

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Marie Nevyhoštěná

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Disoluční test málo rozpustného léčiva při různých pH

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Marie Nevyhoštěná**
Osobní číslo: **C17076**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Téma práce: **Disoluční test málo rozpustného léčiva při různých pH**
Zadávací katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte stručnou literární rešerši na téma: disoluční zkouška málo rozpustných léčiv.
2. Připravte matricové tablety s obsahem zadané málo rozpustné účinné látky.
3. Proveďte disoluční zkoušku připravených tablet v disolučním médiu o pH 1,2, 4,5 a 6,8.
4. Na základě experimentálních dat zhodnoťte vliv pH na rychlost uvolňování účinné látky.
5. Výsledky zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah pracovní zprávy:

Rozsah grafických prací:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Václav Lochař, Ph.D.

Katedra fyzikální chemie

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2020**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2020**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.

děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.

vedoucí katedry

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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 7.7.2020

Marie Nevyhoštěná

Zde bych ráda poděkovala panu Ing. Václavovi Lochařovi, Ph.D. za pomoc, cenné rady a získané zkušenosti při měření a psaní bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za podporu po celou dobu studia.

ANOTACE

Tato práce je zaměřena na studium vlivu složení a pH na rychlost uvolňování účinné látky z nalisovaných matricových tablet dvojího typu. Jedna formulace obsahuje alginát sodný, druhá alginát vápenatý. Jako modelová málo rozpustná účinná látka byla použita kyselina salicylová. Zjištěné závěry byly získány na základě regresní analýzy disolučních profilů. Rovněž byly stanoveny indexy bobtnání, eroze, míra absorpce disolučního média a zbytková hmota tablet. Bylo zjištěno, že složení formulací má zanedbatelný vliv na rychlost uvolňování kyseliny salicylové, avšak pH disolučního média má zásadní vliv na rychlost uvolňování kyseliny salicylové i na samotný mechanismus uvolňování.

KLÍČOVÁ SLOVA

disoluční zkouška, málo rozpustná léčiva, kyselina salicylová, pH v GIT, chitosan, alginát sodný/vápenatý

TITLE

Dissolution test of poorly soluble drug at different pH

ANNOTATION

The aim of this thesis is to study the effect of composition and pH on the release rate of the active substance from the pressed matrix tablets of the dual type. One formulation contains sodium alginate, the other calcium alginate. Salicylic acid was used as model API. Results were obtained based on regression analysis of dissolution tests. Swelling indexes, indexes of erosion, rate of absorption of the dissolution medium and residual weight of the tablet were also determined. It has been found that the composition of the formulations has a negligible effect on the release rate of salicylic acid, but the pH of the dissolution medium has a significant effect on the release rate of salicylic acid as well as on the release mechanism itself.

KEYWORDS

dissolution test, poorly soluble drugs, salicylic acid, pH in GIT, chitosan, sodium/calcium alginate

OBSAH

Úvod.....	13
1 Teoretická část.....	14
1.1 Zkouška disoluce pevných lékových forem.....	14
1.1.1 Přístroje.....	14
1.2 pH v GIT.....	16
1.3 Málo rozpustná léčiva.....	17
1.3.1 Biofarmaceutický klasifikační systém (BCS).....	17
1.3.2 Transformace málo rozpustných léčiv.....	20
1.3.3 Mezoporézní systémy pro špatně rozpustná léčiva.....	22
1.4 Léčiva.....	23
1.4.1 Farmakodynamika versus farmakokinetika.....	23
1.4.2 Pochody léčiv.....	24
1.5 Matricové tablety.....	25
1.5.1 Chitosan.....	25
1.5.2 Alginát sodný/vápenatý.....	26
1.6 Kyselina salicylová (SA).....	27
1.6.1 Základní charakteristiky kyseliny salicylové.....	27
1.6.2 Absorpce, mechanismus a nežádoucí účinky SA.....	29
1.6.3 Farmakokinetika SA.....	30
1.6.4 Historie salicylátů a syntéza SA.....	30
1.6.5 Biosyntéza SA.....	31
1.7 Komerční léčiva obsahující kyselinu salicylovou.....	33
1.7.1 Alpicort.....	34
1.7.2 Belosalic.....	34
1.7.3 Diprosalic.....	35
2 Praktická část.....	36

2.1	Laboratorní přístroje a pomůcky.....	36
2.2	Použité chemikálie a roztoky.....	36
2.3	Složení, homogenizace a lisování tablet.....	37
2.4	Příprava disolučních médií.....	38
2.4.1	Disoluční médium o pH 1,2.....	38
2.4.2	Disoluční médium o pH 4,5.....	38
2.4.3	Disoluční médium o pH 6,8.....	39
2.5	Postup disoluční zkoušky.....	39
2.6	UV/VIS spektroskopie.....	39
2.7	Kalibrační křivka.....	40
2.8	Zkouška pevnosti tablet.....	40
2.9	Indexy bobtnání a eroze.....	41
3	Výsledky.....	42
3.1	Pevnost.....	42
3.2	Barevná křivka.....	43
3.3	Disoluční profily.....	44
3.4	Mechanismus uvolňování.....	47
3.5	Vliv složení na rychlost uvolňování účinné látky.....	48
3.6	Vliv pH na rychlost uvolňování účinné látky.....	48
3.7	Indexy bobtnání a eroze.....	50
4	Závěr.....	53
5	Bibliografie.....	54

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Zařazení 130 sloučenin dle BCS ^[10]	19
Tabulka 2 Významné vlastnosti	27
Tabulka 3 Rozpustnost v hmotnostních procentech ^[21]	28
Tabulka 4 Akutní toxicita	28
Tabulka 5 Přehled ekotoxicit ^[22]	28
Tabulka 6 Přehled komerčních léčiv s SA ^[27]	33
Tabulka 7 Složení jednotlivých formulací tablet v %	37
Tabulka 8 Naměřené a zprůměrované hodnoty charakteristik pro formulaci F1	42
Tabulka 9 Naměřené a zprůměrované hodnoty charakteristik pro formulaci F2	42
Tabulka 10 Regresní analýza disolučních profilů	47
Tabulka 11 Změny hmotností tablet při disoluční zkoušce, formulace F1	50
Tabulka 12 Změny hmotností tablet při disoluční zkoušce, formulace F2	50
Tabulka 13 Vypočítané hodnoty pro formulaci F1	51
Tabulka 14 Vypočítané hodnoty pro formulaci F2	51

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1 Příklad s košíčky	15
Obrázek 2 Hodnoty pH v různých částech GIT; převzato z ^[9]	17
Obrázek 3 Biofarmaceutický klasifikační systém; převzato z ^[10]	18
Obrázek 4 Transformace vybraných málo rozpustných léčiv; převzato z ^[3]	21
Obrázek 5 Strukturní vzorec; převzato z ^[16,21]	27
Obrázek 6 Mechanismus působení SA; převzato z ^[24]	29
Obrázek 7 Schéma farmakokinetiky SA; převzato z ^[23]	30
Obrázek 8 Schéma syntézy SA; převzato z ^[11]	31
Obrázek 9 Biosyntéza SA, AAO = aldehyd oxidáza, BA2H = 2-hydroxyláza kyseliny benzoové, CM = chorismát mutáza, ICS = isochorismát syntáza, IPL = isochorismát pyruvát-lyáza, otazníky značí enzymy, u kterých se předpokládá, že provedou příslušnou přeměnu; převzato z ^[25]	32
Obrázek 10 Disoluční aparatura SOTAX AT 7 Smart, Obrázek 11 Ruční lis H-62	36
Obrázek 12 Čerstvě nalisované tablety	38
Obrázek 13 Kalibrační křivka SA, pH 4,5	40
Obrázek 14 Pevnostroj SOTAX	41
Obrázek 15 Barevná křivka při pH 1,2	43
Obrázek 16 Barevná křivka při pH 4,5	43
Obrázek 17 Barevná křivka při pH 6,8	44
Obrázek 18 Disoluční profil formulace F1, disoluční médium pH 1,2+6,8	45
Obrázek 19 Disoluční profil formulace F2, disoluční médium pH 1,2+6,8	45
Obrázek 20 Disoluční profil formulace F1, disoluční médium pH 4,5	46
Obrázek 21 Disoluční profil formulace F2, disoluční médium pH 4,5	46
Obrázek 22 Vliv pH u formulace F1, černá řada – pH 1,2+6,8, červená řada – pH 4,5 ...	49
Obrázek 23 Vliv pH u formulace F2, černá řada – pH 1,2+6,8, červená řada – pH 4,5 ...	49
Obrázek 24 Formulace F1 po nalisování, po disolučním testu a po vysušení, pH 4,5	52
Obrázek 25 Formulace F2 po nalisování, po disolučním testu a po vysušení, pH 4,5	52

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

API	aktivní účinná složka
SA	kyselina salicylová
ASA	kyselina acetylsalicylová
BCS	biofarmaceutický klasifikační systém
GIT	gastrointestinální trakt
NaCl	chlorid sodný
HCl	kyselina chlorovodíková
KH_2PO_4	dihydrogenfosforečnan draselný
NaOH	hydroxid sodný
IL	iontové kapaliny

ÚVOD

Disoluční zkouškou lze stanovit farmakokinetický profil léčiva. Zkouška disoluce pevných lékových forem je běžná lékopisem předepsaná zkouška. Používá se pro stanovení množství uvolněného léčiva za čas při přesně definovaných podmínkách, mezi nejdůležitější patří pH disolučního média a teplota. ^[1] Rozpustnost léčiva jako celku i samotné aktivní účinné složky (API) hraje důležitou roli při uvolňování aktivní účinné látky z pevných lékových forem. Dnes se často užívá průtočné disoluční zkoušky samotné API, kdy je tudíž možné zkoumat její rozpustnost a navrhnout vhodné excipienty pro tvorbu pevné lékové formy.

