékových forem s obsahem indometacinu je shrnut v tabulce 1.

Tabulka 1 – Lékové formy s obsahem indometacinu

Léková forma	Dávka	Aplikace
Gel	10 mg/1 g	Dermální
Koží sprej, roztok	8 mg/ 1 ml	Dermální
Injekce, lyofilizovaný prášek pro přípravu roztoků		Intravenózní
Oční kapky, roztok	1 mg/ 1 ml	Oční
Tobolky	50 mg /25 mg	Orální
Tobolky s prodlouženým uvolňováním	75 mg	Orální
Čípky	100 mg/ 50 mg	Rektální

**Lékové formy dostupné na českém trhu jsou označeny šedě*

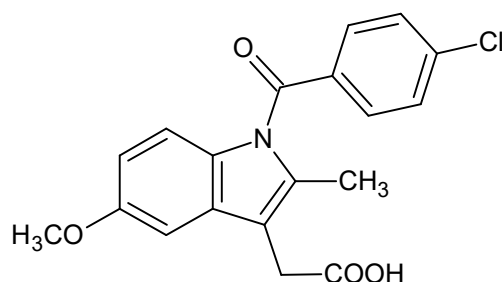
Z uvedeného přehledu je patrné, že na českém trhu není v současné době žádný preparát formulovaný pro orální podání.^[5] Na globálním trhu se setkáváme s pevnými lékovými formami určenými pro orální aplikaci, nicméně nejsou mezi nimi žádné tablety. Běžně se jedná o preparáty ve formě tobolek (kapslí).

Cílem této práce je studium chování matricových tablet s obsahem indometacinu v podmínkách simulujících prostředí trávicího traktu (in vitro). Zaměřuje se na posouzení vlivu pH a motility trávicího traktu na uvolňování indometacinu z lisované matricové tablety a jeho rozpouštění v roztocích simulujících fyziologické tělní tekutiny. Studium mechanismů uvolňování indometacinu z matricové tablety daného složení a rozpuštění zmíněné málo rozpustné účinné látky v prostředí střevních šťáv (pH 6,8 a 7,2) zahrnuté v této práci, může přispět k optimalizaci stávajících lékových forem obsahujících málo rozpustné účinné látky.

Získaná data mohou být použita také jako podklady pro vyvíjení nových technologických postupů ve formulaci orálně aplikovaných pevných lékových forem pro farmaceuticky aktivní látky s nízkou rozpustností ve fyziologických tělních tekutinách (například formulaci matricových tablet metodou 3D tisku).

1. Teoretická část

1.1. Indometacin



Obrázek 1 - Strukturní vzorec indometacinu

Indometacin, chemickým názvem [1-(4-chlorbenzoyl)-5-methoxy-2-methylindol-3-yl]octová kyselina^[1], je běžný jako bílá až mírně nažloutlá krystalická látka s teplotou tání v rozmezí 158-162 °C (v závislosti na krystalové struktuře nebo poměru zastoupení jednotlivých krystalových forem).^[6] Výrazně odlišnou teplotu tání vykazuje amorfní forma indometacinu (55 – 57 °C), která se liší i v dalších vlastnostech majících souvislost s tvarem krystalů.^[7]

Charakteristickou vlastností indometacinu je špatná rozpustnost ve vodě. Je mírně rozpustný v methanolu a chloroformu a vykazuje dobrou rozpustnost v ethanolu a acetonu. Indometacin je stálý v neutrálním a slabě kyselém prostředí, nicméně působením silných alkálií se rozkládá^[6] za vzniku 5-methoxy-2-methyl-3-indolooctové kyseliny a kyseliny p-chlorbenzoové.^[7]

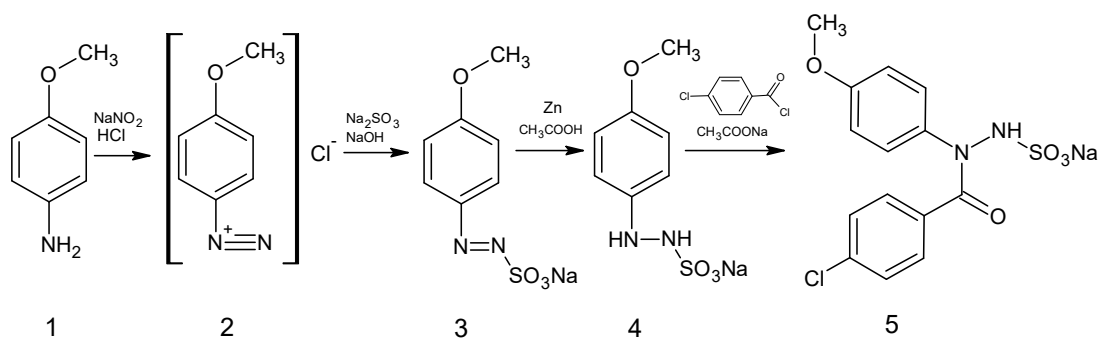
Přestože nachází širší uplatnění, obvykle se řadí k nesteroidním protizánětlivým látkám, konkrétně ke skupině nesteroidních antiflogistik odvozených od indolu. Charakteristickým strukturním znakem celé této skupiny farmaceuticky aktivních indolových derivátů je substituce v poloze 3 vedoucí ke kyselině indolooctové. Na farmakologický účinek má zásadní vliv substituce na dusíku indolového kruhu. Maximální účinnost vykazují benzyl a benzoyl deriváty se zavedenou chloridovou, případně fluoridovou nebo trifluoromethylenovou skupinou v poloze 4.^[6]

Pro řadu vedlejších účinků, které indometacin vykazuje zejména při perorální aplikaci, není dnes u nás v klinické praxi příliš běžný. Nachází uplatnění jako srovnávací látka při studiích nesteroidních antiflogistik^[1] a jako modelové léčivo s malou rozpustností ve vodném prostředí.

1.1.1. Syntéza

Existuje mnoho způsobů syntézy indometacinu. Zpravidla zahrnují poměrně velký počet stupňů a liší se použitými činidly, souhrnným výtěžkem i reakčními podmínkami. Mnoho metod vychází z 4-methoxyanilinu a 4-chlorbenzoylchloridu a důležitým krokem všech syntetických postupů je tvorba indolového kruhu. Některé postupy se liší jen v pořadí vytvoření indolového skeletu a zavedení skupiny kyseliny octové.^[1,6]

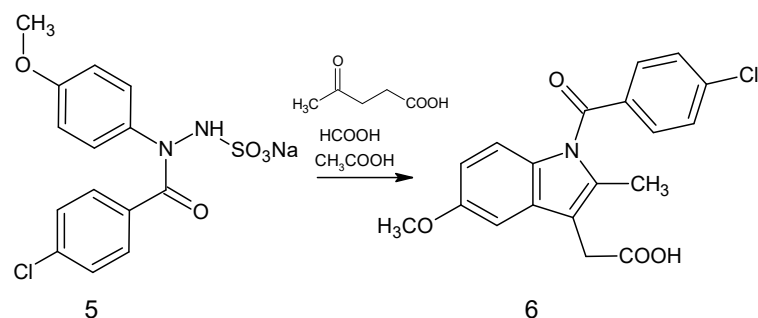
Syntéza znázorněná v reakčním schématu v obrázcích 2 a 3 reprezentuje jeden z novějších syntetických postupů. 4-chlormethoxyanilin (1) je v prvním kroku diazotován působením směsi dusitanu s nadbytkem kyseliny chlorovodíkové za vzniku příslušné diazoniové soli (2). Produkt reakce je konverzí převeden na 4-methoxybenzodiazosulfonát sodný (3), který je ve třetím kroku redukován práškovým zinkem v prostředí kyseliny octové za vzniku 2-(4-methoxyfenyl)-1-hydrazosulfonátu sodného (4). Takto je docíleno ochrany na jednom z atomů dusíku. Posledním krokem předcházejícím vytvoření indolového kruhu je benzoylace, která díky zavedené chránicí skupině probíhá selektivně na nechráněném atomu dusíku za vzniku 2-(4-chlorbenzoyl)-2-(4-methoxyfenyl)-1-hydrazosulfonátu sodného (5).^[8]



Obrázek 2 - Reakční schéma syntézy indometacinu I

Vytvoření indolového kruhu je obvykle dosaženo zařazením Fischerovy syntézy. V reakčním schématu v obrázku 3 je uvedena jedna z možných modifikací této metody zahrnující reakci arylhydrazonu (5) získaného ve čtvrtém kroku prezentované syntézy (Obrázek 2) s kyselinou levulovou v přítomnosti kyseliny mravenčí. Tato kyselina má funkci kyselého katalyzátoru zajišťujícího odstranění sulfonátové ochrany. V jiných syntetických postupech se běžně užívá například

kyselina sírová, chlorovodíková nebo fosforečná. U těchto metod ovšem vzniká vedle indometacinu i deacylovaný produkt.^[8]



Obrázek 3 - Reakční schéma syntézy indometacinu II

1.1.2. Mechanismus účinku

Mechanismus působení nesteroidních antiflogistik v organismu spočívá v inhibici enzymu cyklooxygenázy (COX). COX se podílí na přeměně kyseliny arachidonové na tromboxany a prostanoidy, mediátory zánětlivé odpovědi organismu. Indometacin patří mezi velmi silné inhibitory obou forem tohoto enzymu, které nesou označení COX-1 a COX-2.^[2, 9] COX-1 je v organismu hojně přítomna stále a má nezastupitelnou funkci v řízení rozličných procesů běžně probíhajících v organismu. Její izoenzym COX-2 vzniká jako odpověď na zánětlivý proces nebo imunitní děj.^[4] Indometacin inhibuje obě formy COX neselektivně. Působí snížení proliferace T a B lymfocitů, ovlivňuje migraci polymorfonukleárů a inhibuje fosfolipázu A a C.^[4]

Antiflogistické a analgetické působení je výsledkem inhibice COX-2. Inhibice syntézy prostaglandinů uvedeným izoenzymem vede ke snížení citlivosti nociceptorů na chemické mediátory,^[9] a zároveň k snížení zánětlivé odezvy organismu. Antipyretické působení je pravděpodobně důsledkem vasodilatačního působení indometacinu na kožní cévy. Indometacin snižuje teplotu pouze u horečnatých stavů, na přirozenou fyziologickou teplotu nemá vliv.^[9] Vasokonstrikční působení prostaglandinů, které inhibuje COX-1 má svůj význam v procesu regenerace buněk v oblasti žaludeční sliznice, kterou činí odolnou vůči působení agresivních žaludečních šťáv. Zejména u vyšších dávek indometacinu je inhibice COX-1 hlavní příčinou nežádoucích účinků tohoto léčiva na GIT. Indometacin vyvolává také pokles hladiny tromboxanu A₂. Spolu s inhibicí protektivního účinku prostaglandinů je tak žaludeční sliznice ohrožena i antitrombotickým efektem uvedené účinné látky. Eroze,

krvácení a perforace žaludeční stěny patří k závažným nežádoucím účinkům, které byly u indometacinu zjištěny.^[9]

Schopnost indometacinu inhibovat produkci prostaglandinů v děložní tkáni, a tedy i tlumit kontrakce dělohy u gravidních žen, jej předurčuje jako efektivní tokolytikum.^[2, 3] U předčasně narozených dětí lze indometacin indikovat k uzavření ductus arteriosus a předejít tak jinak nezbytnému chirurgickému zákroku.^[9] V jiných indikacích obvykle není doporučeno podávat jej dětským pacientům.

Negativně se může inhibice syntézy prostaglandinů odrazit u některých pacientů na činnosti ledvin. Podání může způsobit renální insuficienci (zvýšenou retenci Na⁺), která může vést až k hyperkalémii.^[4]

1.1.3. Vybrané vlastnosti ovlivňující chování indometacinu v organismu

Z biofarmaceutického pohledu můžeme pevné látky rozřadit do 4 skupin podle jejich rozpustnosti ve vodném prostředí a schopnosti procházet skrze biologické membrány.^[10] První a druhá skupina sdružují látky vyznačující se vyšší než 90 % absorpcí z GIT. Oproti tomu zástupci zbylých dvou skupin vykazují nižší propustnost skrze stěny GIT a do krevního řečiště jejich volná forma přechází méně ochotně. Látky nacházející se v první a třetí skupině jsou dobře rozpustné ve vodných pufrch pH 1 - 8, zatímco rozpustnost látek ve třídách dva a čtyři neumožňuje rozpuštění jejich nejvyšší dávky v 250 ml objemu vodného pufru o výše definovaném pH.^[11]

Tabulka 2 - Zařazení látek v biofarmaceutickém klasifikačním systému



V biofarmaceutickém klasifikačním systému se indometacin na základě svých fyzikálně-chemických vlastností řadí do 2. třídy zahrnující špatně rozpustné, avšak z trávicího traktu dobře vstřebatelné látky.^[3, 12] Rychlost přestupu těchto látek

do krevního oběhu je limitována jejich rozpustností, potažmo i rychlosti uvolnění účinné látky z lékové formy.^[13]

Rozpustnost sloučenin závisí mimo jiného i na jejich krystalové struktuře.^[14] Stejně jako řada jiných látek i indometacin vytváří krystaly ve více krystalových formách, které se liší rozpustností i stabilitou. Nejběžnější krystalové modifikace indometacinu jsou metastabilní α -forma a termodynamicky stabilní γ -forma.^[15, 16] Vedle nich byly popsány i další, nicméně méně stabilní formy β , δ , ϵ , ζ a η .^[15] Schopnost těchto forem přecházet v roztocích mezi sebou v závislosti na čase komplikuje stanovení jejich rozpustnosti ve vodě, i určení dalších vlastností závislých na krystalové struktuře.^[7] Největší rozpustnost ve vodném prostředí vykazuje amorfní indometacin (přibližně 26 $\mu\text{g/ml}$), který ovšem v závislosti na čase přechází na α a γ formu a rozpustnost individua klesá přibližně až k hodnotě 9 $\mu\text{g/ml}$ (při 25°C).^[7]

Propustnost léčivé látky skrz biologické membrány závisí na její lipofilitě a velikosti jejích molekul, potažmo molekulové hmotnosti. Indometacin s molekulovou hmotností 357,788 g/mol^[17] patří mezi početnou skupinu farmakologicky účinných látek s nižší molekulovou hmotností a skrze biologické membrány proniká relativně snadno.^[11] Také rozdělovací koeficient mezi vodnou a nepolární fází činí z indometacinu ($\log P = 4,17$)^[18] látku, která relativně rychle prostupuje skrze biologické membrány.