Většina používaných léčiv je málo rozpustná, dle definice lékopisu se 1 gram těžce rozpustné látky rozpustí ve 100–1000 ml rozpouštědla (při teplotě 15–25 °C). ^[1] To je příčina toho, že se z nich těžko uvolňuje aktivní účinná složka, proto je obecně snaha jejich rozpustnost zvýšit. Tím se zajistí větší biologická dostupnost a dávky léčiva lze s vyšší rozpustností snižovat. Zvýšit rozpustnost je možné několika způsoby, např. převedení na amorfni formu, použitím surfaktantu (tenzidu) nebo kosolventu, tvorbou komplexů, transformací léčiv či použitím mezoporézních systémů. ^[2,3,4] Surfaktanty jsou látky relativně nízké molekulové hmotnosti, které snižují povrchové napětí na fázovém rozhraní, a dělí se na neionogenní, anionaktivní a kationaktivní. Jako příklad neionogenního surfaktantu lze uvést poly(oxyethylen)sorbitanmonooleát, anionaktivního surfaktantu laurylsulfát sodný a kationaktivního surfaktantu cetyltrimethylamonium bromid. Kosolvent je s vodou mísitelná kapalina, která je schopna narušit vnější vazby vody a solubilizovat v ní tak léčivo. Mezi nejpoužívanější kosolventy patří glycerol, ethanol a propylenglykol. ^[2] Jedna z novějších možností transformací léčiv je příprava iontových kapalin. Mezi nejběžnější mezoporézní materiály patří mezoporézní křemík a mezoporézní oxid křemičitý. ^[3,4]

Cílem práce bylo prostudovat uvolňování málo rozpustného léčiva z matricových tablet s obsahem odlišných biopolymerů v závislosti na pH. Úkolem bylo nalisovat tablety s různým složením matrice a provést disoluční test v disolučních médiích o pH 1,2; 4,5 a 6,8, simulující prostředí gastrointestinálního traktu. Kyselina salicylová byla vybrána jako modelové málo rozpustné léčivo. Nedílnou součástí bylo provedení zkoušky pevnosti, vypočítání indexů bobtnání, stupňů eroze, míry absorpce disolučního média a zbytkové hmoty.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Zkouška disoluce pevných lékových forem

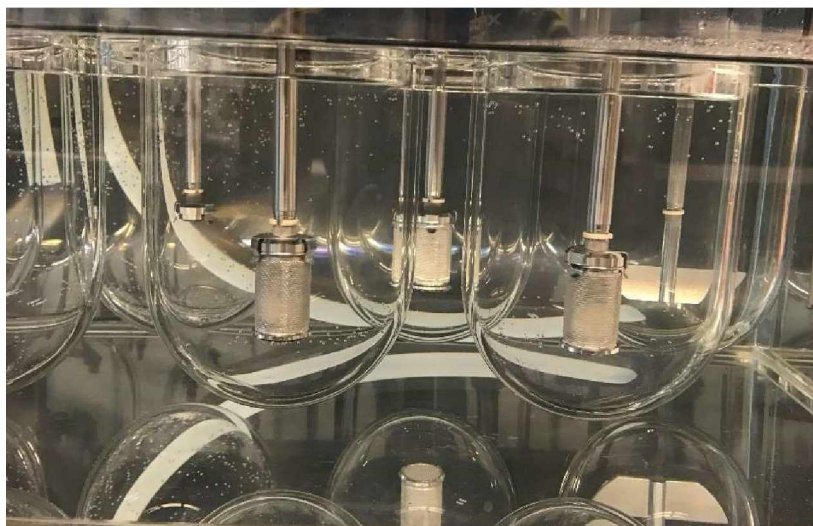
Touto zkouškou se stanoví množství uvolněné účinné látky z pevné lékové formy v definované kapalině a předepsaném čase. Lze použít přístroje s míchadly, přístroje s průtokovou celou nebo přístroje s košíčky.^[1]

1.1.1 Přístroje

Máme 3 základní typy přístrojů: košíčkový, pádelkový a přístroj s průtokovou celou. Všechny části přístroje, které se dostávají do styku se zkoumaným vzorkem či disolučním médiem, jsou chemicky inertní (neadsorbují zkoumané vzorky, nereagují a ani neinterferují s nimi).

1.1.1.1 Přístroj s košíčky

Přístroj (obrázek 1) se skládá z válcovité nádoby s kulatým dnem nejčastěji z borosilikátového skla o objemu 1 l, která je opatřena víkem se středovým otvorem pro hnací hřídel, otvorem pro teploměr a otvorem pro odběr a přidávání disoluční kapaliny. Další částí přístroje je již zmíněná hnací hřídel, která je na spodní části opatřena válcovitým košíčkem. Košíček je tvořen dvěma částmi: horní přírubou, která se nachází na konci hnací hřídele a je opatřena jedním otvorem, a tubusem košíčku, do kterého se vkládá zkoumaný vzorek. Tubus košíčku je tvořen síťkou válcovitého tvaru zasazenou nahoře i dole do úzkých kovových prstenců. Dno košíčku je umístěno zhruba 25 mm ode dna nádoby. Horní konec hřídele je napojen na motorovou jednotku s regulací otáček, rotace musí být plynulá a bez jakéhokoli chvění. Poslední částí přístroje je vodní lázeň, která by měla mít během celé zkoušky teplotu 37 °C ($\pm 0,5$ °C).^[1]



Obrázek 1 Příklad s košíčky

1.1.1.2 Příklad s míchadly (pádelkový)

Příklad se skládá z válcovité nádoby, míchadla a z vodní lázně (viz dříve). Míchadlo se skládá z hnací hřídele a dvou lopatek na jejím spodním konci. Spodní okraj lopatek prochází spodním koncem hřídele. Hnací hřídel musí být vystředěna a její spodní konec je umístěn cca 25 mm ode dna nádoby. Horní konec je opět napojen na motorovou jednotku s regulací otáček, míchání musí být rovněž plynulé bez viditelného chvění.

1.1.1.3 Příklad s průtokovou celou

Příklad se skládá ze zásobní nádoby na disoluční kapalinu, z pumpy, která vytlačuje disoluční kapalinu nahoru, z průtokové cely a z vodní lázně. Průtoková cela z průhledného materiálu je umístěna vertikálně s filtračním zařízením. Průtoková cela je především určena pro lipofilní lékové formy (např. měkké želatinové tobolky). Cela se skládá ze tří vzájemně spojitelných částí: dolní části, střední části a horní části. Dolní část zahrnuje dvě sousedící komůrky, které jsou napojené na průtokové zařízení. Disoluční kapalina protéká přes jednu komůrku a jejím vrchem poté přetéká do druhé komůrky, ze které stéká do otvoru o malé světlosti, odtud proudí vzhůru k filtračnímu zařízení. Ve střední části se rozkládá dutina, kde se hromadí lipofilní pomocné látky. Kovová mřížka zde slouží jako hrubý filtr. Konečně horní část cely, ta obsahuje filtrační zařízení pro filtry jak papírové, tak ze skleněných vláken či celulózy.^[1]

Při použití přístroje s míchadlem či s košíčkem se objem disolučního média pohybuje obvykle mezi 500 až 1000 ml. Rychlost míchání je obvykle v rozmezí 50 až 100 ot/min, nesmí ovšem přesáhnout 150 ot/min. U přístroje s průtokovou celou se průtok kapaliny nastaví většinou v rozmezí 4 až 50 ml/min.

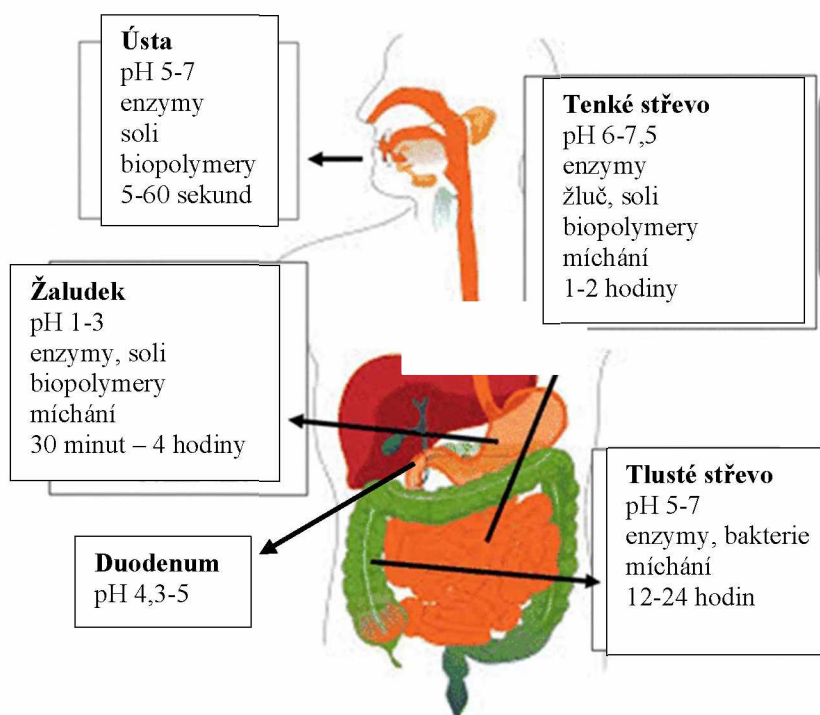
Jako médium se obecně používá vodné prostředí. Složení daného média se pečlivě vybírá na základě fyzikálně-chemických vlastností léčivých a pomocných látek. Rozhodující jsou též podmínky, kterým bude léková forma pravděpodobně vystavena po jejím podání. To se vztahuje především k hodnotě pH (jak se mění pH v jednotlivých částech lidského těla) a iontové síle disolučního média. ^[1]

1.2 pH v GIT

Při disolučních testech se používají disoluční média o různém pH, hodnoty pH těchto médií se pohybují od 1 do 8. ^[1] Léčivo zahajuje svůj vstup do těla v dutině ústní (možné jsou i jiné začátky) a postupuje do žaludku, kde je pH v rozmezí 1-3, tedy kyselé. Toto kyselé prostředí je způsobené přítomností kyseliny chlorovodíkové (HCl). ^[5] Zde se používá nejčastěji disoluční médium o pH 1,2. ^[1]

Kyselý žaludeční obsah se cestou do dvanáctníku neutralizuje, což je nezbytné z několika důvodů: pankreatické enzymy jsou inaktivovány při nízkém pH, nejzranitelnější je lipáza, která je nevratně denaturovaná při pH 3, dále rozpustnost žlučových kyselin a jejich micel klesá při nízkém pH. Další důvod je, že neionizovaná difúze žlučových kyselin přes horní tenkou střevní sliznici se zvyšuje s klesajícím lumenálním pH, a posledním důvodem je, že kyselina způsobuje poškození střevního epitelu v různé míře, od mikroskopického edému, infiltraci zánětlivými buňkami a snížení výšky klků na makroskopickou ulceraci a nekrózu. ^[6]