Pro slabé kyseliny, tedy i indometacin ($\text{pK}_a = 4,5$)^[17], platí, že se v kyselém prostředí žaludku ($\text{pH} = 1-1,2$) nacházejí v neionizované podobě. V této formě mohou drobné molekuly pronikat přes žaludeční sliznici a přecházet do krevního oběhu.^[14] Přesto má i pro některé látky kyselého charakteru větší význam vstřebávání z tenkého střeva ($\text{pH} = 6 - 7,5$), kde je míra jejich ionizace vyšší. Vstřebávání zde je v důsledku tohoto pomalejší, zato absorpční plocha (200 m^2)^[19] a čas setrvání léčiva v kontaktu s ní výrazně převyšují absorpční plochu v žaludku (1 m^2)^[19] i dobu kontaktu látky s žaludeční sliznicí (3-4 hod).^[14] Vedle tohoto byla u některých perorálně podávaných léčiv (včetně indometacinu) zjištěna lepší snášenlivost u preparátů podávaných v enterosolventní formě. Přinejmenším proto je účelné posuzovat chování těchto účinných látek právě v této pasáži trávicího traktu.^[20]

Tabulka 3 - Působení jednotlivých významných pasáží trávicího traktu na léčivo

Část trávicího traktu	pH	Doba setrvání (hod)
Žaludek	1 – 1,2	3 – 4
Tenké střevo	6 – 7,5	2 – 6
Tlusté střevo	6 – 6,8	6 – 70

Biologická dostupnost indometacinu při orálním podání se pohybuje kolem 98%.^[4] Maximální plazmatické koncentrace je dosaženo po 1 – 3 hodinách.^[3] V krevním oběhu se indometacin z 90 % váže na bílkoviny krevní plazmy, zejména albumin.^[4] Toto chování ovlivňuje rychlost nástupu účinku, délku působení, biotransformaci, vylučování i účinnost. Odlišnosti v chování indometacinu in vivo se mění v důsledku změn v míře navázání na tyto bílkoviny, která se s věkem pacienta mění.^[4]

Jako účinné antiflogistikum je obvykle nutné podávat indometacin 3x denně v dávkách 50-70 mg, aby bylo dosaženo kýženého účinku. Prodloužení intervalů mezi jednotlivými dávkami komplikuje krátký biologický poločas léčiva.^[4]

V organismu se skupina indolových derivátů na substituentu v poloze 3 oxiduje nebo hydrolyzuje na kyselinu octovou.^[6] Indometacin, který je derivátem kyseliny octové, podléhá hydrolytické biotransformaci na indolovém skeletu, která je charakteristická pro aminy a probíhá v jaterní tkáni.^[14] Metabolity i nezměněná účinná látka jsou vylučovány z těla močí i žlučí. U indometacinu byla sledována rozsáhlá enterohepatická cirkulace.^[4] Látka po biotransformaci vyloučená žlučí do prostředí střev je zde činností mikroorganismů pozměněna a opět reabsorbována. Množství látky v organismu se v opakujícím se cyklu pozvolna snižuje, než dojde k definitivnímu vyloučení z organismu.^[9]

1.2. Pevné lékové formy

Léková forma je výsledkem zpracování účinné látky spolu s pomocnými látkami. Je upravena tak, aby svými vlastnostmi vyhovovala místu podání a zajistila požadovanou farmaceutickou dostupnost účinné látky.^[9]

Při dělení lékových forem lze vycházet z různých kritérií. Preparáty je možné členit podle skupenství, způsobu podání nebo míry řízení uvolňování v nich obsažené účinné látky v organismu. Jednotlivé lékové formy charakterizuje předpis zahrnutý v lékopise.^[10]

Mezi nejčastěji podávané lékové formy patří lékové formy v pevném skupenství. Vedoucí postavení zaujímají preparáty podávané orálně, zejména tablety.^[10] Oproti lékovým formám v ostatních skupenstvích (kapalným, polotuhým a plyným) se vyznačují pohodlnou aplikací, relativně nízkými nároky na podmínky skladování i snadným a přesným dávkováním, zejména u tuhých kusových preparátů s definovaným obsahem účinné složky.^[19]

Vedle četných výhod sledujeme u perorálního podávání pevných léčiv i některé nevýhody. Nástup účinku je vlivem delší doby přechodu léčiva do místa absorpce obvykle pomalejší.^[19] U některých látek je účinek oddálen i vlivem jejich pomalého rozpouštění již uvolněné látky v tělních tekutinách. Rychlejší nástup účinku lze očekávat u léčiv absorbovaných z žaludku, zejména těch, která se v prostředí kyselých žaludečních šťáv dobře rozpouštějí a rychle přestupují do organismu. Nástup účinku lze za těchto příznivých podmínek očekávat do 30 minut.^[19] Léčiva absorbovaná v neutrálním až mírně zásaditém prostředí tenkého střeva, vykazují v době nástupu účinku závislost na rychlosti vyprazdňování žaludku. Léčivo přechází z žaludečního do střevního prostředí obvykle v rozmezí od 15 do 120 minut od podání. Tato doba je individuální a je silně ovlivněna přijatou potravou.^[19]

Podávání ve formě rektálního čípku vede k pomalejšímu vstřebávání účinné látky. Výhodou je tedy možnost takto jednorázově podat vyšší dávku účinné látky, která se může postupně vstřebávat třeba přes noc. Tato alternativa je také vhodnou náhradou perorálního podání u případů, kdy byla zjištěna špatná snášenlivost léčiva při perorální aplikaci nebo není perorální z nějakého jiného důvodu možné.^[20]

1.2.1. Dělení pevných lékových forem

Pevné lékové formy můžeme rozdělit na sypké a kusové preparáty, které pak dále dělíme do skupin podle tvaru. Jednotlivé lékové formy (např.: tablety, tobolky a čípky), jejich modifikace, stejně jako i jejich vlastnosti charakterizuje lékopis. Zároveň stanovuje i zkoušky, kterými by tyto vlastnosti měly být prověřovány.^[21]

Ve snaze zajistit optimální odezvu organismu a zároveň minimalizovat nežádoucí účinky a případně zamezit toxickému působení léčiva, jsou vyvíjeny nové lékové formy. Podle míry řízení uvolňování účinné látky můžeme preparáty rozdělit do tří skupin, generací.

U lékových forem první generace lze zvýšit farmaceutický účinek pouze vhodnou volbou místa a cesty podání, zvýšením dávek nebo zkrácením intervalů mezi nimi. Druhá generace léčiv se vyznačuje prodlouženým uvolňováním účinné látky. Plazmatická koncentrace účinné látky méně kolísá, ale nástup účinku může být vlivem pomalejšího uvolňování zpomalen. Aby byla rychleji nastolena žádoucí plazmatická koncentrace, existují i lékové formy, z nichž se ihned po podání uvolní větší, nárazová, dávka, což zajistí rychlejší dosažení optimální plazmatické koncentrace. Léčiva třetí generace se vyznačují distribucí molekul léčiva do blízkosti cílové orgánové struktury. Látka se uvolňuje přímo v místě působení.^[9] Účinek na cílový orgán je tak posílen, zatímco nežádoucí působení na další tělní struktury je omezeno.

1.2.2. Tablety

Tablety jsou mechanicky pevné, pórovité lékové formy válcovitého nebo čochkovitého tvaru. Vznikají lisováním tabletoviny v tabletovacím zařízení.^[10,22] Existují různé typy výlisků, které se liší velikostí i dalšími vlastnostmi. Jednotlivé druhy tablet charakterizuje lékopis, který dělí tablety na neobalené, obalené (potahované nebo dražé), šumivé, tablety určené pro přípravu roztoků, tablety pro přípravu disperzí, enterosolventní tablety určené pro rozpuštění až ve střevních tekutinách (odolávají kyselému prostředí, kterému jsou vystaveny v žaludku), tablety s řízeným uvolňováním a tablety působící přímo v ústní dutině.^[10, 22]

Na lisovatelnost tabletoviny má vliv pravidelnost krystalů ve směsi, velikost částic, obsah vzduchu charakterizovaný jako porozita v granulích tabletoviny, teplota tání složek i obsah vody v surovině. Nízká vlhkost způsobuje odlupování čela tablety,

vysoká má naopak za následek nalepování suroviny na matrici a píсты tabletovacího zařízení.^[10]

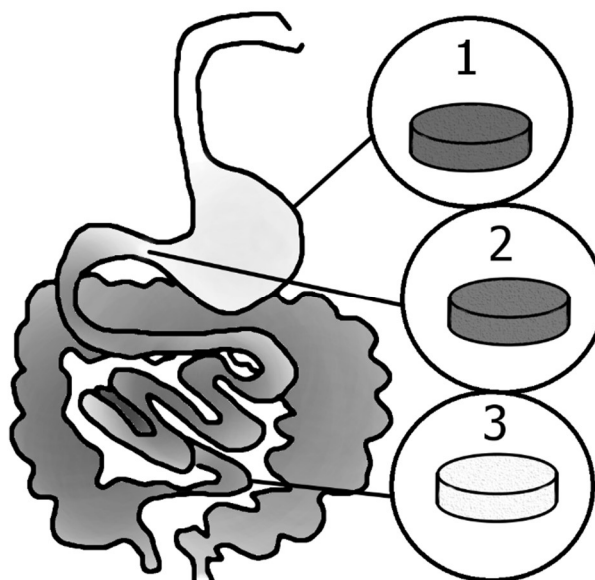
Vlastnosti tabletoviny a optimální tabletovací tlak jsou dva nezbytné faktory pro vznik dostatečně mechanicky pevných a zároveň v tělních tekutinách degradovatelných výlisků. Tablety vznikají lisováním granulátů nebo přímým lisováním sypkých prášků s pomocnými přísadami a plnivý.^[10] Tyto komponenty upravují vlastnosti tabletoviny pro technické zpracování i vlastnosti výsledných výlisků podstatné pro jejich stabilitu při uchovávání. Zároveň optimalizují podání léčiva.

Průmyslové lisování tablet probíhá na tabletovacím stroji, ve kterém je z násypky přiváděna sypká surovina do otvorů matrice, jejíž písty (razidla) stlačí materiál za vzniku výlisku. Protože tabletování v průmyslových zařízeních probíhá velkou rychlostí, vzniká při procesu i značné množství tepla. To představuje problém pro lisování tabletoviny, mezi jejímiž složkami jsou zastoupeny látky s nízkým bodem tání (méně než 75 °C). Aby nedošlo k nežádoucím přeměnám vlivem tepla, vybírají se vhodné složky tabletoviny a přidávají se k nim přísady upravující její vlastnosti pro proces lisování.^[10]

Výlisky je možné dále upravovat dražováním v bubnových mísičích nebo je opatřit tenkým ochranným filmem.^[10] V procesu dražování získají výlisky více povrchových vrstev a výsledné produkty se označují jako dražé.^[22, 23] Povrchový obal poskytne uzavřené tabletě ochranu před působením vnějších vlivů, usnadní její polykání^[23] nebo zajistí prodloužené uvolňování účinné látky v organismu. Tato úprava zároveň brání kontaktu uzavřené látky s chuťovými buňkami v ústech, což je žádoucí při podávání léčiv s nepříjemnou chutí.^[10]

Speciálním typem tablet jsou matricové tablety. Jedná se o preparáty s prodlouženým uvolňováním účinné látky.^[23] Dělí se podle charakteru nosiče, ve kterém je účinná látka dispergována, na ve vodě nerozpustné, lipofilní, hydrofilní gelové a směsné matricové výlisky. Pro optimalizaci uvolňování účinné látky mohou být i matricové tablety opatřeny obalem, včetně acidorezistentního.^[24] Léčivá látka se uvolňuje po zvlhčení matricové tablety postupně z její pevné matricové struktury. U matricových tablet s nerozpustným matricovým základem zůstává povrch tablety při průchodu GIT bez výrazné změny. Změnu ve tvaru výlisku sledujeme

u polymerních a lipofilních struktur. U matricových výlisků zhotovených z hydrofilních základů dochází ve vodném prostředí k nabobtnání polymeru, čímž se zvětší i povrch výlisku. Oproti tomu u matricových výlisků s lipofilním základem sledujeme spolu s erozí struktury i zmenšení jejího povrchu.^[24]



Obrázek 4 - Uvolňování účinné látky z matricové tablety s nerozpustným matricovým základem

1. Matricová tableta v prostředí žaludku pozvolna uvolňuje účinnou látku ze své struktury
2. Do prostředí střev přechází matrice s většinou účinné látky
3. Po průchodu tenkým střevem je většina účinné látky uvolněna z nerozpustné matricové struktury

U hotových tablet se provádí zkoušky dle lékopisu. Jedná se jmenovitě o zkoušku rozpadavosti, disoluční zkoušku a ověření obsahové a hmotnostní stejnoměrnosti.^[22] Tablety se testují také na pevnost v tlaku a oděr.^[10]

1.2.3. Tobolky

Tobolky, též známé pod označením kapsle, patří mezi tuhé lékové formy. Jejich podlouhlý tvar^[23] je dán pevným obalem, který může být naplněn pevnou i kapalnou fází.^[22]

Dělí se podle konzistence vnější stěny, na tobolky s pevným a tobolky s měkkým obalem. Obal je obvykle vyráběn z želatiny, jejíž konzistence je upravována polyhydroxysloučeninami, obvykle glycerolem nebo sorbitolem.^[10, 22] Existují i neželatinové tobolky připravované z rostlinných polysacharidů a jejich modifikací. Mezi složkami gelovité hmoty obalu tobolek mohou být zahrnuty také

stabilizující látky a látky upravující chuť a vzhled výsledného preparátu. Povrchový obal tobolky poskytuje výhodu při maskování nepříjemné chuti účinné látky uzavřené uvnitř kapsle.^[25] Stejně jako u tablet lze i u tobolek regulovat uvolňování účinné látky. Existují tobolky s prodlouženým uvolňováním (modifikovanou liberací) i tobolky enterosolventní, jejichž obal odolá působení žaludečních šťáv a zajistí uvolnění obsahu až v prostředí střev.^[10, 22]

Uvnitř tobolek může být uzavřen granulát, drobné tabletky nebo drobné částice označované jako mikroformy.^[10, 22] Tobolky s řízeným uvolňováním obsahují obvykle účinnou látku v granulátu obklopeném různě silnou vrstvou materiálu, například vosku, který se v GIT rozpouští a postupně uvolňuje účinnou látku.^[23] Tobolky mohou nabývat různých tvarů i velikostí podle potřeby a mohou být opatřeny potiskem pro správnou identifikaci.^[10, 22]

1.2.4. Čípky

Podle Českého lékopisu se čípky řadí mezi tuhé lékové formy. Obsahují jednu nebo více účinných látek rozpuštěných nebo dispergovaných v čípkovém základu. Výsledná směs se po homogenizaci zpracovává litím do forem nebo lisováním za vzniku čípku, jehož tvar a velikost jsou pro konkrétní aplikaci definovány lékopisem. Obvykle jsou čípky uzpůsobené k podání do konečníku nebo pochvy a jejich tvar je upraven s ohledem na aplikační cestu i věk pacienta. Konečnickové čípky obvykle nepřesahují hmotnost 3 g a pro dětské pacienty jsou připravovány čípky i o třetinové gramáži.^[22, 26]

Podle použitého čípkové základu rozlišujeme čípky lyofilní (lipofilní) a hydrofilní.^[26] Lipofilní základ bývá tvořen tuhým tukem, kupříkladu kakaovým olejem, zatímco hydrofilní čípkový základ je reprezentován různými gelovitými směsmi, jejichž základem může být například želatina. Podle potřeby je možné do hmoty před vlastní přípravou přidat ještě další pomocné složky. Pro lepší formulaci i zlepšení odezvy organismu na podání léčiva se přidávají rozpouštědla, látky s adsorpčními vlastnostmi, kluzné a povrchově aktivní látky, antimikrobiální látky a někdy i barviva.^[22]

1.2.5. Chování pevných lékových forem v organismu

Zatímco při orálním podání roztoků platí, že látka je okamžitě dostupná pro přestup skrze žaludeční sliznici, pevné lékové formy musejí v zažívacím traktu projít několika fázemi.^[23]

Nejprve je účinná substance uvolňována z lékové formy. Tento proces se nazývá dezintegrace (rozpad nebo otevření pevné lékové formy). Následuje proces disoluce (rozpuštění), během kterého přechází účinná látka do roztoku, odkud může být v posledním sledovaném kroku (resorpci, invazi) transportována skrze sliznici trávicího traktu do krevního řečiště.^[19, 23] Protože celý proces vedoucí k volné (absorbovatelné) látce trvá v porovnání s podáním účinné látky v roztoku poměrně dlouho, uvolněná látka sorbuje převážně ve střevě.^[23]

Uvolňování účinné látky z lékové formy lze řídit její úpravou. Tobolky a tablety s řízeným uvolňováním (retardací) se hodí pro látky, u nichž by rychlý vzestup jejich hladiny v krevním řečišti byl nežádoucí, nebo látky, které jsou z těla vylučovány příliš rychle a pro snížení frekvence v dávkování je třeba prodloužit dobu jejich setrvání v organismu.^[23]

1.2.6. Faktory podílející se na vlastnostech pevných lékových forem

Pro dosažení optimálních vlastností, zejména dobré biologické dostupnosti léčiva a snadného technologického zpracování pevné lékové formy, je třeba zohlednit různé faktory. V procesu preformulace se posuzují jednotlivé složky preparátu a porovnávají se jejich vlastnosti s alternativními komponentami.

Většina pevných složek vstupujících do výrobního procesu jsou krystalické látky s danými fyzikálně-chemickými i bio-farmaceutickými vlastnostmi, které mohou ovlivnit jejich chování během formulace a následně i při kontaktu s vnitřním prostředím organismu.^[10] Všechny tyto látky musí splňovat předepsaná kritéria zahrnutá v normách zavedených pro farmaceutickou výrobu.