Hodnota pH se v duodenu zvyšuje na hodnotu 4,3 až 5 v závislosti na tom, zdali je člověk nalačno či po jídle, kyselost se snižuje. ^[7] Abychom napodobili prostředí dvanáctníku, používáme disoluční médium o pH 4,5. ^[1] Následně přechází do tenkého střeva, kde se pH pohybuje v rozmezí 6-7. ^[8] Prostředí se tedy stává mírně alkalické. Při disoluční zkoušce se používá médium o pH 6,8, které simuluje prostředí tenkého střeva. ^[1]



Obrázek 2 Hodnoty pH v různých částech GIT; převzato z^[9]

U některých disolučních zkoušek je nutné v jejich průběhu zvýšit pH. Dosáhnout požadované hodnoty pH lze několika způsoby. Je možná výměna jednoho tlumivého roztoku jiným (úplná výměna) nebo lze odebrat pouze polovinu média v každém odběrovém intervalu a nahradit tlumivým roztokem o vyšším pH (metoda poloviční výměny). Posledním způsobem je přidání dávky práškové směsi obsahující trometamol a bezvodý octan sodný. Pro plynulou změnu pH lze využít přístroje s průtokovou celou. Pro testování přípravků s účinnými látkami špatně rozpustnými ve vodě může být nezbytná úprava média. V těchto případech je vhodné použít nízké koncentrace povrchově aktivní látky a také se vyvarovat použití organických rozpouštědel.^[1]

1.3 Málo rozpustná léčiva

1.3.1 Biofarmaceutický klasifikační systém (BCS)

Orální absorpce léčiv je zásadně závislá na rozpustnosti ve vodě a gastrointestinální permeabilitě. Rozsáhlý výzkum těchto parametrů vedl k vytvoření BCS, který primárně rozděluje léčiva do 4 skupin (obrázek 3).^[10]

	Vysoce rozpustná	Málo rozpustná
Vysoce propustná	<u>1. skupina</u> Vysoce rozpustná Vysoce propustná Prudká disoluce	<u>2. skupina</u> Málo rozpustná Vysoce propustná
Málo propustná	<u>3. skupina</u> Vysoce rozpustná Málo propustná	<u>4. skupina</u> Málo rozpustná Málo propustná

Obrázek 3 Biofarmaceutický klasifikační systém; převzato z [10]

Sloučeniny 1. skupiny vykazují jak vysokou rozpustnost, tak vysokou propustnost. Sloučeniny 2. skupiny jsou vysoce propustné a špatně rozpustné. 3. skupina se vyznačuje vysokou rozpustností, a naopak špatnou propustností. Konečně 4. skupina má jak nízkou propustnost, tak i rozpustnost.

Centrálně zahrnující permeabilitu a rozpustnost, cílem BCS je umožnit predikci *in vivo* farmakokinetické interpretace léčiv z *in vitro* měření permeability a rozpustnosti. V roce 2000 Správa jídla a léčiv vyhlásila BCS jako vědecky založený přístup, který umožňuje vzdání se *in vivo* biologické dostupnosti a testování bioekvivalence pro pevné lékové formy s okamžitým uvolňováním pro sloučeniny 1. skupiny, tedy vysoce rozpustná a vysoce propustná léčiva, pokud tyto léčivé produkty vykazují rychlé rozpouštění. Stručně řečeno, bioekvivalence je dosaženo, pokud generický produkt vykazuje stejnou míru a rozsah biologické dostupnosti s mírou vyhodnocenou z hlediska c_{max} a rozsahem měřeným z hlediska AUC (plocha pod křivkou). [10]

1.3.1.1 Struktura BCS

Jak bylo řečeno, BCS třídí léčiva na základě jejich rozpustnosti versus permeability. Léčivá látka se považuje za „vysoce rozpustnou“, pokud je nejvyšší dostupná dávka na trhu rozpustná ve 250 ml vodného média v rozmezí pH 1 - 7,5 při 37 °C. Za „vysoce propustné“ se léčivo považuje, pokud je míra absorpce u lidí alespoň 90 % z podané dávky, která byla stanovena na hmotnostní bilanci nebo srovnána s intravenózní referenční dávkou.

Klasifikační struktura BCS je považována za užitečnou v raných stádiích výzkumu objevů léčiv. Jeho aplikace zlepšuje jak predikci absorpce, tak dispozice nových molekulárních entit. V roce 2005 Wu a Benet vytvořili tabulku 130 sloučenin ve čtyřech skupinách dle BCS (tabulka 1). Sestavenému seznamu sloučenin předcházela rovněž rozsáhlý výzkum. Ukázalo se, že BCS poskytuje další prediktivní užitečnost, a to jeho aplikaci se zaměřením na účinek potravin a léčiv. ^[10]

Tabulka 1 Zařazení 130 sloučenin dle BCS ^[10]

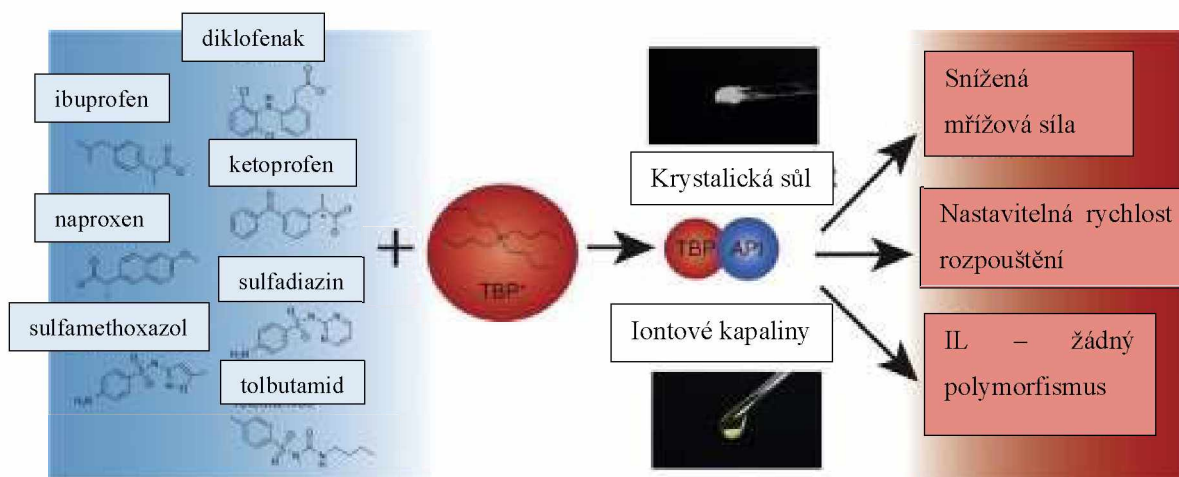
Vysoká permeabilita	Vysoká rozpustnost		Nízká rozpustnost	
	Třída 1		Třída 2	
	Abakavir	Ketoprofen	Amiodaron	Itrakonazol
Acetaminofen	Ketorolak	Atorvastatin	Ketokonazol	
Acyklovir	Labetalol	Azitromycin	Lansoprazol	
Amilorid	Levodopa	Karbamazepin	Lovastatin	
Amitriptylin	Levofloxacin	Karvedilol	Mebendazol	
Antipyrin	Lidokain	Chlorpromazin	Naproxen	
Atropin	Lomefloxacin	Ciprofloxacin	Nelfinavir	
Buspiron	Meperidin	Cisaprid	Ofloxacin	
Kofein	Metoprolol	Cyklosporin	Oxaprozin	
Kaptopril	Metronidazol	Danazol	Fenazopyridin	
Chlorochin	Midazolam	Dapson	Fenytoin	
Chlorfeniramin	Minocyklin	Diklofenak	Piroxikam	
Cyklofosfamid	Misoprostol	Diflunisal	Raloxifen	
Desipramin	Nifedipin	Digoxin	Ritonavir	
Diazepam	Fenobarbital	Erythromycin	Sachinavir	
Diltiazem	Fenylalanin	Flurbiprofen	Sirolimus	
Difenhydramin	Prednisolon	Glipizid	Spironolakton	
Disopyramid	Primachin	Glyburid	Takrolimus	
Doxepin	Promazin	Griseofulvin	Talinolol	
Doxycyklin	Propranolol	Ibuprofen	Tamoxifen	
Enalapril	Chinidin	Indinavir	Terfenadin	

	Efedrin	Rosiglitazon	Indometacin	Warfarin
	Ergonovin	Kyselina salicylová		
	Etambutol	Theofylin		
	Ethinylestradiol	Kyselina valproová		
	Fluoxetin	Verapamil		
	Glukóza	Zidovudin		
	Imipramin			
Nízká permeabilita	Třída 3		Třída 4	
	Acyklovir	Fexofenadin	Amfotericin B	
	Amilorid	Kyselina folinová	Chlorothiazid	
	Amoxicilin	Furosemid	Chlorthalidon	
	Atenolol	Ganciklovir	Ciprofloxacín	
	Atropin	Hydrochlorothiazid	Kolistin	
	Budesonid	Lisinopril	Furosemid	
	Bisfosfonáty	Metformin	Hydrochlorothiazid	
	Kaptopril	Methotrexát	Mebendazol	
	Cefazolin	Nadolol	Methotrexát	
	Cetirizin	Peniciliny	Neomycin	
	Cimetidin	Pravastatin		
	Ciprofloxacín	Ranitidin		
	Kloxacilin	Tetracykliny		
	Dikloxacilin	Trimethoprim		
	Erytromycin	Valsartan		
	Famotidin	Zalcitabin		

1.3.2 Transformace málo rozpustných léčiv

Perorální podání vyžaduje téměř úplné rozpuštění API v místě její absorpce a prevenci srážení během gastrointestinálního průchodu až do úplného vstřebání, proces obvykle trvá asi čtyři hodiny. Léčiva špatně rozpustná ve vodě se vyznačují špatnou biologickou dostupností a často nepřijatelnými farmakokinetickými variabilitami. Mezi farmaceutické strategie,

které jsou bez modifikace chemické struktury API, patří redukce velikosti částic, tvorba kokystalů, výběr polymorfů, komplexace, tvorba solí, solubilizace nebo prezentace v amorfní formě, např. jako molekulární disperze v polymerních nosičích, čímž se snižuje interakce mezi molekulami API. Tyto dávkové formy mohou vést ke zlepšeným rychlostem rozpouštění, ale obvykle je zhoršena stabilita roztoku s možným srážením, než je API dostatečně absorbována. [3]



Obrázek 4 Transformace vybraných málo rozpustných léčiv; převzato z [3]