Velmi důležitým faktorem, který u léčiv sledujeme, je jejich biologická dostupnost. Tento parametr definuje, jaká část dávky se dostane z lékové formy do krevního oběhu v porovnání s celkovým množstvím dávky v ní obsažené (pro absolutní biologickou dostupnost) nebo v porovnání s množstvím dávky, která se dostane do krevního řečiště z jiné lékové formy (pro relativní biologickou

dostupnost).^[11] Vedle těchto parametrů existuje i farmaceutická dostupnost, která reprezentuje podíl látky, který se uvolnil z lékové formy a je dostupný pro absorpci.^[9] Všechny uvedené typy biologické dostupnosti závisí vedle celkového množství uvolněné látky i na rychlosti s jakou k jejímu uvolňování dochází.^[11]

U jednotlivých pacientů se může biologická dostupnost lišit v závislosti na různých faktorech a ani u konkrétního jedince nezůstává v čase neměnná.^[19] Proces uvolňování látky z lékové formy skládající se ze tří fází (dezintegrace, dezagregace a disoluce) je následován farmakokinetickou fází, během které se látka absorbuje do krevního řečiště, distribuje a následně eliminuje z organismu.^[11] Na celý popsany proces mají vliv vlastnosti účinné látky a ostatních komponent obsažených v lékové formě, a zároveň i typ zvolené lékové formy a její interakce s prostředím v místě podání a absorpce.^[11]

Biologickou dostupnost je možné zvýšit úpravou účinné látky, například jejím převedením na sůl, hydrát nebo vytvořením lépe rozpustné, avšak stabilní krystalické formy dané látky, nebo vytvořením alternativního derivátu. Například, pokud je možné převedení látky na sůl, může se její rozpustnost zvýšit i o několik řádů, v důsledku čehož se zvýší i její biovyžitelnost. V současnosti se hojně využívá optimalizací léčivých přípravků, které se nabízejí v oblasti modifikací lékových forem.^[10,11]

Rozpustnost a rychlost rozpouštění složek pevných lékových forem v tělních tekutinách jsou charakteristiky natolik zásadní, že bylo zavedeno členění účinných látek do čtyř skupin podle jejich rozpustnosti a schopnosti přecházet skrze membrány. Toto členění je shrnuto v biofarmaceutickém klasifikačním systému.^[10] Zařazení látek v tomto systému je podmíněno jejich vlastnostmi, které se ovšem mohou i u jedné a téže látky lišit v závislosti na její krystalové struktuře. Problémem může být polymorfismus některých látek.^[10] Úpravou metody přípravy těchto látek lze dosáhnout přednostního vzniku krystalových struktur s optimálnějšími vlastnostmi pro dané použití, například s lepší rozpustností v tělních tekutinách.^[10] Dobrou rozpustnost vykazují amorfní látky, ty jsou ale termodynamicky méně stabilní než krystalové formy téže látky, což jejich využití limituje.^[10]

Nestabilita účinných látek v kyselém prostředí žaludku může být důvodem k ochraně lékové formy před dezintegrací v žaludku. Jako acidorezistentních

ochranných obalů se využívá vosků nebo vybraných polymerních materiálů (acetáty celulózy). Příslušné obaly uvolní svůj obsah až v tenkém střevě, aniž by při tom ovlivnily rychlost uvolňování účinné látky v této části GIT.^[23]

Při výběru komponent při preformulaci a následně i ve výsledném návrhu formulace pevné lékové formy pro orální aplikaci se zohledňují také faktory jako je strava, komedikace (podávání více léčiv současně), působení enzymů, biotransformace, chemická degradace, metabolizace, která se může u pacientů lišit v důsledku genetické výbavy či rozdílu věku, biliární exkrece a biorytmy.^[11]

1.2.7. Modifikace pevných lékových forem

S cílem zvýšit efektivitu a minimalizovat rizika spojená s podáváním léčiv, je studováno rozpouštění lékové formy v tělních tekutinách, transport jejích složek přes buněčné membrány, jejich působení na cílové orgány i metabolizace. Pro pochopení chování dílčích složek v organismu i během formulace jsou významné fyzikální vlastnosti charakteristické pro pevné látky, jako je krystalická struktura nebo teplota tání, dlouhodobá stabilita, ale i toxikologické a farmakologické vlastnosti jako jsou bezpečnost a účinnost.^[10]

1.3. Disoluční test

Disoluční test je metodou sledující uvolňování účinné látky z pevné lékové formy v předepsaném médiu v závislosti na čase.^[10, 21, 27] Těžištěm jeho významu je hodnocení kvality lékových přípravků zejména u léčiv s prodlouženým uvolňováním účinné látky a léčiv, jejichž absorpce je limitována nízkou rozpustností.^[13] Pomalé rozpouštění v tělních tekutinách u těchto látek limituje množství látky uvolněné pro absorpci a snižuje množství látky přestupující skrze biologické membrány.^[27] Disoluční testování se využívá také k predikci biologické dostupnosti účinné látky v organismu u nových i stávajících léčiv a při bioekvivalentních studiích hodnotících faktory podobnosti u generických léčiv.^[25, 27, 28]

Metoda byla shledána jako vhodný nástroj pro porovnání biologické dostupnosti dvou různých přípravků obsahujících stejnou účinnou látku i k porovnání biologické dostupnosti látky u různých lékových forem.^[27] Má tedy nezastupitelnou funkci v různých fázích vývoje nového léčiva, formulaci nových lékových forem i sledování kvality komerčních produktů, například při hodnocení doby použitelnosti

na základě sledování změn, ke kterým dochází vlivem podmínek, kterým je léčivo vystaveno při skladování.^[13]

Podmínky provedení disoluční studie vychází z cíle, který si studie stanovuje. Při standardních stanoveních v oblasti farmakologie je třeba respektovat určitá ustanovení a postupy. Protože se jedná o in vitro metodu s perspektivním uplatněním v budoucnu, mimo jiné i při nahrazení nebo alespoň určité redukci některých in vivo studií, probíhá v této oblasti poměrně dynamický vývoj zahrnující modifikace v instrumentaci i studium disolučních médií s cílem přiblížit se reálnému chování látek in vivo.

1.3.1. Metody

Instrumentace nezbytná pro provedení disoluce se odvíjí od zvolené metody. Pro disoluci pevných perorálně podávaných léků (tablety, tobolky) stanovuje lékopis celkem 4 typy přístrojů:^[27]

- S košíčkem
- S pádlem (míchadlem)
- Vratným válcem
- S průtokovou celou

Všechny uvedené přístroje patří ke statickým zařízením, ve kterých zůstává pH během disoluce konstantní. Vedle těchto konstrukčně jednodušších disolučních metod existují i metody pokročilejší, dynamické. V dynamických disolučních přístrojích se pH s časem mění ve snaze kopírovat reálný průchod léčiva trávicím traktem. Tato zařízení bývají často vícekompartmentová, složená z několika disolučních nádob o menších objemech, než jaké mají nádoby lékopisné. V systému proudí pouze jedno médium, které není během zkoušky vyměňováno, nýbrž jsou pouze v jednotlivých fázích testu upravovány jeho vlastnosti.^[29]

Ve farmacii hojně využívané statické přístroje s míchadly nebo košíčky mají obvykle význam v optimalizaci lékových formulací nebo kontrole kvality. Jejich konstrukce, kterou upravuje lékopis, neumožňuje hlubší studie predikce chování léku in vitro, protože se nedokáží dostatečně přiblížit podmínkám panujícím v GIT. Postrádají fyziologický objem, příslušnou hydrodynamiku a mají statické složení disolučního média.^[29]

S cílem přiblížit se reálnému působení GIT na perorálně podávaná léčiva vznikla řada modifikací těchto zařízení. Například modifikace přístroje s míchadlem – pádélko-kuličková metoda (Paddle-Beads Method), která simuluje působení mechanických sil v žaludku na pevnou lékovou formu, nebo model rotující kádinky (The Rotating Beaker), který přibližuje hydrodynamiku žaludku pro studování vlivu smykového napětí na pevné formy.^[29]

1.3.2. Disoluční média

Při průchodu GIT se perorálně podávané léky dostávají do kontaktu s velkým množstvím látek, které mohou ovlivnit absorpci účinné látky. Jmenovitě jde hlavně o enzymy a povrchově aktivní látky. Zcela zásadní vliv na rozpustnost a rychlost rozpouštění látek^[28] má však hodnota pH, která se s postupem léčiva trávicí trubici mění v závislosti na fyziologických vlastnostech daného orgánu i stravě, jejím množství a složení. V některých případech je vhodné při výběru vhodných disolučních médií zohlednit i externalitu v hodnotě pH v GIT způsobené například onemocněním určité skupiny pacientů.^[27]

Vytvořit co nejpřesnější simulaci zahrnující všechny faktory, které se mohou na distribuci látky z lékové formy do krevního oběhu podílet, není prakticky možné, a přestože jsou popsány disoluční metody, které zohledňují změnu pH prostředí při průchodu trávicím traktem i dobu setrvání léčiva v nich, není jejich aplikace příliš obvyklá.^[27] Lékopis zatím definuje pouze zkoušky, při kterých je léková forma podrobena disoluci pouze v médiu s konstantním pH.^[27]

K simulaci prostředí žaludku (obvykle do pH 1,6^[14]) se používá 0,1 M HCl.^[27] S přechodem léčiva z žaludku do dvanáctníku se výrazně mění pH okolního prostředí. Pankreatická šťáva vznikající ve slinivce břišní obsahující mimo jiné řadu enzymů, je zdrojem hydrogenuhličitanů, které jako přirozený pufr zvýší pH kyselého obsahu přicházejícího z žaludku a upravuje jej (pH = 7,4).^[30] Disoluční média pro neutrální oblast pH odpovídající prostředí střev (pH = 6–7,4)^[27] jsou reprezentována různými pufrů.

Použití hydrogenuhličitanového pufru pro disoluční studie je bohužel komplikované, nicméně má potenciál poskytnout biorelevantnější výsledky.

Problematika použití tohoto pufru spočívá v udržení konstantní koncentrace hydrogenuhličitanů v médiu, pro což je třeba do něho kontinuálně přivádět CO₂.^[30]

V praxi se většinou setkáváme s fosfátovými pufrů, které upraví prostředí na požadované pH a mají zároveň optimální pufrací kapacitu, nicméně jejich působení na léčivo se v některých směrech liší od pufru hydrogenuhličitanového. Odlišnosti byly popsány například ve schopnostech upravovat povrchové pH v difusní vrstvě léčiva (př.: U indometacinu není hydrogenuhličitanový pufr tak účinný jako fosforečnanový, proto je třeba použít fosforečnanový pufr o nízké koncentraci, aby jeho účinky odpovídaly přirozenému hydrogenuhličitanovému pufru.) Nižší koncentrace fosfátového pufru jsou většinou fyziologicky relevantnější.^[30]

Některé léčivé látky se mohou uvolňovat tak pomalu, že má význam studovat jejich chování i v prostředí tlustého střeva. Platí to zejména pro léčiva předurčená pro uvolnění v této části GIT. Při jejich posuzování je třeba zohlednit mírné snížení pH v porovnání s prostředím tenkého střeva, které je důsledkem činnosti přítomných mikroorganismů.^[27]

Na rozpad lékových forem, potažmo uvolňování účinné látky a rychlost jejího rozpouštění mají vliv i iontové síly v médiu^[27] a proudění generované v roztoku, které simuluje peristaltiku a celkovou motilitu trávicího traktu.^[29]

Pro studium některých lékových forem, jako jsou například želatinové kapsle (případně želatinou potažené tablety), se do média doporučuje přidávat i enzymy, které štěpí bílkovinné a případně i jiné struktury. Nejčastěji se přidávají pepsin pro média do pH 6,8 a pankreatin, který představuje komplex enzymů s různými substrátovými specifikacemi (trypsin, α -chymotrypsin, karboxypeptidáza, lipáza, amyláza,...) při pH 6,8 a vyšším.^[25] Protože konkrétní enzym vykazuje optimální enzymatickou aktivitu jen v určitém rozmezí pH, je třeba tuto skutečnost při výběru disolučního postupu zohlednit.^[25]

Pro účel některých studií se do médií přidávají také povrchově aktivní látky mající funkci solubilizačních činidel. Jejich množství je třeba zvážit s ohledem na možnou inhibici přidaných enzymů. (př. Laurylsulfát sodný snadno denaturuje enzymy). Někdy se proto tyto látky přidávají do média s určitým časovým odstupem.^[25]

Pro získání biorelevantnějších dat je nezbytné zvolit takové disoluční médium, které svými vlastnostmi co nejvěrněji kopíruje prostředí jednotlivých částí GIT. Za tímto účelem byla stanovena některá kritéria shrnutá v následujícím přehledu.^[27]

Požadavky na biorelevantní média:^[28]

- *pKa (při teplotě 37°C) v rozmezí ± 1 cílové hodnoty pH*
- *Dostatečná kapacita pufry (lze ji maximalizovat celkovou koncentrací pufry nebo výběrem pufry s $pKa = pH$)*
- *Minimální účinky iontové síly*
- *Minimální závislost pKa na teplotě a iontové síle*
- *Kompatibilita s dalšími složkami v disolučních médiích*
- *Nízká absorpce UV a VIS záření*
- *Inertnost vůči atmosférickým plynům*
- *Bezpečnost*
- *Netoxicity*

1.3.3. Odběr a analýza vzorků

Vzorky s rozpuštěnou látkou se odebírají z disoluční nádoby průběžně v předem definovaných intervalech. Odebrané objemy se zpravidla nahrazují stejným objemem čistého disolučního média o teplotě odpovídající teplotě roztoků, z nichž jsou odběry vzorků realizovány (zpravidla 37 °C). Alternativní možností je výpočtové zohlednění úbytku objemu média při vyhodnocování disolučního profilu. Nová nákladnější zařízení umožňují i odběr a vyhodnocení vzorků on-line. Odebraný vzorek je bezprostředně po odběru proměřen a posléze se celý jeho objem vrací zpět do systému a další manipulace s médiem, ani výpočtové zohlednění změny objemu, není třeba.^[27]

Pro efektivní vyhodnocení disolučního testu je nezbytná správná metoda detekce uvolněné látky. Za hlavní parametry v rozhodování platí míra selektivity, rozsah měření, možnost automatizace, účinnost, kompatibilita s disolučním médiem, ale i finanční a prostorové nároky potřebné instrumentace. Použití některých metod vylučuje přítomnost určitých enzymů a povrchově aktivních látek, které se přidávají do médií k úpravě jejich vlastností.^[31]

Analytické metody vhodné ke kvantifikaci uvolňování léčiva lze rozdělit do čtyř skupin na metody:^[31]

- Spektrofotometrické
- Chromatografické
- Hmotnostní spektrometrické
- Potenciometrické

Tradičně užívanou analytickou metodou je UV/VIS spektrofotometrie. Tato metoda je ideální pro stanovení látek, které v molekule obsahují jeden nebo více chromoforů^[31] a jejich koncentrace v odebraných vzorcích je dostatečně nízká, aby naměřené hodnoty absorbance mohly být lineárně převedeny na koncentraci (respektování LB-zákona). Ostatní metody jsou obvykle voleny jako alternativa, pokud je tato metoda shledána za nevhodnou.^[31]

Přesnost spektrofotometrických měření může narušovat přítomnost pomocných látek. (Tento problém se snaží řešit například vícesložková UV analýza zohledňující spektra jednotlivých složek.)^[31] Problém ve stanovení může nastat i u studií lékových forem s více účinnými složkami.^[31]

U přirozeně fluorescenčních sloučenin a sloučenin, u nichž je možná derivatizace za vzniku fluorescenčního individua je možné využít měření intenzity fluorescence, která je přímo úměrná koncentraci analyzovaného vzorku.^[31]

Z příbuzných spektrálních metod stojí za zmínku i metoda chemiluminiscence, která se ukázala jako vhodná pro stanovení látek s absencí chromoforu v molekule, avšak její využití je vzácné.^[31] V oblasti delších vlnových délek přicházejí v úvahu metody infračervené spektrofotometrie a Ramanova spektrofotometrie, ty ale vyžadují poměrně vysokou koncentraci analytu a nevykazují tak dobré výsledky. Infračervená spektrofotometrie nicméně našla uplatnění pro monitorování distribuce léčiva v lékové formě během disoluce.^[31]

Slibné výsledky poskytuje hmotnostní spektrometrie. Její aplikace v rutinním disolučním testování však komplikují stále poměrně vysoké finanční náklady i chybějící definované postupy pro aplikaci.^[31]

Metody potenciometrické titrace vyhovují stanovení rychlosti rozpouštění kyselých a bazických léčiv, nicméně ve srovnání s jinými metodami neposkytují dostatečně přesné výsledky.^[31]

Chromatografie a kapilární elektroforéza reprezentují skupinu metod založených na separaci analytu. Hlavními výhodami dělicích metod HPLC a kapalinové elektroforézy jsou vyšší citlivost, selektivita a širší rozsah měření.^[31]

Chromatografie umožňuje rozdělit analyt na jednotlivé složky podle jejich afinity k stacionární a mobilní fázi v chromatografické koloně. Z chromatografické kolony vystupují separované složky, které jsou detekovány vhodným detekčním zařízením, obvykle UV detektorem (příp. elektrochemickými detektory, detektory tepelné vodivosti, ...). Pro jednotlivé složky lze takto určit retenční čas, který charakterizuje každou konkrétní složku analytu, a plochu chromatografického píku, která reprezentuje jejich množství v něm zastoupené.^[31]

1.3.4. Vyhodnocení

U provedených měření je vždy třeba uvést podmínky stanovení, včetně charakterizace zařízení, v němž byla disoluce provedena, objemů disolučních médií, teploty, složení a pH disolučního média a rychlosti otáčení (případně rychlosti průtoku u zařízení s průtokovou celou). U výsledků je žádoucí uvést i podmínky průběžného sledování, metodu analýzy a kritéria vyhodnocení.^[27]

Výstupem disoluční studie je obvykle graf závislosti množství uvolněné látky z pevné lékové formy na čase. Tento disoluční profil charakterizuje in vitro chování konkrétní lékové formy s obsahem dané lékové formy v průběhu disolučního testu.