Jednoduchý koncept kombinující tvorbu solí a redukcí interakce mezi molekulami API je příprava iontové kapaliny (IL) viz obrázek 4. Bylo prokázáno, že tento přístup stabilizuje rozpuštěné API v přesycených stavech několik hodin po rozpuštění z amorfního pevného stavu. IL jsou definovány jako organické soli s teplotou tání pod 100 °C. Během posledních let byla aplikace iontových kapalin rozšířena z rozpouštědel v „zelené“ chemii a katalyzátorů pro syntézu farmaceutických přípravků s konečným cílem zlepšit rozpouštění, rozpustnost a biologickou dostupnost API a rovněž zabránit polymorfismu. [3]

Tetrabutylfosfonium (TBP) se mimo jiné používá k přípravě IL s kyselinou salicylovou a ibuprofenem. TBP soli, které byly připraveny pro několik kyselých API (diklofenak, ibuprofen, ketoprofen, naproxen, sulfadiazin, sulfamethoxazol a tolbutamid), měly za následek nižší teploty tání a teploty skelného přechodu (4 tekutiny a 3 krystalické pevné soli). Rychlosti rozpouštění, které byly zlepšeny až na faktor 1000 ve srovnání s odpovídající volnou kyselinou, a rozpustnosti byly efektivně ovlivněny vytvářením iontových kapalin, zejména iontových kapalin při pokojové teplotě. Zvýšení rychlosti rozpouštění bylo však na úkor zvýšené

hygroskopicitě. Závěrem lze říci, že tvorba iontových tekutin TBP nebo pevných solí z API je cenným konceptem, který řeší problémy rozpouštění a rozpustnosti ve vodě slabě rozpustných kyselých sloučenin. [3]

1.3.3 Mezoporézní systémy pro špatně rozpustná léčiva

Mezoporézní anorganické systémy jsou novou technologií, které lze využít ke zlepšení rozpustnosti a biologické dostupnosti špatně rozpustných léčiv. Jedná se o nedávný pokrok ve výzkumu mezoporézních materiálů jako nosičů špatně rozpustných léčiv. Mezoporézní materiály mohou překonat problémy biologické dostupnosti spojené se špatnou rozpustností, navíc jsou bezpečné. Mezi nejběžnější mezoporézní materiály patří mezoporézní křemík a mezoporézní oxid křemičitý, který může být vyroben kontrolovanou sol-gel metodou za použití mnoha dostupných polymerních templátů. Jako příklad nového typu lze uvést “dendrimer na bázi anorganického mezoporézního oxidu křemičitého“ s radiálními a dendritickými kanálky pórů, který byl připraven metodou stratifikace bifáze olej-voda. Tato metoda umožňuje kontrolovat seskupení a růst pórů v důsledku pomalé difuze křemičitanů z olejové do vodné fáze, stejně tak v důsledku pomalé rychlosti hydrolyzy. Zajímavostí mezoporézního oxidu křemičitého dendrimeru je jeho výrazně rychlejší kinetika biodegradace, tj. je zcela degradován během 24 hodin. Jeho velká povrchová plocha je přínosem při adsorpci. Mezi ostatní mezoporézní materiály patří třeba mezoporézní uhlíkové materiály, mezoporézní oxid hlinitý. [4]

Zvýšení rychlosti rozpouštění špatně rozpustných léčiv při naplnění mezopór je založeno na dvou faktorech. Prvním je vyšší zdánlivá rozpustnost amorfní nebo nanokrystalické formy nabitého léčiva v pórech a druhým faktorem je větší povrchová plocha nabitého léčiva ve srovnání s krystalickými mikročásticemi léčiva. Podle rovnice Noyes-Whitney je rychlost rozpouštění přímo úměrná oběma těmito faktorům. Odhaduje se, že zjevná rozpustnost amorfní formy může být desetkrát až tisíc šestsetkrát vyšší než rozpustnost stabilní krystalické formy. Povrchová plocha ve styku s disolučním médiem se může ve srovnání s mikročásticemi krystalického léčiva zvětšit řádově tisíckrát.

Jedna z hlavních výhod mezoporézního dodávacího systému je ve zlepšení rozpouštění, které nezahrnuje chemické interakce mezi léčivem a nosičem. Proto je dodávací systém použitelný pro většinu kombinací léčivo-nosič. [4]

Mezi běžně používaná málo rozpustná léčiva patří atorvastatin, karbamazepin, kyselina salicylová, chlorpromazin, diklofenak, ibuprofen, indomethacin, naproxen, fenytoin, warfarin a jiné. ^[10,11] Kyselina salicylová se používá jako modelové málo rozpustné léčivo (API). ^[12,13] Patří mezi neionizovatelná léčiva. ^[14] Má vhodné fyzikální i chemické vlastnosti. ^[12] Jeden z hlavních důvodů jejího rozsáhlého použití je dobrá dostupnost a nízká cena v porovnání s ostatními málo rozpustnými léčivy. S dostatečnou čistotou je na trhu dostupných 500 g za cca 1000 Kč. ^[15]

1.4 Léčiva

1.4.1 Farmakodynamika versus farmakokinetika

Vzájemné působení léčiva a organismu bývá klasicky členěno do dvou kategorií: farmakokinetika a farmakodynamika. Působení léčiva na organismus nazýváme farmakodynamické pochody. Látky dělíme podle typu interakce s receptorem na agonisty, které po navázání na receptor přímo či nepřímo vyvolají nějaký účinek, a antagonisty, které svou vazbou na receptor brání vazbě jiných molekul a snižují tak jejich účinek. ^[16]

Naopak působení organismu na léčivo označujeme jako farmakokinetické pochody. Zahrnují absorpci léčiva z místa podání do krve, distribuci do místa působení, permeabilitu přes různé bariéry a konečně eliminaci léčiva z organismu. Permeabilita zajišťuje přemístování látky v organismu čtyřmi mechanismy. Prvním je difuze vodným prostředím, která obvykle probíhá podle koncentračního gradientu látky. Druhým mechanismem je difuze lipidovým prostředím. V případě slabých kyselin a zásad se schopnost pronikat mezi vodným a lipidovým prostředím mění v závislosti na pH prostředí. Jako třetí mechanismus označujeme speciální přenašeče, které přemísťují látky aktivním transportem nebo usnadněnou difuzí. Příkladem membránového přenašeče je P-53 glykoproteinová pumpa. Posledním mechanismem je endocytóza a exocytóza. Některé látky jsou tak velké, že mohou do buňky pronikat pouze endocytózou a to tak, že buněčná membrána obklopí látku a vtáhne ji dovnitř. Opačným procesem je exocytóza, kdy je látka vypuzena ven z buňky do extracelulárního prostoru. ^[16]

1.4.2 Pochody léčiv

Léčivo po podání až do vyloučení projde v organismu řadou procesů, z nichž nejvýznamnější je resorpce, biotransformace, eliminace a exkrece.

1.4.2.1 Resorpce léčiv

Resorpce léčiv probíhá zejména třemi možnými místy, a to kůží, trávicím ústrojím a plícemi. Kůže resorbuje hlavně léčiva rozpustná v tucích. Trávicí ústrojí se skládá z ústní sliznice a žaludeční sliznice. Ústní sliznice umožňuje absorpci především lipidní povahy, které se vstřebávají přímo do krevního řečiště. Žaludeční sliznicí se dobře resorbují lipofilní sloučeniny jako alkohol, salicyláty, barbituráty. Plícemi se resorbují jak plyny, tak i kapaliny formou aerosolů. Touto cestou často dochází k absorpci látek ve vodě a tucích nerozpustných.^[17]

1.4.2.2 Biotransformace léčiv

Většina léčiv se v organismu metabolizuje procesy, kterým se říká biotransformace. Játra jsou nejvýznamnějším detoxikačním orgánem.^[17] Obecně se lipofilní léčiva transformují na polárnější, tedy na látky snadněji se vylučující.^[16] Biotransformace zahrnuje hydrolýzu, oxidaci, redukci, alkylaci, dealkylaci a konjugaci s nějakou kyselinou. Produkt biotransformace ovšem nemusí být méně toxický (účinný), někdy je výsledkem dokonce účinnější sloučenina a proces pak nazýváme bioaktivace.^[17]

Při bioaktivaci získávají sloučeniny větší aktivitu nebo toxické vlastnosti, a to včetně cytotoxických, mutagenních, teratogenních nebo kancerogenních účinků. Tyto účinnější meziprodukty jsou toxické pro různé orgány. Jakmile jsou zahlceny nebo poškozeny alternativní detoxikační mechanismy a pokud už je omezena dostupnost dalších endogenních detoxikačních substrátů (např. glutathion), je pravděpodobný vznik orgánové toxicity či kancerogeneze.^[16]

1.4.2.3 Eliminace léčiv

Eliminace z organismu probíhá nejčastěji kinetikou prvního řádu. Za stejnou dobu se vždy vyloučí stejné procento původního množství léčiva. Rychlost eliminace charakterizuje biologický poločas, tedy doba, za kterou se vyloučí polovina původně přítomného množství.^[17]

1.4.2.4 Exkrece léčiv

Vylučování (=exkrece) léčiv a jejich metabolitů z organismu je hlavně funkcí ledvin. Jedná se o tyto mechanismy: glomerulární filtrace, tubulární sekrece, tubulární zpětná pasivní

difuze a tubulární aktivní reabsorpce. Dále existuje vylučování trávicím ústrojím (kyselým žaludečním sekretem, zásaditým střevním sekretem a sliznicí tlustého střeva) a rovněž vylučování jinými cestami (např. plícemi, mlékem, potem).^[17]

Pozvolného vstřebávání až vylučování léčiv lze dosáhnout použitím tablet s prodlouženým uvolňováním léčiva. Tableta léčiva se obecně skládá z účinné složky (API) a excipientů. Excipienty jsou látky pomocné. Patří mezi ně lubrikanty, plniva, pojiva, nosné polymery, modifikátory chuti a jiné.

1.5 Matricové tablety

Matricové tablety jsou často využívanou lékovou formou zajišťující prodloužené uvolňování léčiva. Charakterizace těchto tablet spočívá v rovnoměrné dispergaci léčiva v nosné pomocné látce. Podle charakteru této nosné pomocné látky se dělí na hydrofilní gelové matrice (hydrofilní bobtnající polymery), lipofilní matrice (tuky a vosky), nerozpustné (skeletové) matrice (ethylcelulóza) a směsné matrice, které jsou kombinací různých předchozích typů nosných pomocných látek.^[18] Mezi běžně používané nosné pomocné látky patří hypromelóza, hydroxypropylmethylcelulóza (HPMC), glycerol-dibehenát, ethylcelulóza. Čím dál častěji se dává přednost přírodním polymerům, jako je chitosan či alginát.