2. Experimentální část

2.1. Laboratorní technika (vybavení)

- Analytické váhy - Kern ALT 310-4AM (Kern&Sohn, Balingen, Německo)
- Předvážky Sartorius 210 (Sartorius, Německo)
- Oscilační mlýn MM 200 s mlecí nádobkou (Retsch, Haan, Německo)
- Vylisková forma, peletový lis (PIKE technologies, Madison, USA)
- Disoluční aparatura s kolektorem (Sotax Smart AT7, Pharmaceutical Testing s.r.o., Allschwil, Švýcarsko)
- Filtry Micro-flass fiber paper (Ahlstrom-Munksjö, Švédsko)
- UV/VIS spektrometr Agilent 8453, kyveta 0,5 cm (Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn, Německo)
- Odměrné sklo
- Běžné laboratorní vybavení



Obrázek 5 - Disoluční aparatura Sotax Smart AT7

2.2. Chemikálie

- Indometacin (Sigma-Aldrich)
- Prosolv SMCC90 (JRS Pharma, Rosenberg, Německo)
- Methocel K4M (Kerry)
- Stearát hořečnatý (Acro Organics, USA)
- Hydroxid sodný p.a. (Lach-Ner, Neratovice, Česká republika)
- Dihydrogenfosforečnan draselný p.a. (Lach-Ner, Neratovice, Česká republika)
- Destilovaná voda
- Redestilovaná voda

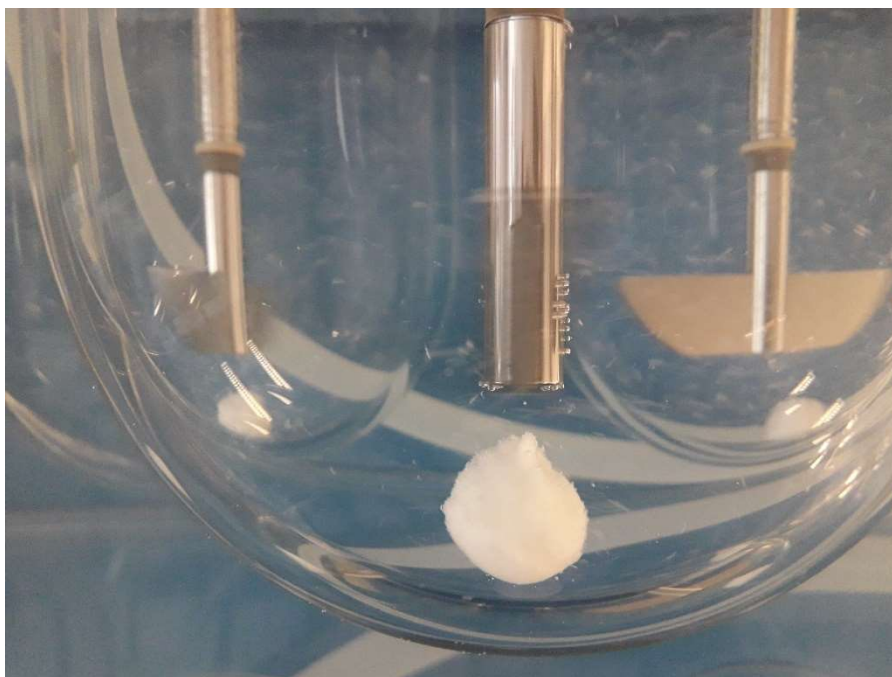
2.3. Software

- UV - Visible ChemStation (Agilent Technologies 95,02)
- ChemSketch (ACD/Labs)
- Microsoft Office 365
- Zoner Photo Studio 17

2.4. Provedení disolučních testů

Celkem bylo provedeno šest disolučních testů, přičemž každé testování zahrnovalo disoluci tří matricových tablet s obsahem účinné látky o stejném složení a jednu tabletu bez účinné látky (blank). Jednotlivé testy se lišily pouze v pH použitého média a intenzitě míchání. Tři měření byla provedena při pH 6,8 a tři měření při pH 7,2. V každé sérii při daném pH byla zařazena 3 měření s odlišnou intenzitou míchání (počtem otáček míchadla): 75 ot/min, 100 ot/min a 125 ot/min.

Všechny disoluční testy probíhaly v disolučních nádobách s pádlem (míchadlem) při konstantní teplotě a byly provedeny s tabletami identického složení. Do každé disoluční nádoby bylo připraveno 900 ml disolučního média s odpovídajícím pH. Média byla před započítím každého experimentu temperována na teplotu $37 \pm 0,5$ °C a tato teplota byla vodní lázní udržována po celou dobu trvání testu.



Obrázek 6 - Matricová tableta v disolučním médiu - pádélková metoda

Každý test probíhal nepřetržitě po dobu 24 hodin v disoluční aparatuře Sotax Smart AT7. Během této doby bylo z každé disoluční nádoby ve stanovených časových intervalech automaticky odebráno vždy 29 vzorků o objemu 3 ml. Prvních 24 vzorků bylo odebráno v intervalech po 15 minutách, následující 4 vzorky v intervalech po hodině a poslední vzorek po 14 hodinách, tedy po 24 hodinách od spuštění testu. Tento vzorek nebyl vyhodnocován jako součást disolučního profilu. Jeho odebrání mělo kontrolní charakter.

Všechny vzorky odebrané z disolučních nádob byly během odběru filtrovány skrze mikrofiltry a následně proměřeny metodou UV/VIS spektrofotometrie. Hodnota absorbance vzorků s obsahem indometacinu byla měřena proti blankovému vzorku ve stejném čase. Absorbance byla odečítána metodou fixní vlnové délky s tříbodovou korekcí pozadí. Fixní vlnová délka byla určena na 319 nm a korekce byla nadefinována v rozmezí 200–415 nm.

Na základě naměřených absorbancí bylo stanoveno množství indometacinu uvolněného z matricové struktury v závislosti na čase. Ze získaných dat byly sestaveny disoluční profily jako podklady pro vyhodnocení průběhu testů.

Při vyhodnocování získaných dat bylo dále pracováno s fotodokumentací, která byla pořizována průběžně během provádění studií. Paralelně s tím byly zaznamenávány i poznatky získané přímým vizuálním pozorováním vzorků.

Cílem studie bylo zjistit, jaký vliv mají různé vnější podmínky (intenzita míchání a pH použitého média) na rychlost uvolňování málo rozpustného léčiva, konkrétně indometacinu, z matricových tablet daného složení.

2.5. Složení a příprava matricových tablet

Disolučnímu testu bylo podrobena celkem 24 výlisků matricových tablet z čehož 18 obsahovalo účinnou látku indometacin. Šest tablet představovalo slepé vzorky (blankové tablety), určené k porovnání při zvolené detekční metodě, UV/VIS spektrofotometrii. V blankových tabletách byla účinná látka nahrazena plnivem Prosolv. Složení všech blankových tablet, stejně tak i složení všech tablet s obsahem indometacinu bylo ve všech stanoveních neměnné a je shrnuto v tabulkách 4 a 5.

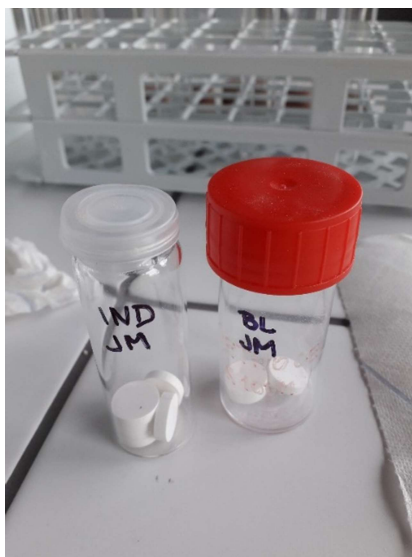
Tabulka 4 - Složení matricových tablet s účinnou látkou

Látka	mg	%
Prosolv	325	65
K 4	150	30
Indometacin	20	4
Stearát hořečnatý	5	1
Celková hmotnost	500	

Tabulka 5 - Složení blankových tablet

Látka	mg	%
Prosolv	345	69
K 4	150	30
Stearát hořečnatý	5	1
Celková hmotnost	500	

Směs navážených dílčích složek byla homogenizována v mlecí komůrce oscilačního mlýnu MM 200 a posléze lisována hydraulickým lisem při tlaku 8 kN po dobu 5 minut. Hotové výlisky válcovitého tvaru byly po 3 dny uchovány v suchém prostředí při pokojové teplotě a následně podrobeny disoluci.



Obrázek 7 - Lisované matricové tablety před disolučním testováním

2.6. Disoluční média

Pro experiment byla vybrána dvě disoluční média, fosfátové pufrů, s rozdílnou hodnotou pH. Obě média byla připravena odměřením odpovídajícího množství roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného ($c = 0,2 \text{ mol/l}$) a roztoku hydroxidu sodného ($c = 0,2 \text{ mol/l}$) do 2 l odměrné baňky, která byla následně doplněna redestilovanou vodou na kalibrovaný objem. Média i roztoky pro jejich přípravu byly připraveny bezprostředně před provedením disoluce a jsou blíže specifikovány v tabulce 6.

Tabulka 6 - Složení disolučních médií

Médium / Roztoky	KH_2PO_4 ($c = 0,2 \text{ mol/l}$)	NaOH ($c = 0,2 \text{ mol/l}$)	H_2O
<i>pH 6,8</i>	<i>500 ml</i>	<i>224 ml</i>	<i>1276 ml</i>
<i>pH 7,2</i>	<i>500ml</i>	<i>347 ml</i>	<i>1153 ml</i>

3. Výsledky

3.1. Naměřená data

Data naměřená metodou UV/VIS spektrometrie s třibodovou korekcí pozadí byla na základě níže uvedené rovnice kalibrační přímky pro danou vlnovou délku (319 nm) přepočtena z příslušných absorbancí na hmotnostní koncentrace uvolněné účinné látky v médiu.

$$A = 0,00288 \cdot c + 0,000691218$$

c – koncentrace indometacinu [mg/l]

A – absorbance vzorku po odečtení absorbance pozadí [–]

Z vypočtených koncentrací účinné látky v dílčích vzorcích bylo stanoveno množství uvolněné účinné látky v miligramech podle následující rovnice:

$$m_x = c_{M,x} \cdot V_x + \sum_{i=1}^{x-1} c_{M,x} \cdot V_z$$

m_x – hmotnost uvolnění účinné látky (IND) [mg]

$c_{M,x}$ – hmotnostní koncentrace účinné látky (IND) [mg/l]

V_x – objem disolučního roztoku v čase odběru vzorku [l]

V_z – objem odebraného vzorku [l]

Vyhodnocení dat je založeno na předpokladu, že obě disoluční média jsou si velmi blízká svým charakterem, tedy i iontovou silou a blízkým intervalem pH. Na základě tohoto předpokladu byla ve vyhodnocování naměřených dat použita stejná závislost absorbance na koncentraci pro vzorky s oběma disolučními médii ke stanovení obsahu uvolněného indometacinu.

Zjištěná množství uvolněného indometacinu jsou pro všechna stanovení zanesena v tabulkách jako množství uvolněné látky v čase odběru vzorku. Tabulky 7, 8 a 9 shrnují výsledky disolučních studií provedených v médiu o pH 6,8 a tabulky 10, 11 a 12 výsledky získané z disolučních studií provedených v médiu o pH 7,2. Každá z šesti uvedených tabulek zahrnuje výsledky jednoho testu provedeného v médiu o specifikovaném pH a intenzitě otáček provedeném souběžně na 3 matricových

tabletách s obsahem indometacinu (20 mg) a jedné blankové tableti. Vedle množství uvolněného indometacinu z každé matricové tablety zahrnují tyto tabulky také průměr a medián těchto hodnot a jejich směrodatnou odchylku.

Tabulka 7 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 6,8 při 75 ot/min

Čas (hod)	Množství uvolnění látky (mg)					
	Tableta A	Tableta B	Tableta C	Průměr	Medián	Směrodatná odchylka
0,25	4,08	4,43	3,40	3,97	4,08	0,4259
0,50	4,78	5,72	4,35	4,95	4,78	0,5720
0,75	5,33	6,25	4,83	5,47	5,33	0,5870
1,00	5,81	6,70	5,40	5,97	5,81	0,5424
1,25	6,15	7,07	5,67	6,29	6,15	0,5798
1,50	6,44	7,47	5,93	6,61	6,44	0,6404
1,75	6,77	7,62	6,17	6,85	6,77	0,5924
2,00	6,93	7,93	6,35	7,07	6,93	0,6541
2,25	7,35	8,23	6,71	7,43	7,35	0,6259
2,50	7,43	8,52	6,96	7,74	7,74	0,7813
2,75	7,64	8,83	7,30	7,92	7,64	0,6588
3,00	7,83	8,78	7,40	8,00	7,83	0,5737
3,25	8,11	9,26	7,65	8,34	8,11	0,6772
3,50	8,51	9,45	7,87	8,61	8,51	0,6494
3,75		9,61	8,02	8,82	8,82	0,7965
4,00		9,84	8,12	8,98	8,98	0,8606
4,25		9,96	8,21	9,08	9,08	0,8771
4,50		10,13	8,52	9,33	9,33	0,8020
4,75		10,31	8,62	9,47	9,47	0,8448
5,00	9,20	10,41	8,87	9,49	9,20	0,6604
5,25		10,41	9,02	9,72	9,72	0,6988
5,50	9,56	10,48	9,14	9,73	9,56	0,5602
5,75	9,62	10,71	9,14	9,82	9,62	0,6599
6,00		10,92	9,35	10,14	10,14	0,7813
7,00		11,29	9,63	10,46	10,46	0,8307
8,00		11,69	10,17	10,93	10,93	0,7603
9,00		12,06	10,51	11,28	11,28	0,7742
10,00		12,45	10,97	11,71	11,71	0,7410
24,00		19,73	15,23	17,48	17,48	2,2480

* Vynechané mezery odpovídají vzorkům, které nebylo z technických důvodů možné vyhodnotit

Tabulka 8 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 6,8 při 100 ot/min

Čas (hod)	Množství uvolnění látky (mg)					
	Tableta A	Tableta B	Tableta C	Průměr	Medián	Směrodatná odchylka
0,25	3,78	3,26	4,01	3,68	3,78	0,3154
0,50	4,60	3,90	4,96	4,49	4,60	0,4412
0,75	5,25	4,12	5,58	4,98	5,25	0,6246
1,00	5,69	5,20	5,83	5,57	5,69	0,2733
1,25	5,76	5,39	6,39	5,85	5,76	0,4097
1,50	6,17	6,40	6,74	6,44	6,40	0,2357
1,75	6,62	6,41	6,70	6,58	6,62	0,1219
2,00	6,84	6,60	6,94	6,79	6,84	0,1457
2,25	6,95	6,88	7,33	7,06	6,95	0,1985
2,50	7,22	7,10	7,72	7,35	7,22	0,2699
2,75	7,43	7,41	7,76	7,53	7,43	0,1593
3,00	7,34	7,59	7,95	7,63	7,59	0,2484
3,25	7,26	7,87	8,16	7,76	7,87	0,3758
3,50	7,84	8,19	8,33	8,12	8,19	0,2048
3,75	7,88	8,34	8,34	8,19	8,34	0,2192
4,00	8,28	8,74	8,67	8,56	8,67	0,2040
4,25	8,30	8,74	8,57	8,53	8,57	0,1805
4,50	8,45	8,93	8,58	8,65	8,58	0,2026
4,75	8,51	9,15	9,00	8,89	9,00	0,2732
5,00	8,78	9,37	9,31	9,15	9,31	0,2613
5,25	8,65	9,62	9,40	9,22	9,40	0,4152
5,50	8,66	9,92	9,51	9,37	9,51	0,5252
5,75		10,15	9,80	9,97	9,97	0,1730
6,00		10,32	9,97	10,14	10,14	0,1782
7,00		11,46	10,93	11,20	11,20	0,2668
8,00		12,03	11,54	11,78	11,78	0,2474
9,00		12,64	12,36	12,50	12,50	0,1421
10,00		13,37	13,10	13,24	13,24	0,1337
24,00		20,10	21,78	20,94	20,94	0,8373

* Vynechané mezery odpovídají vzorkům, které nebylo z technických důvodů možné vyhodnotit

Tabulka 9 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 6,8 při 125 ot/min

Čas (hod)	Množství uvolnění látky (mg)					
	Tableta A	Tableta B	Tableta C	Průměr	Medián	Směrodatná odchylka
0,25	3,63	4,17	4,39	4,07	4,17	0,3195
0,50	4,40	5,43	5,19	5,01	5,19	0,4400
0,75	4,86	6,29	5,60	5,58	5,60	0,5827
1,00	5,46	6,97	6,53	6,32	6,53	0,6326
1,25	5,79	7,51	6,34	6,54	6,34	0,7186
1,50	5,99	7,97	6,83	6,93	6,83	0,8129
1,75	6,50	8,34	6,90	7,24	6,90	0,7911
2,00	6,55	8,37	6,92	7,28	6,92	0,7890
2,25	6,92	8,85	7,40	7,72	7,40	0,8193
2,50	7,07	9,05	7,43	7,85	7,43	0,8587
2,75	7,31	9,02	7,57	7,97	7,57	0,7546
3,00	7,61	10,08	8,15	8,61	8,15	1,0627
3,25	7,95	10,15	8,24	8,78	8,24	0,9768
3,50	8,18	10,37	8,48	9,01	8,48	0,9702
3,75	8,36	10,54	8,53	9,14	8,53	0,9868
4,00	8,43	10,76	8,57	9,26	8,57	1,0675
4,25	8,64	10,94	8,76	9,45	8,76	1,0576
4,50	8,65	11,22	8,94	9,60	8,94	1,1519
4,75	8,70	11,23	9,13	9,68	9,13	1,1052
5,00	8,97	11,53	8,73	9,74	8,97	1,2680
5,25	9,11	11,34	8,84	9,76	9,11	1,1192
5,50	8,98	11,67	9,50	10,05	9,50	1,1628
5,75	9,35	12,02	9,42	10,26	9,42	1,2448
6,00	9,54	12,55	9,69	10,59	9,69	1,3867
7,00	10,24	13,82	10,37	11,47	10,37	1,6609
8,00	10,68	14,64	10,42	11,91	10,68	1,9336
9,00	11,71	15,50	11,32	12,84	11,71	1,8848
10,00	12,16	15,95	11,58	13,23	12,16	1,9401
24,00	20,15	21,95	17,47	19,86	20,15	1,8443

Tabulka 10 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 7,2 při 75 ot/min

Čas (hod)	Množství uvolnění látky (mg)					
	Tableta A	Tableta B	Tableta C	Průměr	Medián	Směrodatná odchylka
0,25	3,44	3,45	2,44	3,11	3,44	0,4733
0,50	4,10	4,27	3,31	3,90	4,10	0,4171
0,75	4,69	4,86	4,07	4,54	4,69	0,3366
1,00	4,92	5,05	4,62	4,86	4,92	0,1819
1,25	5,41	5,54	5,01	5,32	5,41	0,2241
1,50	5,65	5,98	5,45	5,69	5,65	0,2150
1,75	5,76	5,92	5,93	5,87	5,92	0,0755
2,00	6,02	6,30	6,12	6,15	6,12	0,1148
2,25	6,47	6,54	6,27	6,43	6,47	0,1136
2,50	6,68	6,68	6,65	6,67	6,68	0,0139
2,75	7,11	7,02	7,16	7,10	7,11	0,0589
3,00	7,34	7,43	7,48	7,42	7,43	0,0591
3,25	7,48	7,58	7,78	7,61	7,58	0,1244
3,50	7,60	7,90	7,89	7,80	7,89	0,1407
3,75	7,75	8,08	8,19	8,01	8,08	0,1897
4,00	8,08	8,12	8,41	8,20	8,12	0,1448
4,25	8,19	8,30	8,73	8,40	8,30	0,2355
4,50	8,23	8,41	8,85	8,50	8,41	0,2628
4,75	8,52	8,58	9,11	8,74	8,58	0,2629
5,00		8,69	9,28	8,98	8,98	0,2950
5,25		8,86	9,34	9,10	9,10	0,2402
5,50	8,65	10,02	8,52	9,06	8,65	0,6784
5,75	8,81	10,20	8,61	9,21	8,81	0,7050
6,00	8,86	10,29	8,86	9,34	8,86	0,6757
7,00	9,37	9,72	10,69	9,93	9,72	0,5544
8,00	9,78	10,21	11,35	10,45	10,21	0,6639
9,00	10,35	10,47	11,85	10,89	10,47	0,6780
10,00	10,64	10,77	12,39	11,27	10,77	0,8001
24,00	15,70	14,97	17,96	16,21	15,70	1,2714

* Vynechané mezery odpovídají vzorkům, které nebylo z technických důvodů možné vyhodnotit

Tabulka 11 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 7,2 při 100 ot/min

Čas (hod)	Množství uvolnění látky (mg)					
	Tableta A	Tableta B	Tableta C	Průměr	Medián	Směrodatná odchylka
0,25	3,42	3,03	4,51	3,65	3,42	0,6282
0,50	3,71	3,81	5,37	4,30	3,81	0,7607
0,75	4,92	4,73	6,18	5,28	4,92	0,6451
1,00	5,49	5,36	6,57	5,81	5,49	0,5433
1,25	5,56	5,28	6,65	5,83	5,56	0,5940
1,50	6,01	5,58	6,91	6,16	6,01	0,5527
1,75	6,49	6,23	7,28	6,66	6,49	0,4471
2,00	6,94	6,55	7,57	7,02	6,94	0,4211
2,25	7,14	6,76	7,81	7,24	7,14	0,4367
2,50	7,63	7,25	8,04	7,64	7,63	0,3230
2,75	7,86	7,42	8,19	7,83	7,86	0,3137
3,00	8,02	7,70	8,36	8,03	8,02	0,2707
3,25	8,30	8,04	8,53	8,29	8,30	0,2029
3,50	8,57	8,21	8,80	8,52	8,57	0,2420
3,75	8,92	8,53	8,86	8,77	8,86	0,1742
4,00	9,04	8,57	9,08	8,90	9,04	0,2332
4,25	9,75	9,12	9,54	9,47	9,54	0,2641
4,50	9,86	9,27	9,69	9,61	9,69	0,2455
4,75	9,93	9,40	9,88	9,74	9,88	0,2386
5,00	10,16	9,49	9,70	9,78	9,70	0,2819
5,25	10,18	9,66	9,93	9,93	9,93	0,2128
5,50	10,43	9,85	10,05	10,11	10,05	0,2384
5,75	10,62	10,03	10,25	10,30	10,25	0,2426
6,00	10,88	10,25	10,29	10,47	10,29	0,2880
7,00	11,52	10,85	10,82	11,06	10,85	0,3241
8,00	12,26	11,60	11,36	11,74	11,60	0,3776
9,00	13,12	12,48	11,97	12,52	12,48	0,4713
10,00	13,75	13,09	12,54	13,13	13,09	0,4946
24,00	20,03	19,01	18,78	19,27	19,01	0,5422

Tabulka 12 - Množství uvolněné látky v disolučním médiu pH 7,2 při 125 ot/min

Čas (hod)	Množství uvolnění látky (mg)					
	Tableta A	Tableta B	Tableta C	Průměr	Medián	Směrodatná odchylka
0,25	5,14	5,31		5,22	5,22	0,0830
0,50	6,45	5,95		6,20	6,20	0,2490
0,75	7,39	6,80		7,09	7,09	0,2931
1,00	8,11	7,38	6,51	7,33	7,38	0,6539
1,25	8,57	7,45	6,93	7,65	7,45	0,6845
1,50	8,90	7,57	6,77	7,75	7,57	0,8782
1,75	9,36	7,73	7,11	8,07	7,73	0,9486
2,00	9,72	8,19	7,52	8,48	8,19	0,9219
2,25	10,15	8,49	7,93	8,85	8,49	0,9439
2,50	10,37	8,31	7,99	8,89	8,31	1,0550
2,75	10,92	9,15	8,54	9,54	9,15	1,0084
3,00	11,37	9,41	8,53	9,77	9,41	1,1882
3,25	11,44	8,99	9,24	9,89	9,24	1,0988
3,50	11,58	9,47	8,96	10,00	9,47	1,1334
3,75	11,80	9,70	9,08	10,20	9,70	1,1641
4,00	12,12	10,05	9,29	10,49	10,05	1,1938
4,25	12,59	10,08	9,39	10,68	10,08	1,3743
4,50	12,67	10,44	9,57	10,89	10,44	1,3069
4,75	12,71	10,48	9,73	10,97	10,48	1,2630
5,00	12,76	11,70	9,99	11,48	11,70	1,1420
5,25	13,16	11,04	10,30	11,50	11,04	1,2123
5,50	13,20	11,09	10,40	11,56	11,09	1,1915
5,75	13,29	11,32	10,47	11,69	11,32	1,1796
6,00	13,57	11,25	10,63	11,82	11,25	1,2667
7,00	14,08	11,68	10,98	12,25	11,68	1,3282
8,00	14,40	12,40	12,07	12,95	12,40	1,0281
9,00	14,78	12,98	12,43	13,40	12,98	1,0037
10,00	15,24	13,88	13,36	14,16	13,88	0,7933
24,00	18,77	20,88	19,02	19,56	19,02	0,9401

* Vynechané mezery odpovídají vzorkům, které nebylo z technických důvodů možné vyhodnotit

3.2. Disoluční studie pH 6,8

Pro vytvoření disolučních profilů bylo množství uvolněné účinné látky převedeno na procentuální hodnotu vztaženou k obsahu účinné látky v matricové tabletě před provedením disolučního testu (20 mg IND).

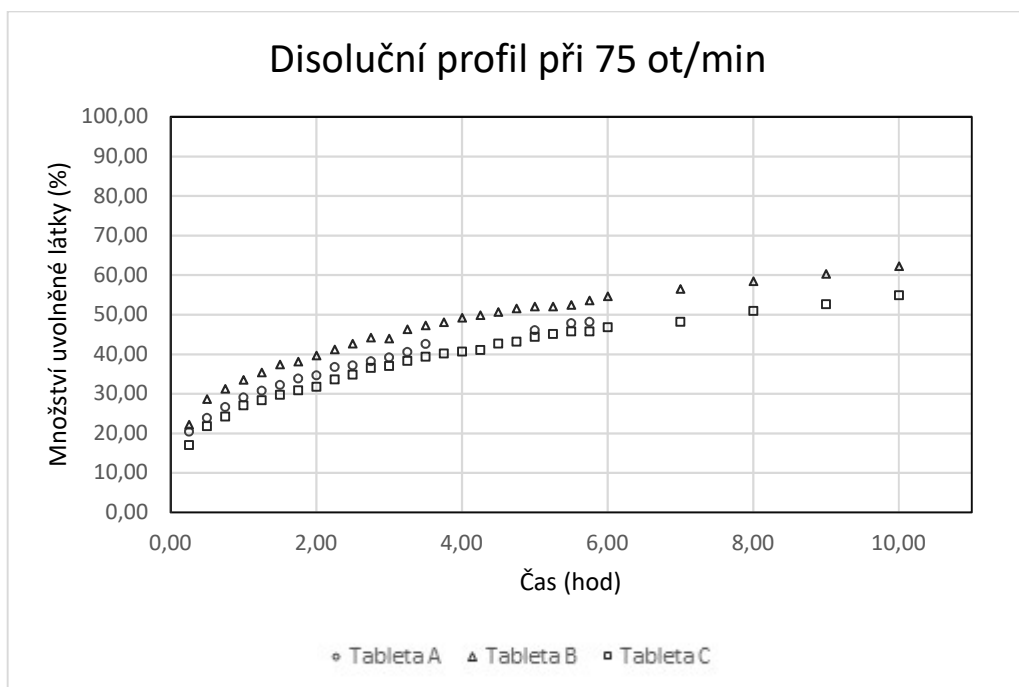
$$\frac{m_r}{m_v} \cdot 100 \%$$

m_r – hmotnost uvolnění účinné látky (IND) [mg]

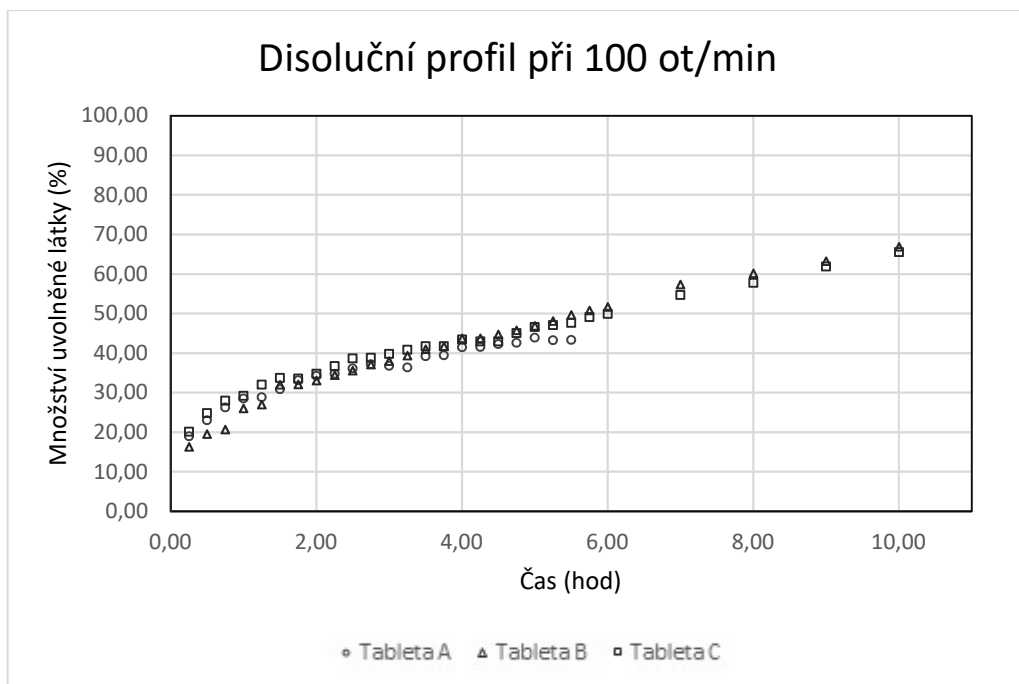
m_v – hmotnost účinné látky v tabletě (IND) [mg]

V navazujících grafech je prezentováno procentuální množství uvolněné látky v závislosti na čase pro všechny testy provedené pro každý test ve třech opakováních. Součástí disolučních profilů jsou pouze hodnoty naměřené do času 10 hod. Poslední odebraný vzorek (v čase 24 hod) není zahrnut. Jeho význam je pouze kontrolní.

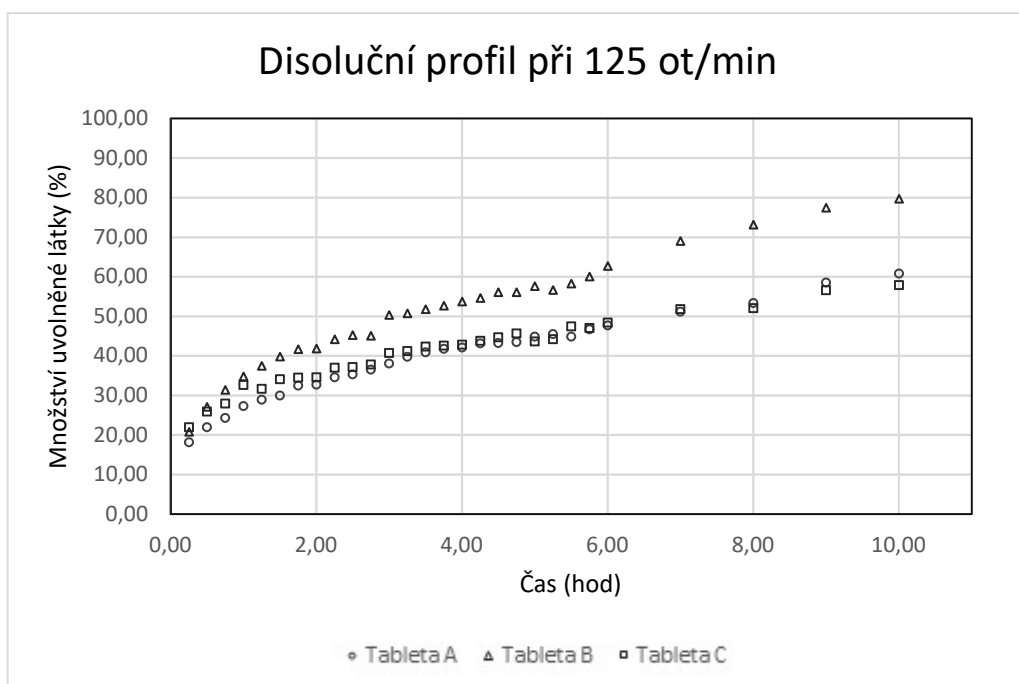
Grafy 1 a 2 reprezentují ideální stav, kdy všechna opakování poskytují srovnatelné výsledky. V grafu 3 je patrná odchylka v rychlosti uvolňování účinné látky při 125 ot/min z tablety B v porovnání s tabletami A a C, pro které byl vyhodnocen téměř identický disoluční profil.