1.5.1 Chitosan

Chitosan je derivátem chitinu. Chitin je obvykle izolován ze schránek mořských korýšů, které tvoří odpad při zpracování mořských plodů. Po extrakci se chitin ošetří kyselinou, aby se odstranil uhličitan vápenatý. Následným alkalickým ošetřením se odstraní proteiny a depigmentací se odstraní barviva. Chitosan se připravuje hydrolýzou chitinu v zásaditém prostředí za zvýšené teploty. Dochází k částečné deacylaci působením hydroxidu sodného nebo draselného.

Chitosan a jeho deriváty slouží ke zlepšení vlastností farmaceutických přípravků. Mezi vlastnosti chitosanu patří biologická rozložitelnost, nízká toxicita a dobrá biologická kompatibilita. Chitosan má velkou povrchovou plochu, porézní strukturu a plasticky deformující vlastnost, tyto faktory zvyšují nezbytnou vazbu částic a lisovatelnost. Optimálních vlastností je dosaženo za pomoci zpracování chitosanu s jinými pomocnými látkami (např. alginát).

Chitosan je používán v chirurgických šicích materiálech, zubních implantátech, obnově kostí, kontaktních čočkách, řízeném uvolňování léčiv pro zvířata a lidi a jako zapouzdřovací materiál. Široce se používá jako pojivo pro přímo lisované tablety, dezintegrační činidlo, granulační činidlo či nosič pro přípravky s prodlouženým uvolňováním. Chitosan má sice vysokou absorpční kapacitu vody, ale postrádá dobré tokové vlastnosti a stlačitelnost. Omezeně se také používá jako plnivo v přímo lisovaných tabletách, což ovšem vede k tabletám s velmi nízkou mechanickou pevností.^[19]

1.5.2 Alginát sodný/vápenatý

Algináty jsou přírodní polysacharidové polymery izolované z hnědých mořských řas (*Phaeophyceae*). Mořské řasy jsou extrahovány zředěným alkalickým roztokem, který solubilizuje přítomnou kyselinu alginovou. Volná kyselina alginová se získá zpracováním výsledné husté a viskózní hmoty minerálními kyselinami. Kyselina alginová pak může být převedena na sůl, např. alginát sodný je hlavní běžně používanou formou. Kyselina alginová a její sodné a vápenaté soli jsou považovány za obecně netoxické a biokompatibilní. Alginát je také možno snadno převést do gelu v přítomnosti dvojmocného kationtu jako je iont vápníku.

V systému polymerní matrice je léčivo homogenně dispergováno v polymerní matici regulující rychlost. Když jsou takové systémy vystaveny disolučnímu médiu, uvolňování léčiva je modulováno difuzí prostřednictvím bobtnání matrice a erozi na periferii matrice. V systémech založených na alginátu sodném zesítěném chloridem vápenatým tvoří gradient osmotického tlaku mezi alginátovým gelem a prostředím důležitý faktor v procesu bobtnání. Za kyselých podmínek (např. v žaludku) téměř nedochází k bobtnání kuliček. Lék je pravděpodobně uvolňován difuzí nerozpustnou maticí. Za neutrálních podmínek (např. ve střevě) kuličky bobtnají, uvolňování léčiva závisí na procesu bobtnání a eroze. Schopnost bobtnání alginátu vápenatého bylo důkladně využito pro vývoj systému pro podávání léků s řízeným uvolňováním s více jednotkami. Alginátové gelové kuličky se zdají být nejúčinnější při retardaci léčiv při vyšších koncentracích alginátu, a pokud jsou algináty bohaté na kyselinu guluronovou. Konformace kyseliny guluronové poskytuje vysoký stupeň koordinace vápníku, a tak vytváří pevnější gely, které jsou méně náchylné k bobtnání a erozi.

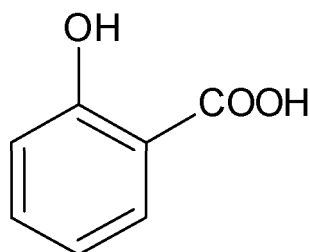
Algináty mají široké využití jako pomocné látky regulující rychlost v systémech pro dodávání léčiv, jako matrice pro biomolekuly a jako pomocné látky ve farmaceutických

přípravcích pro lokální podávání. Tento specifický polymer může být připraven v neutrální nebo nabitě formě, díky čemuž je kompatibilní s celou řadou látek. Schopnost tvořit dva typy gelu v závislosti na pH média má za následek velké rozdíly ve fyzikálně-chemických vlastnostech. Je vhodný pro lyofilizaci a přímé lisování tablet. Excipient může být získán v ultra čisté formě. Jde o vývoj systémů, které jsou schopné upravit uvolňování léčiva podle fyziologických potřeb (např. systémy reagující na pH založené na bobtnání polymeru, magneticky spouštěné dodávací systémy).^[20]

1.6 Kyselina salicylová (SA)

1.6.1 Základní charakteristiky kyseliny salicylové

Sumární vzorec je $C_7H_6O_3$ a molekulová hmotnost 138,12 g/mol.^[21,22] Procentuální zastoupení prvků činí C 60,87 %, H 4,38 % a O 34,75 %.^[21] Vzhledem je to bílá, krystalická látka.^[21,22] Vyskytuje se ve třech formách: krystaly, jemné jehly nebo krystalický prášek.^[21] Látka nevykazuje žádný zápach.^[22] Hodnota pH nasyceného vodného roztoku je 2,4 při 20 °C. Identifikační číslo CAS je 69-72-7.^[21,22] Je zařazena do terapeutická kategorie keratolytik. Mezi její produkty patří aspirin, methyl salicylát a další salicyláty. Jde o spojovací činidlo pro azobarviva. Používá se například jako konzervant potravin a pufr.^[21]



Obrázek 5 Strukturální vzorec; převzato z^[16,21]

Tabulka 2 Významné vlastnosti

Bod tání (rozmezí bodu tání)	158 - 161 °C
Bod vzplanutí	157 °C - uzavřený kelímek ^[21,22]
Bod sublimace	76 °C ^[21]

Tabulka 3 Rozpustnost v hmotnostních procentech ^[21]

voda	tetrachlorid uhličitý	benzen	propanol	ethanol	aceton
0,2 (při 20 °C), 2,21 (při 80 °C)	0,262 (při 25 °C)	0,775 (při 25 °C)	27,36 (při 21 °C)	34,87 (při 21 °C)	396 (při 23 °C)

1.6.1.1 Toxikologická data:

Smrtnou dávku dělíme na minimální, střední a maximální. Střední smrtná dávka (*dosis letalis media*, LD₅₀) představuje takovou dávku, která během pozorovací doby usmrtí 50 % zvířat. ^[17]

Tabulka 4 Akutní toxicita

LD50 Orálně – potkan (samec)	891 mg/kg, chování: svalová ochablost
LD50 Kožní aplikace – potkan (samec a samice)	2 000 mg/kg ^[22]
LD50 Intravenózně – myši	500 mg/kg ^[21]

U králíka bylo prokázáno nebezpečí vážného poškození očí. Žádná ze složek obsažených v tomto produktu nebyla identifikována při hladinách větších nebo rovných 0,1 % jako pravděpodobný, možný nebo potvrzený karcinogen. ^[22]

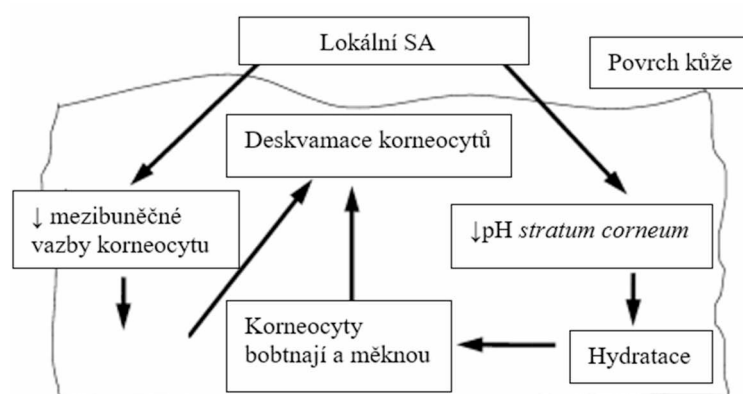
Tabulka 5 Přehled ekotoxicit ^[22]

Toxicita pro ryby	průběžný test LC50 - <i>Pimephales promelas</i> (střevle)	1,370 mg/l - 96 h
Toxicita pro dafnie a jiné vodní bezobratlé tvory	statický test EC50 - <i>Daphnia magna</i> (perloočka velká)	870 mg/l - 48 h
Toxicita pro řasy	inhibice růstu ErC50 - <i>Desmodesmus subspicatus</i> (zelené řasy)	100 mg/l - 72 h
Toxicita pro bakterie	statický test EC50 - <i>Pseudomonas putida</i> (bakterie)	380 mg/l - 16 h

1.6.2 Absorpce, mechanismus a nežádoucí účinky SA

SA se absorbuje kůží a distribuuje se v extracelulárním prostoru, maximálních koncentrací v plazmě dosáhne zhruba za 6–12 hodin po aplikaci. 50–80 % salicylátu se váže na albumin. Po lokální aplikaci SA se jako metabolity vylučují močí kyselina salicylurová a fenolické a acylové glukuronidy SA. Pouze 6 % se vylučuje v nezměněné formě jako SA. Zhruba 95 % jednorázově podaného salicylátu se vyloučí močí do 24 hodin po absorpci. [16]

Mechanismus SA, kterým vyvolává keratolytický účinek, není zatím dobře prozkoumán. SA působí keratolyticky v koncentracích od 3 do 6 %, kdy dochází ke změkčení zrohovatělých míst a uvolňování šupin, ve vyšších koncentracích působí na tkáň destruktivně. [16,23] Léčivo může na povrchu buněk solubilizovat proteiny, které udržují *stratum corneum* inaktivní, tím je schopné vyvolat deskvamaci keratolytické drti. [16] Mechanismus působení SA zahrnuje obvykle dvě cesty, které vedou k odlupování korneocytů (obrázek 6). SA snižuje mezibuněčnou soudržnost buněk rozpouštěním mezibuněčného materiálu. SA také snižuje pH pokožky, čímž zvyšuje hydrataci a změkčení. [24] Používá se ve formě masti. [23]

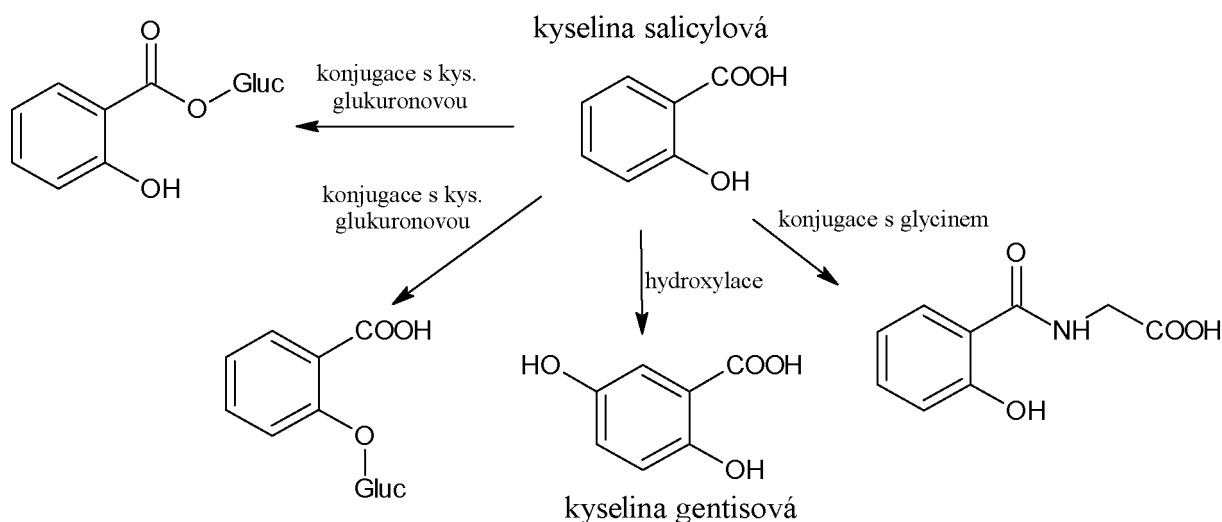


Obrázek 6 Mechanismus působení SA; převzato z [24]

I po lokální aplikaci se vyskytl salicylismus a úmrtí. U dospělého jedince vyvolá 1 g topicky aplikovaného přípravku 6% SA zvýšení koncentrace salicylátu v séru pouze na 5 mg/l. Prahové hladiny toxicity jsou v rozmezí 300–500 mg/l. U dětí je větší riziko vývoje salicylismu, protože u nich mohou salicyláty dosáhnout vyšších sérových koncentrací. Lokální aplikace může vyvolat lokální podráždění, akutní zánět a ve vyšších koncentracích i ulcerace. [16]

1.6.3 Farmakokinetika SA

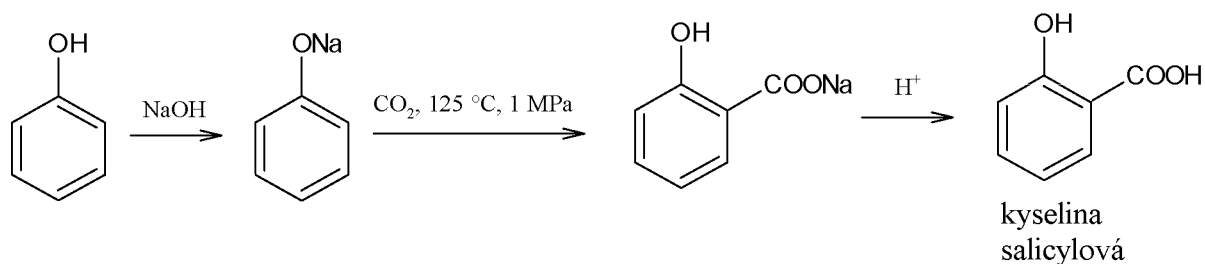
Salicyláty po perorálním podání dosahují vrcholových hladin v plazmě během 1–2 hodin. [16] SA se v plazmě váže na bílkoviny. V játrech se částečně konjuguje s glycinem a s kyselinou glukuronovou a částečně se oxiduje na kyselinu gentisovou viz schéma farmakokinetiky SA. [23]



Obrázek 7 Schéma farmakokinetiky SA; převzato z [23]

1.6.4 Historie salicylátů a syntéza SA

Dlouho předtím, než byly identifikovány salicyláty, byly pro jejich terapeutické účinky použity rostliny bohaté na salicyláty, jako je vrba, tavolník a topol. Analýzy zubního plaku Neandrtálců ukazují případy jedinců, kteří žvýkali kůru topolu, aby zmírnili bolest zubního abscesu. [25] Ve 4.-5. století před našim letopočtem Hippocrates doporučoval ženám, aby žvýkaly vrbové listy ke zmírnění bolesti při porodu. [25,26] Léčivé vlastnosti kůry vrby začaly být studovány v polovině 17. století. Účinná složka byla izolována v roce 1828, vzhledem připomínala žluté krystaly, které měly hořkou chuť, a nazvána byla salicin. O 10 let později byl salicin rozdělen na cukr a aromatickou sloučeninu, která byla podle latinského názvu *Salix alba* (bílá vrba) pojmenována kyselina salicylová. [25] V roce 1859 byl vyvinut Kolbem a spolupracovníky chemický proces pro syntézu SA (obrázek 8). [25,26] První továrna na výrobu syntetického salicylátu byla otevřena roku 1874. Používání SA se rychle rozšiřovalo díky zvýšené dostupnosti a sníženým nákladům. [25]



Obrázek 8 Schéma syntézy SA; převzato z^[11]

Užívání SA ve vysokých dávkách nebo po dlouhou dobu ovšem vedlo k negativním účinkům, jako je podráždění žaludku a tečkovité krvácení (petechie).^[23,25] Začala se rozsáhle používat v dermatologii jako keratolytikum.^[16] Vynaložené úsilí najít derivát SA, který by byl lépe tolerován, a přitom si zachoval stejné léčivé účinky, vedlo k objevu kyseliny acetylsalicylové (ASA).^[25,26] ASA je chemická látka původně vytvořená v roce 1853, která podléhá spontánní hydrolyze na SA.^[26] V letech 1898-1899 začala být syntetizována ASA pod obchodním názvem aspirin. Dnes je aspirin jedním z nejpoužívanějších léků na světě.^[25,26] Odhaduje se roční spotřeba na 100 miliard tablet. Často byl označován jako zázračný lék díky schopnosti potlačit horečku, otoky, bolest, zánět či různé kožní stavy.^[25] ASA se používá jako analgetikum a antipyretikum.^[23] Jeho profylaktické (ochranné) použití dokonce snižuje riziko srdečního infarktu, mrtvice a některých druhů rakoviny.^[25] ASA obsahuje labilní acetátovou skupinu, která se po uvolnění může navázat na makromolekulu cyklooxygenázy, kterou tak inaktivuje. To hraje důležitou roli při inhibici agregace trombocytů. Resorpce kyseliny acetylsalicylové ze žaludku a střeva je rychlá a úplná.^[23]

1.6.5 Biosyntéza SA

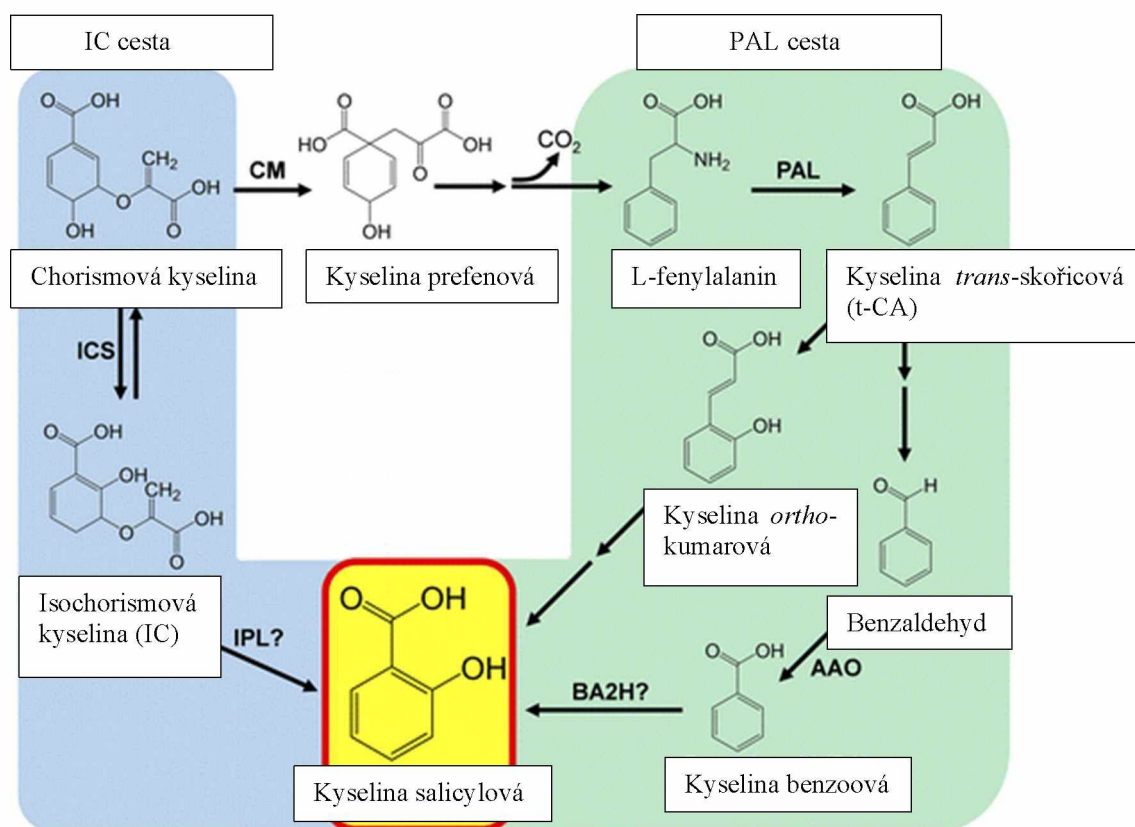
V rostlinách byly identifikovány dvě biosyntetické dráhy SA: cesta fenylalanin amoniak-lyáza (PAL) a cesta isochorismátu (IC) viz obrázek 9.

Kombinované výsledky ze studií radioaktivního značení, potlačení smyslů a inhibitorů původně naznačovaly, že rostliny generují SA cestou fenylalanin amoniak-lyáza. PAL, která je prvním enzymem při syntéze fenylpropanoidů, převádí fenylalanin na kyselinu trans-kořicovou (t-CA). Následně se t-CA převede na SA prostřednictvím meziproductů kyseliny ortho-kumarové nebo kyseliny benzoové (BA). SA je nejspíš vytvářena z BA pomocí enzymu BA 2-hydroxylázy (BAH). Modulace exprese PAL ovlivňuje akumulaci SA vyvolanou patogenem a rezistenci vůči chorobám u pepře, sóji, tabáku a huseníčka rolního.