Graf 1- Disoluční profil pH 6,8 (75 ot/min) - dílčí měření



Graf 2 - Disoluční profil pH 6,8 (100 ot/min) - dílčí měření

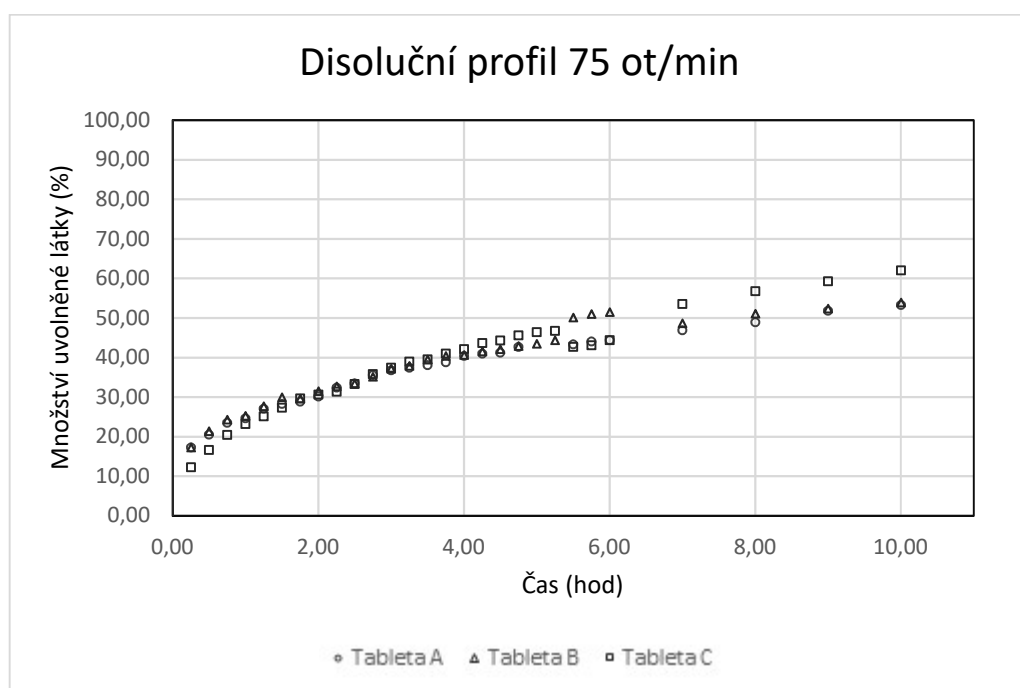


Graf 3 - Disoluční profil pH 6,8 (125 ot/min) - dílčí měření

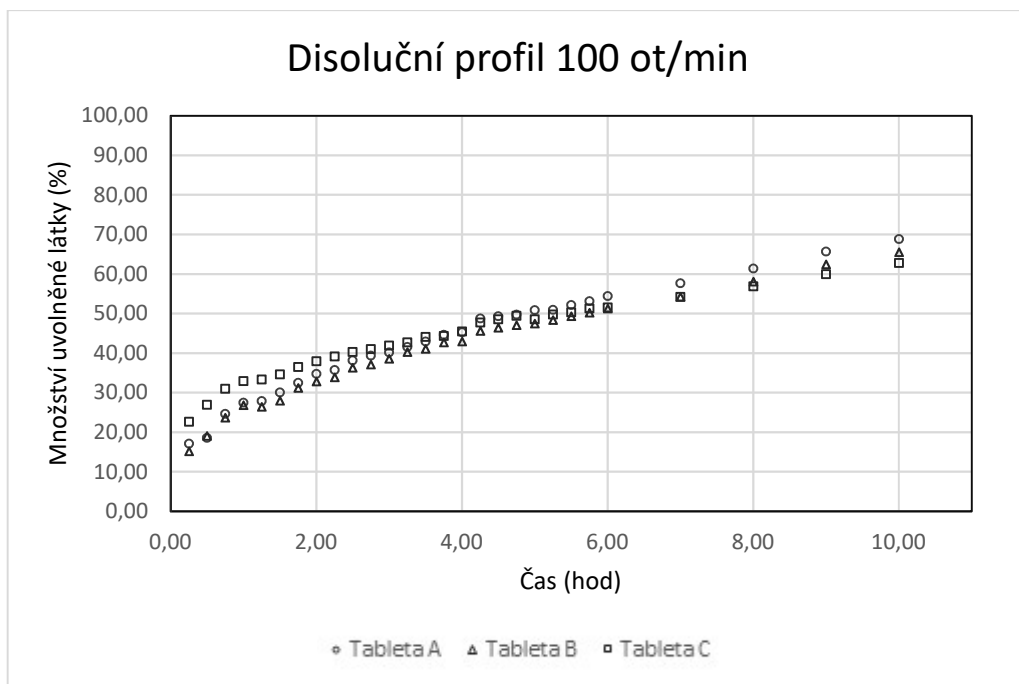
3.3. Disoluční studie pH 7,2

V grafech 4 a 5 je možné pozorovat srovnatelnou rychlost uvolňování indometacinu u všech vzorků. V grafu 6 je patrná odchylka v uvolňování sledované látky u tablety A, přičemž rozdíl v celkovém množství uvolněné látky v porovnání se vzorky B a C s časem klesá.

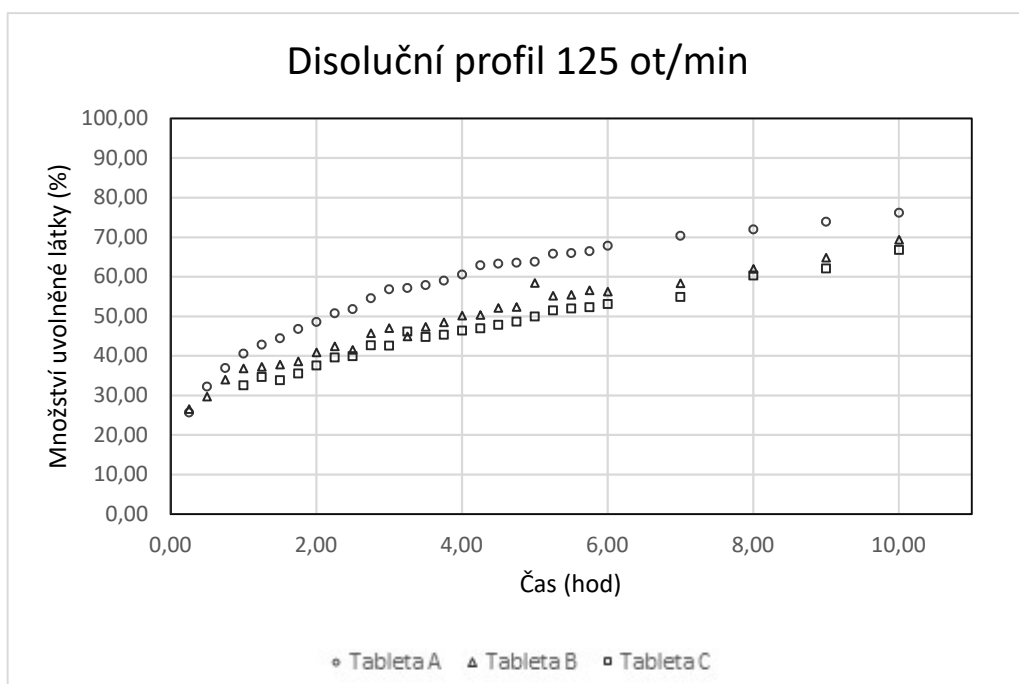
V grafech 4 a 6 jsou zaneseny body, které neodpovídají uvolňování sledované látky do roztoku, tedy naznačují pokles v celkovém množství uvolněné účinné látky. V grafu 4 jsou to body odpovídající času 5,5 hod pro tablety A a B. V grafu 6 jsou to například bod odpovídající tabletě B v čase 2,5 hod a bod odpovídající tabletě C v čase 1,5 hod. Vedle tohoto lze sledovat i jev opačný, kdy byl sledován náhlý nárůst v množství uvolněné účinné látky, jako například v grafu 4 u jednoho ze vzorků odebraného v čase 5,5 hod a v grafu 6 u vzorku tablety C v čase 5 hod.



Graf 4 – Disoluční profil pH 7,2 (75 ot/min) - dílčí měření



Graf 5 - Disoluční profil pH 7,2 (100 ot/min) - dílčí měření

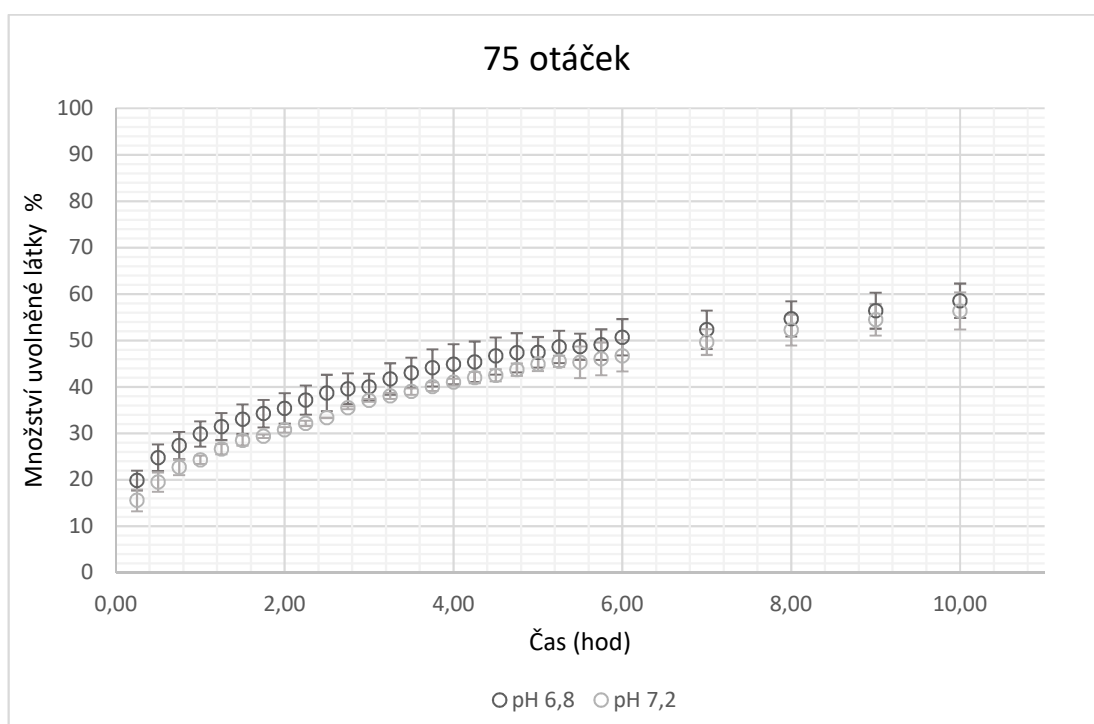


Graf 6 - Disoluční profil pH 7,2 (125 ot/min) - dílčí měření

3.4. Disoluční studie při 75 otáčkách

Pro porovnání vlivu pH na rychlost uvolňování indometacinu z tablety byl zvolen graf zahrnující průměrná množství uvolněného indometacinu v procentech v závislosti na čase pro obě sledovaná pH. Součástí disolučních profilů nejsou hodnoty získané pro kontrolní vzorek odebraný v čase 24 hod.

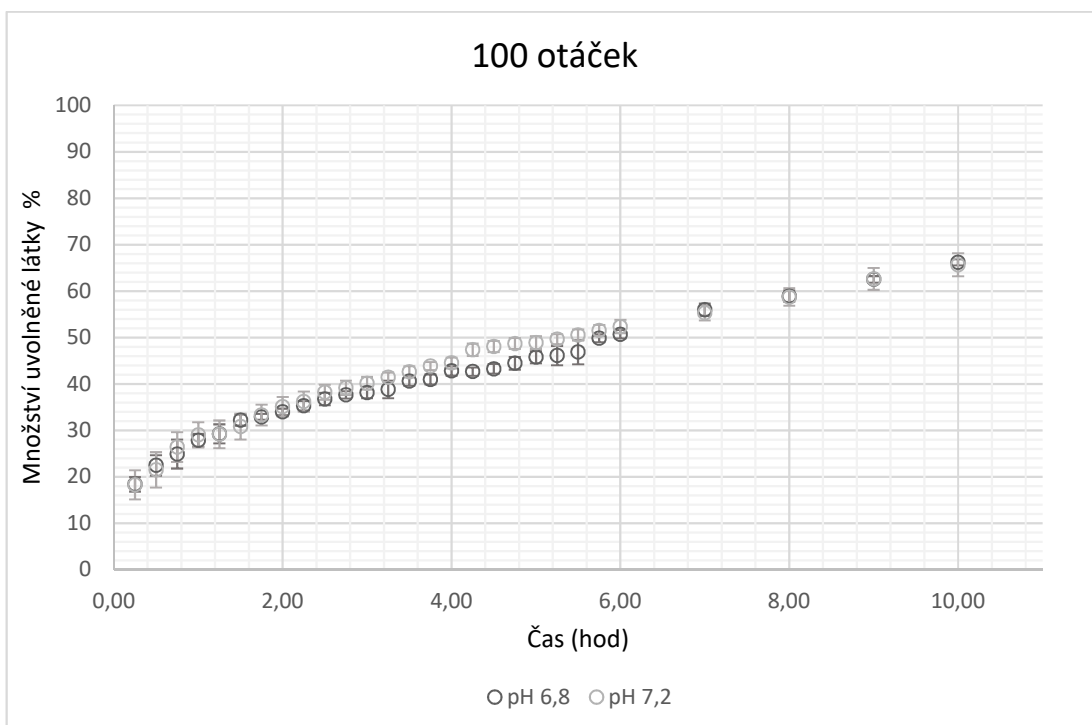
V grafu 7 je zřejmé, že při 75 ot/min je účinná látka uvolňována rychleji při pH 6,8 než při pH 7,2. Výsledky testu s disolučním médiem o nižším pH také vykazují větší směrodatné odchylky.



Graf 7 - Porovnání vlivu pH na uvolňování indometacinu při 75 ot/min

3.5. Disoluční studie při 100 otáčkách

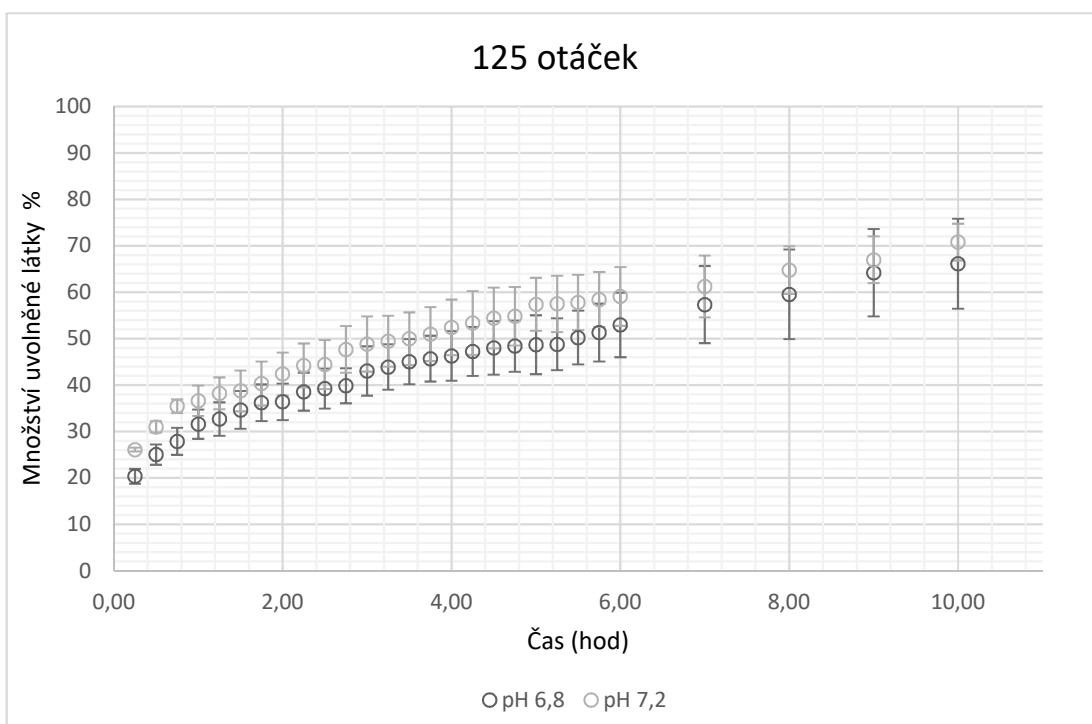
V grafu 8 je možné sledovat podobnost v chování látky v obou použitých disolučních médiích. Větší rozdíl je patrný pouze v rozmezí časů 4,25 – 5,25 hod. Odchytky v jednotlivých opakováních měření byly v obou dvou testech minimální a to zejména v oblasti za 1,5 hod na časové ose.