Nicméně mutace obsahující huseníčka rolního ve všech čtyřech genech PAL vykazovaly snížení bazální aktivity PAL o 90 %, ale pouze 50% pokles akumulace SA, kterou vyvolal patogen. [25]

Vědělo se, že několik rodů bakterií syntetizuje SA z chorismové kyseliny, která je konečným produktem šikimátové dráhy, prostřednictvím meziprojektu isochorismátu. U některých bakteriálních druhů je SA dokonce generována jediným enzymem, a to SA syntázou. Jiné druhy využívají dvoustupňovou syntézu, kde je nejprve kyselina chorismová izomerizována na IC pomocí enzymu isochorismát syntáza (ICS) a následně je IC přeměněn na SA díky enzymu isochorismát pyruvát-lyáza (IPL). Kyselina chorismová je syntetizována v chloroplastech. IC cesta je hlavní cestou pro patogenem indukovanou syntézu SA u huseníčka rolního.

Další studie implikovaly cestu IC k akumulaci SA vyvolané patogenem některých druhů rostlin a identifikovaly mnoho homologů ICS. Nicméně rostlinný gen odpovídající IPL doposud nebyl identifikován. [25]



Obrázek 9 Biosyntéza SA, AAO = aldehyd oxidáza, BA2H = 2-hydroxyláza kyseliny benzoové, CM = chorismát mutáza, ICS = isochorismát syntáza, IPL = isochorismát pyruvát-lyáza, otazníky značí enzymy, u kterých se předpokládá, že provedou příslušnou přeměnu; převzato z [25]

1.7 Komerční léčiva obsahující kyselinu salicylovou

V současné době existuje na trhu 20 druhů léčiv s kyselinou salicylovou jako účinnou látkou (tabulka 6). Některé tyto druhy se však liší pouze dávkou účinné látky nebo nějakého excipientu, příchutí, skupenstvím atd. [27]

Tabulka 6 Přehled komerčních léčiv s SA [27]

Registrovaný název	Registrační číslo	Množství léčivých látek, forma přípravku
ACTIKERALL	46/ 250/12-C	5 mg/g fluorouracilu + 100 mg/g SA, roztok 1 x 25 ml
ALPICORT	46/ 150/94-C	2 mg/ml prednisolonu + 4 mg/ml SA, kožní roztok 100 ml
ALPICORT F	46/ 151/94-C	0,05 mg/ml estradiol-benzoátu + 2 mg/ml prednisolonu + 4 mg/ml SA, kožní roztok 1 x 100 ml
BELOSALIC	46/ 023/82-S/C	0,5 mg/g betamethasonu + 30 mg/g SA, mast 30 g
BELOSALIC	46/ 221/16-C	0,5 mg/g betamethasonu + 20 mg/g SA, kožní sprej/roztok 1 x 100 ml
BELOSALIC	46/ 383/95-C	0,5 mg/g betamethasonu + 20 mg/g SA, kožní roztok 50 ml
BELOSALIC	46/ 383/95-C	0,5 mg/g betamethasonu + 20 mg/g SA, kožní roztok 20 ml
BELOSALIC	46/ 383/95-C	0,5 mg/g betamethasonu + 20 mg/g SA, kožní roztok 100 ml
DIPROSALIC	46/ 061/92-S/C	0,5 mg/g betamethasonu + 30 mg/g SA, mast 30 g
DIPROSALIC	46/ 061/92-S/C	0,5 mg/g betamethasonu + 30 mg/g SA, mast 15 g
DIPROSALIC	46/ 062/92-S/C	0,5 mg/g betamethasonu + 20 mg/g SA, kožní roztok 30 ml
DUOFILM	46/ 684/99-C	16,7 hmot. % SA a jiné látky, kožní roztok 15 ml
HERBADENT	94/1129/97-C	0,25 g SA a jiné látky, kožní roztok 1 x 25 ml
KERASAL	46/ 126/02-C	50 mg/g SA + 100 mg/g močoviny, mast 50 g

KERASAL	46/ 126/02-C	50 mg/g SA + 100 mg/g močoviny, mast 50 g
MOBILAT	29/ 153/81-C	2 g SA a jiné látky, gel 1 x 50 g
MOBILAT	29/ 153/81-C	2 g SA a jiné látky, gel 30 g
MOBILAT	29/ 153/81-C	2 g SA a jiné látky, gel 100 g
TRIAMCINOLON S LÉČIVA	46/ 182/80-C	1 mg/g triamcinolonu + 30 mg/g SA, mast 30 g
VERRUMAL	46/ 885/94-C	5 mg/g fluorouracilu + 100 mg/g SA, kožní roztok 13 ml

Přípravky kategoricky patří mezi dermatologika a kortikosteroidy. Tyto léčiva se převážně používají při léčbě subakutních a chronických hyperkeratických (nadměrně zrohovatělých) a suchých dermatóz reagujících na lokální léčbu glukokortikoidy, jako jsou: psoriáza, neurodermatitida, *lichen ruber planus*, ekzémy, dishydróza, seboroická dermatitida, chronická atopická dermatitida, ichtyóza a jiné ichtyotické změny kůže. Vhodné použití je i u nadměrného maštění vlasů či různých typů alopecií. [28,29,30]

1.7.1 Alpicort

Alpicort obsahuje léčivé látky prednisolon, kyselinu salicylovou a pomocnou látku se známým účinkem propylenglykol. Léková forma je kožní roztok, který je čirý, bezbarvý a s charakteristickou vůní. Kyselina salicylová působí při koncentracích do 0,5 % převážně jako penetrační médium pro jiné léčivé látky. Na pokožce hlavy lze očekávat slabé keratoplastické a antimikrobiální účinky způsobené kyselinou salicylovou. Při aplikaci vysokých dávek prednisolonu po delší dobu bylo pozorováno nevratné poškození tvorby spermatu. U kyseliny salicylové se při pokusech na zvířatech prokázaly teratogenní účinky při vysokých perorálních dávkách. Po prenatální expozici byly popsány implantační poruchy, toxické účinky na embryo a plod. [28]

1.7.2 Belosalic

Jeden gram roztoku obsahuje 0,5 mg betamethasonu a 20 mg kyseliny salicylové. Je to čirý, bezbarvý, viskózní roztok. Kožní přípravky s betamethason-dipropionátem a kyselinou salicylovou jsou obecně dobře snášeny a výskyt nežádoucích účinků je poměrně vzácný. Kontinuální aplikace může způsobit lokální atrofii kůže nebo její infekci, atrofii

subkutánního vaziva, strie a povrchovou cévní dilataci, především v obličeji. Při použití přípravku v periorbitální oblasti se může objevit katarakta nebo sekundární glaukom. Mohou se vyskytnout celkové nežádoucí účinky salicylátů, jako je bledost, únava, bolest hlavy, edém obličeje, nauzea, zvracení, bolest břicha, hyperventilace a tachypnoe, poruchy sluchu. Celkové nežádoucí účinky salicylátů se označují souhrnným pojmem salicylismus.

Belosalic je kombinací glukokortikoidního antiflogistika betamethasonu a kyseliny salicylové. Betamethason je syntetický, fluorovaný kortikosteroid. Má silný protizánětlivý, imunosupresivní a antiproliferační účinek. Jedná se o syntetický derivát prednisolonu. Kyselina salicylová působí keratolyticky, usnadňuje průnik kortikosteroidů kůží. Zároveň má skvamolytický, antibakteriální a antimykotický účinek a také obnovuje kyselý povrch kůže. [29]

1.7.3 Diprosalic

Jeden gram masti obsahuje 0,64 mg betamethasonu dipropionátu a 30 mg kyseliny salicylové. Lékovou formu představuje hladká mast, která je homogenní, bílá a bez cizorodých částic. Při používání přípravku diprosalic byly hlášeny nežádoucí účinky: různé poruchy kůže a podkožní tkáně, celkové poruchy a reakce v místě aplikace, infekce a infestace a poruchy oka.

Léčivý přípravek obsahuje syntetický fluorovaný glukokortikoid 9 α -fluoro-16 β -methylprednisolon-17,21-dipropionát. Esterifikace v poloze 17 má za následek zvýšení lokálního protizánětlivého účinku a snížení degradace epidermálními oxidázami. Jeho protizánětlivý, protisvědívý i vasokonstrikční účinek je dlouhodobý. Při lokálním použití způsobuje kyselina salicylová změknutí zrohovatělé vrstvy, olupování ztvrdlé pokožky a deskvamaci epidermis, čímž umožňuje její pronikání do hlubších a hlubších vrstev a působí také bakteriostaticky a fungicidně. [30]

2 PRAKTICKÁ ČÁST

2.1 Laboratorní přístroje a pomůcky

- analytické váhy AA-200 – Denver Instrument Company, Colorado, USA
- homogenizátor Retsch MM 200 – Retsch GmbH, Haan, Německo
- ruční lis H-62 – TRYSTOM spol. s r.o., Olomouc, Česká republika
- lisovací aparatura T1-FRO 50 TH.A1 K Zwick/Roell, Zwick GmbH&Co., Německo
- běžné laboratorní sklo a pomůcky
- disoluční aparatura SOTAX AT 7 Smart – SOTAX Pharmaceutical Testing s.r.o., Allschwil, Švýcarsko
- Agilent 8453 UV/VIS spektrometr – Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn, Německo
- kyveta 5 mm



Obrázek 10 Disoluční aparatura SOTAX AT 7 Smart



Obrázek 11 Ruční lis H-62

2.2 Použité chemikálie a roztoky

- Destilovaná a redestilovaná voda
- Kyselina chlorovodíková – Penta s.r.o., Praha, Česká republika
- Chlorid sodný – LachNer s.r.o., Neratovice, Česká republika
- Dihydrogenfosforečnan draselný – LachNer s.r.o., Neratovice, Česká republika

- Hydroxid sodný – Penta s.r.o., Praha, Česká republika
- Kyselina salicylová – JQC (Huayin) Pharmaceutical Co., Ltd., Čína
- Chitosan – SIGMA-ALDRICH GMBH & CO. Steinheim, Německo
- Alginát sodný – SIGMA-ALDRICH GMBH & CO. Steinheim, Německo
- Alginát vápenatý – SIGMA-ALDRICH GMBH & CO. Steinheim, Německo
- Prosolv® SMCC 90 – JPS PHARMA GMBH & CO. KG Rosenberg, Německo
- Stearát hořečnatý – Acros Organics, USA

2.3 Složení, homogenizace a lisování tablet

Lékopisně je předepsáno vždy 6 tablet plus 1 tableta neobsahující účinnou látku, tzv. „slepý pokus“ (dále jen blank) pro jednu disoluční zkoušku. Pro potřeby bakalářské práce byly připraveny 2 sady vzorků, každá obsahovala vždy 2 tablety a 1 blank.