Graf 8 - Porovnání vlivu pH na uvolňování indometacinu při 100 ot/min

3.6. Disoluční studie při 125 otáčkách

Disoluční profil v grafu 9 odráží rozdíly v chování jednotlivých matricových tablet v obou použitých médiích. Odchyly v množství uvolněné látky jsou z počátku nepatrné a s časem výrazně rostou. Z grafu 9 je rovněž patrné, že v prostředí s vyšším pH se indometacin v průběhu disoluce uvolňoval rychleji. Tento trend je patrný zejména v kratším časovém horizontu, kde se směrodatné odchyly nepřekrývají.



Graf 9 - Porovnání vlivu pH na uvolňování indometacinu při 125 ot/min

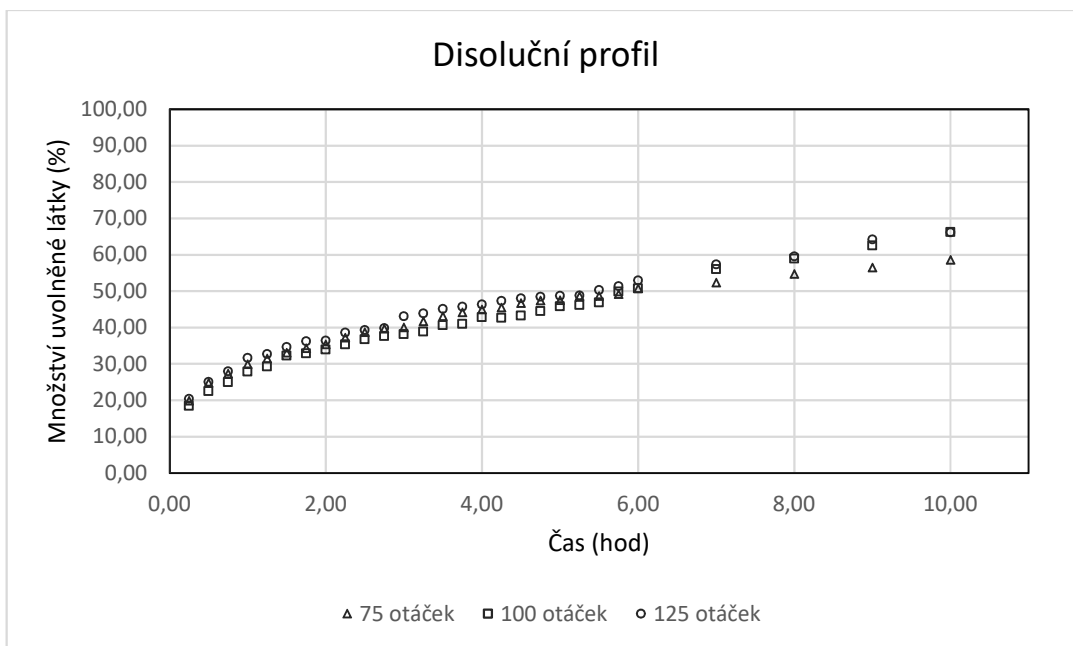
4. Diskuze

Na lisovaných matricových tabletách identického složení bylo studováno uvolňování a rozpouštění indometacinu v prostředí fosforečnanových disolučních médií o různém pH při třech stupních intenzity míchání formou disolučního testu. Jako detekční metoda byla zvolena UV/VIS spektrometrie s tříbodovou korekcí pozadí. Naměřená data byla metodou kalibrační přímky podle příslušné závislosti absorpance na koncentraci přepočtena na množství uvolněné látky. Hmotnost uvolněné látky byla převedena na procentuální množství účinné látky uvolněné z matricové tablety s počátečním obsahem 20 mg indometacinu.

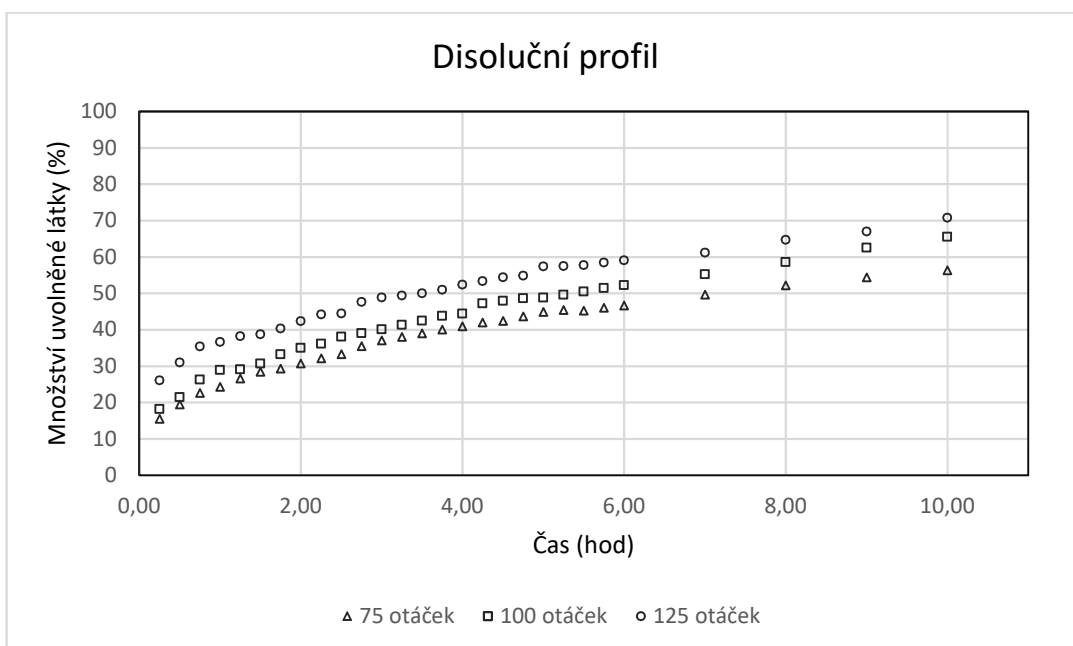
Výstupem práce jsou desetihodinové disoluční profily uvolňování účinné látky s kontrolním bodem v čase 24 hodin. V profilech jsou viditelné určité odlišnosti v chování indometacinu při uvolňování z matricových tablet v prostředí fosfátového pufru v závislosti na jeho pH a intenzitě míchání.

Na základě získaných disolučních profilů byl potvrzen předpoklad, že uvolňování a rozpouštění indometacinu je rychlejší při vyšší intenzitě míchání, přičemž výrazněji je tento trend patrný v disolučním médiu s vyšší hodnotou pH, jak ukazují grafy 10 a 11. Tyto grafy prezentují průměrné hodnoty procentuálních množství uvolněné účinné látky v závislosti na čase, nicméně jednotlivé body jsou pro přehlednost vyneseny bez směrodatných odchylek.

Provedení disolučních testů za použití fosforečnanového pufru o pH 6,8 poskytlo data, která nasvědčují, že se účinná látka z dané formulace uvolňuje bez výraznější závislosti na intenzitě míchání. Z grafu 10 a tabulky 14 je patrné, že to zřejmě platí zejména pro kratší časový úsek, protože množství uvolněné látky v posledním odebraném vzorku (24 hodin) naznačuje, že zatímco při vyšší intenzitě míchání byl uvolněn téměř veškerý účinný obsah matrice, při intenzitě míchání 75 ot/min to bylo pouze 87 % z obsažené účinné látky. Bohužel pro stanovení množství uvolněného indometacinu po 24 hodinách byly dostupné jen dva vzorky, ze kterých bylo uvolněné množství této látky uvedené v tabulce 14 vypočteno jako průměr. V tabulce 7 je možné vidět, že množství indometacinu stanovené po 24 hodinách v dílčích vzorcích se pohybuje v poměrně širokém intervalu.



Graf 10 - Časový profil uvolňování indometacinu při pH 6,8



Graf 11 - Časový profil uvolňování indometacinu při pH 7,2

Z analýz vzorků odebraných po 24 hodinách je zároveň patrné, že v tomto čase byl při vyšší intenzitě míchání uvolněn a rozpuštěn téměř veškerý/veškerý obsah účinné látky obsažený v tabletě. V tabulce 13 je možné vidět, že v případě jednoho stanovení bylo vyhodnoceno vyšší než přípustné množství uvolněné látky. Chyba s největší pravděpodobností není důsledkem chybné analýzy vzorků ani chybou v přípravě matricových tablet. Po dvacetičtyřhodinovém sledování byly z technických důvodů analyzovány pouze 2 vzorky, nicméně oba vykázaly velmi blízké hodnoty

absorbance. Příslušná množství uvolněného indometacinu odpovídající těmto absorbancím jsou uvedena v tabulce 8. Jako možná příčina kladné chyby zjištěné u obou vzorků se nabízí znečištění v oblasti optického prostředí UV/VIS spektrometru, které mohlo výslednou absorbanci zkreslit, nebo atypické chování indometacinu v roztoku při delší časové prodlevě před analýzou.

Tabulka 13 - Celkové množství uvolněné látky v čase 24 hodin

pH	Otáčky	Množství uvolněné látky (%)
6,8	75	87,4
	100	104,6
	125	99,3
7,2	75	81,05
	100	96,35
	125	97,8

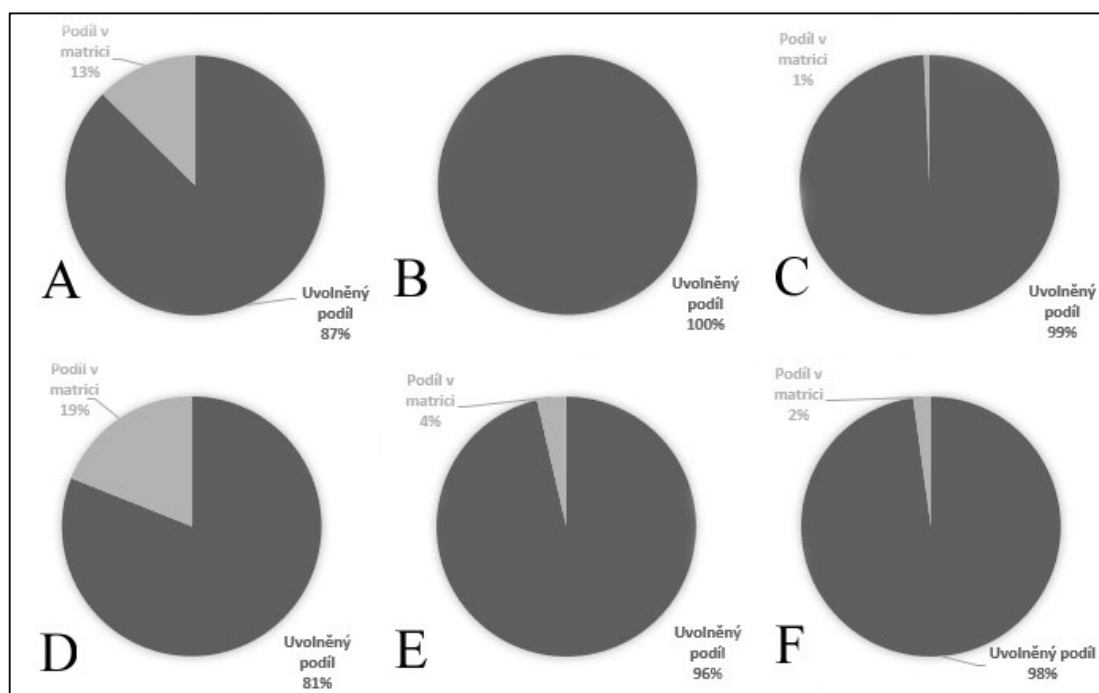
S ohledem na citlivost měření lze dále předpokládat, že v případě obou vzorků odebraných po 24 hodinách z disolučních nádob promíchávaných při nejvyšší intenzitě (125 ot/min) byla v průběhu testu uvolněna veškerá účinná látka. Shrnutí poznatků získaných z analýzy kontrolních vzorků odebraných po 24 hodinách je znázorněno v grafu 12, kde je zároveň vidět, že při nejnižší intenzitě otáček, zůstalo neuvolněno více než 10 % indometacinu, přestože vizuálně byla míra rozpadu tablety shodná s rozpadem tablety při vyšší intenzitě míchání, jak je vidět v obrázcích 8 a 9.



Obrázek 8 - Tableta po ukončení disolučního testu pH 6,8 (75 ot/min)



Obrázek 9 - Tableta po ukončení disolučního testu pH 6,8 (100 ot/min)



Graf 12 - Množství uvolněné látky po 24 hodinách

A – pH 6,8, 75 ot/min

C – pH 6,8, 125 ot/min

E – pH 7,2, 100 ot/min

B – pH 6,8, 100 ot/min

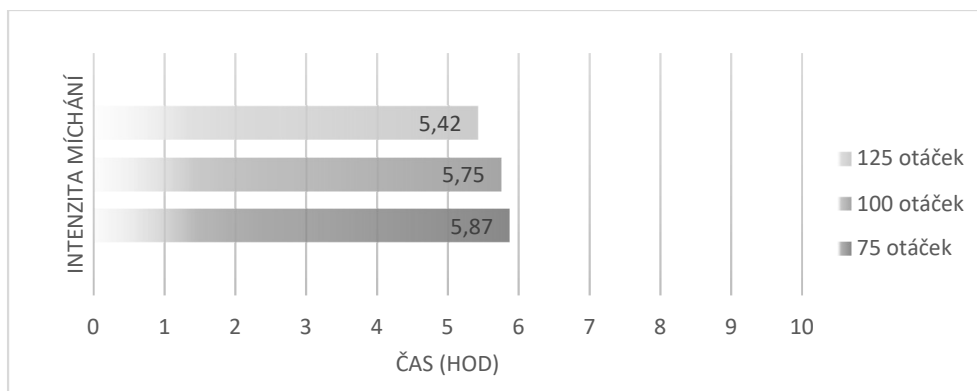
D – pH 7,2, 75 ot/min

F – pH 7,2, 125 ot/min

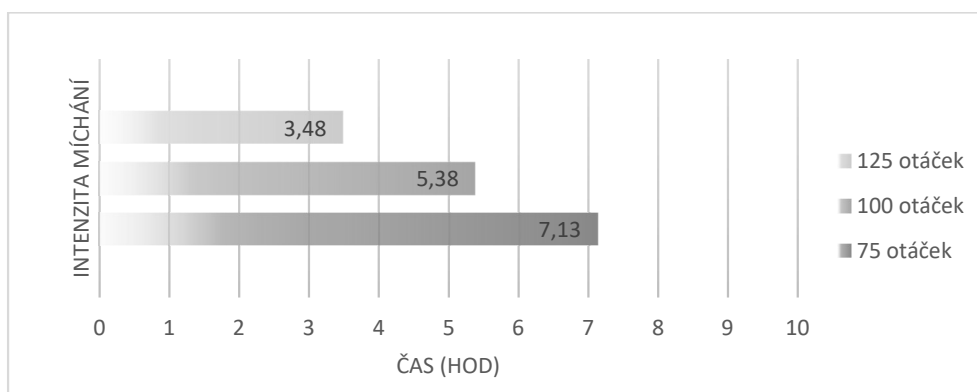
Z grafické závislosti množství uvolněné látky na čase byl odečten čas t_{50} pro všechna měření. Zjištěné hodnoty jsou zaneseny v tabulce 14. Při jejím posuzování je důležité vzít v úvahu, že odečtení času bylo provedeno pouze graficky a je tudíž zatíženo určitou chybou. Přesto lze na základě zjištěných skutečností konstatovat, že čas potřebný pro uvolnění 50 % účinné látky z matricové tablety závisí na intenzitě míchání. Tato skutečnost je zřejmá z obou stanovení, nicméně ve fosfátovém pufru pH 7,2 je tato závislost mnohem výraznější.

Tabulka 14 – Střední disoluční časy

pH	Otáčky	t_{50} (hod)
pH 6,8	75	5,87
	100	5,75
	125	5,42
pH 7,2	75	7,13
	100	5,38
	125	3,48



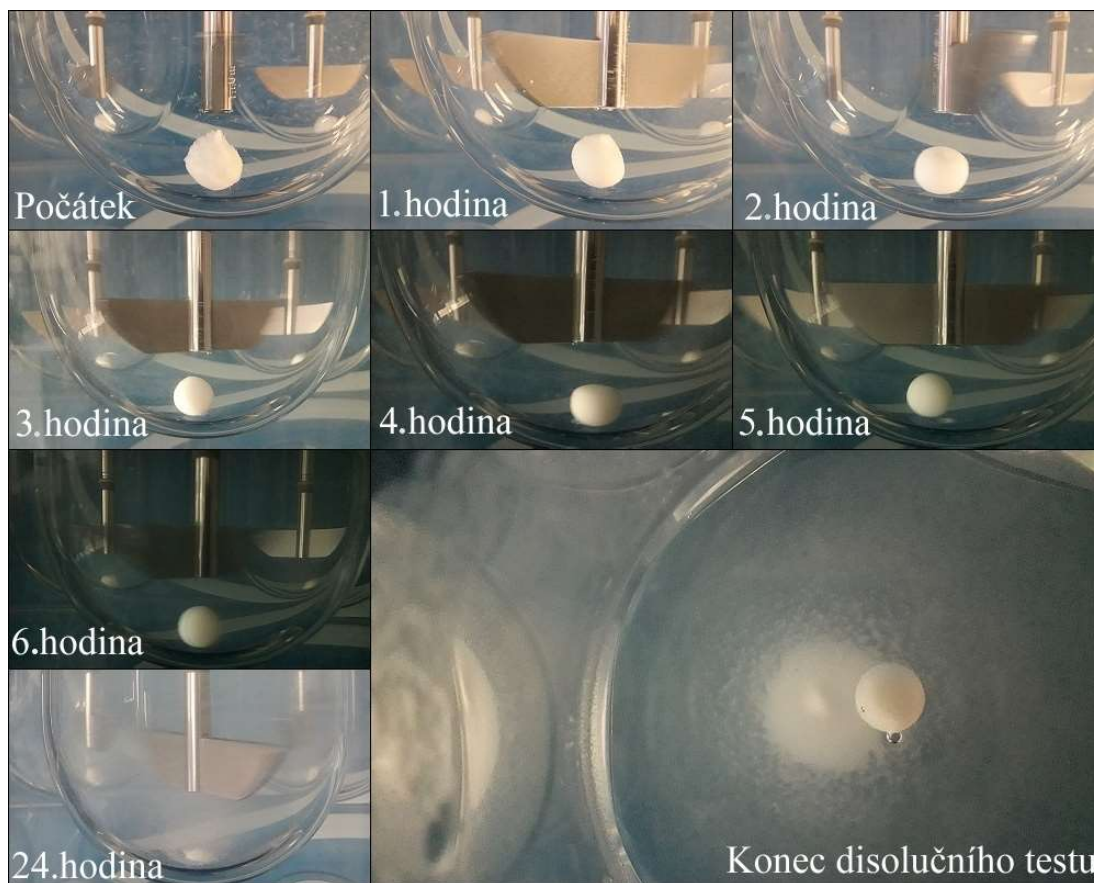
Graf 13 – Střední disoluční čas IND ve fosfátovém pufru pH = 6,8



Graf 14 - Střední disoluční čas IND ve fosfátovém pufru pH = 7,2

Ani u jedné disoluční studie nebylo možné sledovat čas odpovídající uvolnění 85 % obsažené účinné látky, což je běžně sledovaný parametr. V průběhu desetihodinového disolučního testu nedošlo k uvolnění dostatečného množství indometacinu pro jeho stanovení, a proto tento údaj na tomto místě chybí.

V průběhu testu byly tablety a jejich chování v disolučních pufrech průběžně dokumentovány a vizuálně hodnoceny, nicméně ani přes určité odlišnosti ve změně tvaru jednotlivých tablet v průběhu disoluce, nebylo shledáno, že by právě toto vedlo k odlišnému profilu uvolňování indometacinu u jednotlivých tablet vystavených stejným podmínkám.



Obrázek 10 - Průběh disolučního testu v médiu pH= 7,2 (75 ot/min)

Navzdory očekáváním se nepotvrdilo, že uvolňování a rozpouštění indometacinu v prostředí fosfátového pufru o pH 7,2 bude intenzivnější v porovnání s disolucí v prostředí fosfátového pufru o pH 6,8.

Při studiu chování vzorků v prostředí o pH 7,2 byla zjištěna větší závislost rychlosti uvolňování účinné látky do roztoku na intenzitě otáček. Při nejvyšší studované intenzitě míchání (125 ot/min) byl zaznamenán rychlejší přechod indometacinu do roztoku v médiích s vyšším pH, nicméně při nejnižší zvolené intenzitě míchání (75 ot/min) byl sledován opačný trend.

Z hodnot odpovídajících množství uvolněné látky po 24 hodinách je zřejmé, že množství uvolněné látky je méně závislé na pH přítomného média. Pravděpodobně je to dáno mírou nebo způsobem rozpadu tablety, který nezávisí na pH příslušného média. Rychlost uvolňování látky závisí na intenzitě míchání, která řídí rozpad tablety. Tento předpoklad dokumentuje graf 8 znázorňující disoluční profily pro pH 6,8 a 7,2.

V některých disolučních profilech bylo možné sledovat skokovou změnu ve stanoveném množství uvolněné látky. V grafu číslo 6 je vidět výrazný nárůst

zjištěné hmotnosti uvolněného indometacinu v čase 5 hod, a následně její pokles u jednoho ze sledovaných vzorků. V tomto případě došlo pravděpodobně k pochybení při analýze nebo oděru vzorku. Určitých abnormalit je ovšem možné si všimnout i v grafu 4, kde je však pokles ve zjištěném množství uvolněné látky trvalejšího charakteru. Příčinu tohoto chování se nepodařilo identifikovat, nicméně mohlo by se jednat o důsledek atypického chování indometacinu ve svých roztocích, ve kterých je schopen přecházet mezi svými různými formami. Ty se liší ve své rozpustnosti, v důsledku čehož by mohlo docházet k opětovnému vysrážení indometacinu z roztoku.

Odchytky mezi disolučními profily jednotlivých tablet podrobených stejným podmínkám mohou být důsledkem ne zcela identických matricových tablet. Všechny tablety byly sice připravovány identickým postupem, avšak jednotlivě. Jejich shodnost nebyla nikterak prověřována, například měřením pevnosti.

5. Závěr

Přímým lisováním bylo připraveno 18 matricových tablet identického složení s 20 mg málo rozpustné účinné látky, indometacinu. Tyto tablety byly podrobeny disolučním zkouškám pádlovou metodou v fosforečnanových disolučních médiích o pH 6,8 a 7,2 při třech stupních intenzity míchání (75 ot/min, 100 ot/min, 125 ot/min). Každý test byl proveden ve třech opakováních. Vzorky byly odebírány průběžně a obsah uvolněné látky v nich byl detekován metodou UV/VIS s tříbodovou korekcí pozadí. Získané desetihodinové disoluční profily byly navzájem porovnány. Na jejich základě ve spojení s fotodokumentací a kontrolními stanoveními v čase 24 hodin byly učiněny následující závěry:

- Při vyšší intenzitě míchání je uvolňování indometacinu z matricové tablety rychlejší v obou fosfátových médiích a po 24 hodinách se takto uvolňuje prakticky veškerá účinná látka.
- Vliv rozdílného pH na uvolňování účinné látky v použitých fosfátových pufrách je méně významný v porovnání s vlivem intenzity míchání.
- Při nižší intenzitě promíchávání (75 ot/min) média je léčivo rychleji uvolňováno ve fosfátovém médiu o pH 6,8, kdežto při rychlosti 125 ot/min dochází k výrazně rychlejšímu uvolňování indometacinu v médiu o pH 7,2. Disoluční profil indometacinu je v obou médiích srovnatelný při rychlosti míchadla přibližně 100 ot/min.

Zjištění těchto zákonitostí může nalézt své uplatnění při formulaci nových lékových forem s obsahem málo rozpustné účinné látky, u kterých je důležité uvolňování této látky v prostředí o neutrálním pH. Poukazuje totiž na relativně malý význam v odchylkách pH prostředí, který je u některých léčiv nezanedbatelný.

Pro přesnější pochopení mechanismu uvolňování indometacinu a jemu podobných látek z matricových tablet by bylo vhodné provést rozsáhlejší studii, která by zahrnovala více opakování pro jednotlivá měření. Zároveň by bylo vhodné lépe prostudovat rozpustnost a chování indometacinu ve vodných roztocích, a to z krátkodobého i dlouhodobého hlediska s ohledem na nestálost indometacinu v jeho roztocích. Pomohlo by to lépe pochopit uvolňování této látky z matricové tablety a třeba i upravit použitou detekční metodu z hlediska přesnosti.

Seznam použité literatury

- [1] HAMPL, František, RÁDL, Stanislav, PALEČEK, Jaroslav. *Farmakochemie*. 2.rozšíření vydání. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2007. 450 s. ISBN 978-80-7080-639-5.
- [2] LINCOVÁ, Dagmar, FARGHALI Hassan. *Základní a aplikovaná farmakologie*. Praha: Galén, 2002. 601 s. ISBN 80-7262-168-8.
- [3] HYNIE, Sixtus. *Farmakologie v kostce*. Praha: Triton, 2001. 520 s. ISBN 80-7254-181-1.
- [4] KATZUNG, Bertram G. *Základní a klinická farmakologie*. Vyd. v ČR 2., V H&H 2. Jinočany: H & H, 2006. 1106 s. ISBN 80-7319-056-7.
- [5] Příbalové letáky léčivých přípravků obsahujících indometacin. *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. 2010 © SÚKL [cit. 2019-05-23]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/>
- [6] MELICHAR, Bohuslav. *Chemická léčiva*. 3. přepracované vydání. Praha: Avicenum, 1987. 985 s.
- [7] COMER,John,JUDGE, Sam, MATTHEWS, DarrenTOWERS, Louise, FALCONE, Bruno, GOODMAN, Jonathan, DEARDEN, John. The intrinsic aqueous solubility of indomethacin. *Original scientific paper*. **2014**, 2 (1), 18-32. ISSN 1848-7718.
- [8] MAGEDOV, I. V.,MAKLAKOV, S. A., SHUSHKEVICH, Yu. I. New procedure of obtaining indometacin. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. **2005**, 41 (4), 449-451. ISSN 1573-8353.
- [9] MARTÍNKOVÁ, Jiřina. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, 2007. 379 s. ISBN 978-80-247-1356-4.
- [10] HANIKA, Jiří. *Farmaceutické inženýrství*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2013. 179 s. ISBN 978-80-7080-859-7.
- [11] VAŠÍŘOVÁ, Zuzana. Faktory ovlivňující biologickou dostupnost léčiv. *Remedia*. **2017**, 27, 299-302. ISSN 2336-3541.

- [12] VRANÍKOVÁ, Barbora, GAJDZIOK, Jan. Biologická dostupnost léčiva a možnosti jejího ovlivňování. *Česká a slovenská farmacie*. **2015**, 64 (1-2), 7-13. ISSN 1210-7816.
- [13] BROWN, Cynthia K., CHOKSHI, Hitesh P., NICKERSON, Beverly, REED, Robert A., ROHRS, Brian R., SHAH, Pankaj A. Acceptable Analytical Practices for Dissolution Testing of Poorly Soluble Compounds. *Pharmaceutical Technology*. **2004**, 28 (12), 56-65. ISSN 1543-2521.
- [14] EYBL, Vladislav. *Vybrané kapitoly z obecné farmakologie*. Část 1. Praha: Karolinum, 2003. 63 s. ISBN 80-246-0679-8.
- [15] VAN DUONG, Tu, LÜDEKER, David, VAN BOCKSTAL, Pieter-Jan, DE BEER, Thomas, VAN HUMBEECK, Jan, VAN DEN MOOTER, Guy. Polymorphism of Indomethacin in Semicrystalline Dispersions: Formation, Transformation and Segregation. *Molecular Pharmaceutics*. **2018**. 15 (3), 1037-1051. ISSN 1543-8392.
- [16] ŠTUKELJ, Jernej, SVANBÄCK, Sami, KRISTL, Julijana, STRACHAN, Clare J., YLIRUUSI, Jouko. Image-Based Investigation: Biorelevant Solubility of α and γ Indomethacin. *Analytical Chemistry*. **2019**. 91 (6), 3997-4003. ISSN 0003-2700.
- [17] Indometacin - DrugBank. DrugBank [online]. Last Resvised 2019 [cit. 20. 5. 2019]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00328>.
- [18] CZAJKOWSKA-KOŚNIK, Anna, SZNITOWSKA, Małgorzata. Solubility of ocular therapeutic agents in self-emulsifying oils I. Self-emulsifying oils for ocular drug delivery: solubility of indomethacin, aciclovir and hydrocortisone. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. **2009**. 66 (6), 709-713. ISSN 0001-6837.
- [19] *Farmakologie*. Praha: Grada Publishing, 2018. 962 s. ISBN 978-80-247-5558-8. Kolektivní monografie.
- [20] MAREK, Josef. *Farmakoterapie vnitřních nemocí*. Praha: Grada, 1994. 502 s. ISBN 80-7169-147-X.
- [21] *Český lékopis 2009: Pharmacopoea Bohemica MMIX (Ph. B. MMIX)*. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-2994-7.

- [22] *Český lékopis 1997: Pharmacopoea bohemica MCMXCVII : (Ph. B. XCVII)*. 3. díl, Léčivé a pomocné látky, M-Z. Praha: Grada, 1997. 2141-3468 s. ISBN 80-7169-625-0.
- [23] LÜLLMANN, Heinz. *Barevný atlas farmakologie*. Vyd. 4., české. Praha: Grada, 2012. 366 s. ISBN 978-80-247-3908-3.
- [24] RABIŠKOVÁ, Miloslava. Perorální matricové tablety s řízeným uvolňováním léčiva. *Remedia*. **2007**. 17, 188-192. ISSN 2336-3541.
- [25] MARQUES, Margareth R.C. Enzymes in the Dissolution Testing of Gelatin Capsules. *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*. **2014**. 15 (6), 1410–1416. ISSN 1530-9932.
- [26] ZEMANOVÁ, Jarmila. *Příprava léků*. Praha: Avicenum, 1987.
- [27] DVOŘÁČKOVÁ, Kateřina, BAUTZOVÁ, Tereza, RABIŠKOVÁ, Miloslava. Disoluční studie v hodnocení perorálních léků s řízeným uvolňováním léčiva. *Chemické Listy*. **2011**. 105, 50-54. ISSN 1213-7103.
- [28] MAUGER, John W. Physicochemical Properties of Buffers Used in Simulated Biological Fluids with Potential Application for In Vitro Dissolution Testing: A Mini-review. *Dissolution Technologies*. **2017**. 24 (3), 38-51. ISSN 1521-298X.
- [29] GRUBEROVÁ, Lucie, KRATOCHVÍL, Bohumil. Disoluční přístroje pro simulaci in vivo podmínek. *Chemické Listy*. **2015**. 109, 908-912. ISSN 1213-7103
- [30] KRIEG, Brian J., TAGHAVI, Seyed Mohammad, AMIDON, Gordon L., AMIDON, Gregory E. In Vivo Predictive Dissolution: Comparing the Effect of Bicarbonate and Phosphate Buffer on the Dissolution of Weak Acids and Weak Bases. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2015**. 104 (9), 2894-2904. ISSN 0022-3549.
- [31] WANG, Qingxi, MA, Decheng, HIGGINS, John P. Analytical Method Selection for Drug Product Dissolution Testing. *Dissolution Technologies*. **2006**. 13 (3), 6-13. ISSN 1521-298X.