Tabulka 7 Složení jednotlivých formulací tablet v %

	F1	F2
Prosolv SMCC 90	39	39
Chitosan	20	20
Kyselina salicylová	20	20
Alginát sodný	20	-
Alginát vápenatý	-	20
Stearát hořečnatý	1	1

Celková hmotnost jedné tablety byla 500 mg. Pro blank bylo množství SA nahrazeno komponentou Prosolv® SMCC 90. Všechny složky uvedené v tabulce byly naváženy na analytických vahách a kvantitativně převedeny do homogenizační patrony. Patrona byla následně umístěna do homogenizátoru a směs byla třepána třikrát po 1 minutě při intenzitách 10, 13 a nakonec 15 kmitů za sekundu. Následně byla zhomogenizovaná směs převedena do ruční lisovací jednotky. Tableta byla lisována za tlaku silou 8 kN po dobu 5 minut. Takto připravené tablety (obrázek 12) byly dále použity při disolučních testech.



Obrázek 12 Čerstvě nalisované tablety

2.4 Příprava disolučních médií

Během disolučních zkoušek byly používány disoluční média o pH 1,2; 4,5 a 6,8. Hodnoty pH simulují trávicí trakt člověka. Disoluční média patří obecně mezi zkoumadla, tj. chemikálie a jejich roztoky používané ke zkoušení léčiv. Zkoumadla nelze používat jako léčivé nebo pomocné látky. Zkoumadla jsou charakterizována prostřednictvím čísla CAS.

2.4.1 Disoluční médium o pH 1,2

Na přípravu 2 litrů žaludečního média je potřeba smíchat 500 ml roztoku chloridu sodného o koncentraci 0,2 mol/l s 850 ml kyseliny chlorovodíkové o stejné koncentraci, a nakonec doplnit redestilovanou vodou na celkový objem 2000 ml. Na přípravu 500 ml NaCl (0,2 mol/l) je nutné navážit 5,845 g NaCl, rozpustit v redestilované vodě a doplnit na objem 500 ml. Roztok 1 litru HCl (0,2 mol/l) lze připravit smícháním 17,66 ml 35% HCl s redestilovanou vodou, kterou doplníme na objem 1000 ml.

2.4.2 Disoluční médium o pH 4,5

Na přípravu 2 litrů média se musí navážit 27,22 g dihydrogenfosforečnanu draselného a rozpustit v 1500 ml redestilované vody. Dle potřeby je možno pH upravit 0,1 mol/l hydroxidem sodným a doplnit redestilovanou vodou na 2000 ml.

2.4.3 Disoluční médium o pH 6,8

Na přípravu 2 litrů média je třeba smíchat 500 ml roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného o koncentraci 0,2 mol/l s 224 ml roztoku hydroxidu sodného o stejné koncentraci a posléze doplnit redestilovanou vodou na celkový objem 2000 ml. 500 ml KH_2PO_4 (0,2 mol/l) lze získat rozpuštěním 13,61 g KH_2PO_4 v redestilované vodě a doplněním na potřebný objem. Na přípravu 500 ml NaOH (0,2 mol/l) je nutné rozpustit 4 g NaOH v redestilované vodě a doplnit na příslušný objem.

2.5 Postup disoluční zkoušky

Disoluční zkouška byla provedena celkem čtyřikrát, pokaždé se 2 tabletami a 1 blank tabletou. Byla zvolena košíčková metoda. Bylo odměřeno vždy 900 ml příslušného disolučního média do jednotlivých nádob umístěných v disoluční aparatuře. Disoluční zkouška byla provedena při pH 1,2; 4,5 a 6,8. V případě pH 4,5 byla tableta celou dobu (12-18 hodin) v příslušném disolučním médiu. V případech disolučních médií o pH 1,2 a 6,8 probíhala disoluční zkouška současně. Tableta byla nejprve 2 hodiny v žaludečním médiu (pH 1,2), poté byla přehozena do média simulujícího prostředí tenkého střeva (pH 6,8), kde byla přítomna po zbytek času. Teplota byla celou dobu udržována při $37 \pm 0,5$ °C. Otáčky byly nastaveny na 50 rpm.

Odběr roztoku probíhal automaticky, první půlhodinu každých 10 minut, další hodinu a půl po 30 minutách a poté vždy po 1 hodině. Celý experiment vyžadoval časovou náročnost 12-18 hodin. Objem jednoho odběru vzorku byl 3 ml. Veškeré odebrané vzorky byly následně proměřeny pomocí UV/VIS spektroskopie. Získané absorbance byly pomocí kalibrační křivky SA přepočítány na procenta uvolněné účinné látky. Tyto procenta (koncentrace) byla vynesena do grafu v závislosti na čase, tak byl získán disoluční profil léčiva.

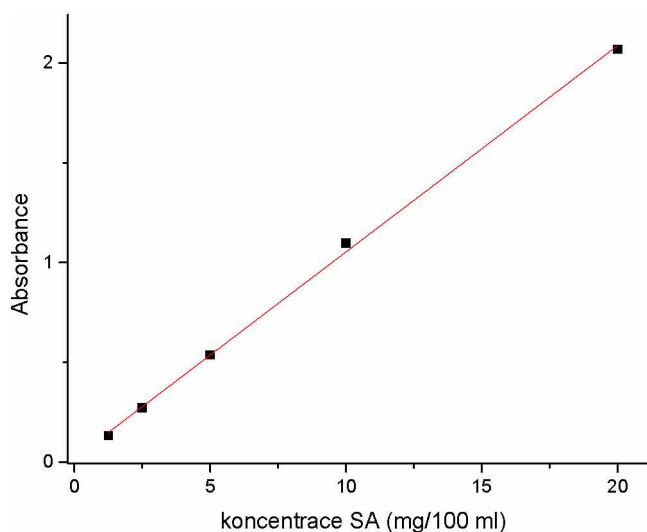
2.6 UV/VIS spektroskopie

UV/VIS spektroskopie je jedna z analytických metod. Absorbance byla měřena při vlnové délce 298 nm, což je absorpční maximum pro kyselinu salicylovou. Korekce pozadí byla nastavena v rozmezí 260-325 nm. Absorpční maximum bylo viditelné i z barevné křivky. Hodnota absorbance byla odečítána proti blank tabletě (slepému vzorku). Pro přepočet absorbance na koncentraci byla použita metoda kalibrační křivky.

2.7 Kalibrační křivka

Byla připravena kalibrační řada vzorků o koncentraci 20, 10, 5, 2,5 a 1,25 mg SA/100 ml. Vzorky byly vyhodnoceny pomocí UV/VIS spektroskopie. Dále byla do grafu (obrázek 13) vynesena závislost absorbance na koncentraci SA a body byly proloženy přímkou. Lineární závislosti odpovídá následující rovnice.

$$\text{pH 4,5:} \quad A = 0,010349 x + 0,01804 \quad \text{kde } x \text{ [mg/l]}$$



Obrázek 13 Kalibrační křivka SA, pH 4,5

Přepočítání absorbance na koncentraci SA bylo provedeno podle následujících rovnic.

$$\text{pH 1,2:} \quad A = 0,009955 x + 0,02516 \quad \text{kde } x \text{ [mg/l]}$$

$$\text{pH 6,8:} \quad A = 0,01087 x + 0,01583 \quad \text{kde } x \text{ [mg/l]}$$

2.8 Zkouška pevnosti tablet

Byla provedena zkouška pevnosti a změřena síla potřebná k rozdrčení tablety. [1] Zkouška byla provedena s oběma formulacemi, u každé formulace byly použity 2 tablety a 2 blank tablety. Do přístroje byla vždy vložena 1 tableta/blank nejprve na výšku (obrázek 14), tak se změřila tloušťka tablety. Následně byla tableta položena na šířku, změřen průměr a pevnost tablety.



Obrázek 14 Pevnostroj SOTAX

2.9 Indexy bobtnání a eroze

Každá tableta (včetně blank tablet) byla zvážena ihned po nalisování, bezprostředně po vyjmutí z příslušného disolučního média po skončení disoluční zkoušky a poté po 48 hodinách sušení. Z těchto hmotností byl následně vypočítán index bobtnání, index eroze, zbytková hmota a míra absorpce disolučního média. Při výpočtech byly použity 4 vzorce viz níže.

$$\text{Míra absorpce disolučního média (nasákavost) [\%]: } \frac{m_m - m_s}{m_s} \cdot 100$$

$$\text{Index eroze [\%]: } \frac{m_0 - m_s}{m_0} \cdot 100 \quad m_0 \text{ [mg]} - \text{počáteční hmotnost}$$

$$\text{Index bobtnání [\%]: } \frac{m_m - m_0}{m_0} \cdot 100^{[31]} \quad m_s \text{ [mg]} - \text{hmotnost po vysušení}$$

$$\text{Zbytková hmota [\%]: } \frac{m_s}{m_0} \cdot 100^{[32]} \quad m_m \text{ [mg]} - \text{hmotnost tablety nasáklé vodou}$$

3 VÝSLEDKY

3.1 Pevnost

Změřené hodnoty charakteristik jednotlivých tablet (hmotnost, tloušťka, průměr a pevnost) byly přehledně umístěny do tabulek níže i s příslušnými odchylkami. Pevnost blank tablet je větší než pevnost tablet s účinnou látkou u obou formulací. Tablety obsahují 100 mg účinné látky (SA), u blank tablet je toto množství nahrazeno plnivem prosolv. Blank tablety mají větší tloušťku, což znamená, že prosolv se hůře lisuje ve srovnání s SA. Obecně tedy platí, čím větší tloušťka tablety, tím větší pevnost. Zároveň pevnost tablet s alginátem vápenatým (F2) je větší než pevnost tablet s alginátem sodným (F1). Závěrem lze poznamenat, že pro obě formulace (tablety i blank tablety) jsou parametry hmotnost, tloušťka i průměr téměř totožné.

Tabulka 8 Naměřené a zprůměrované hodnoty charakteristik pro formulaci F1

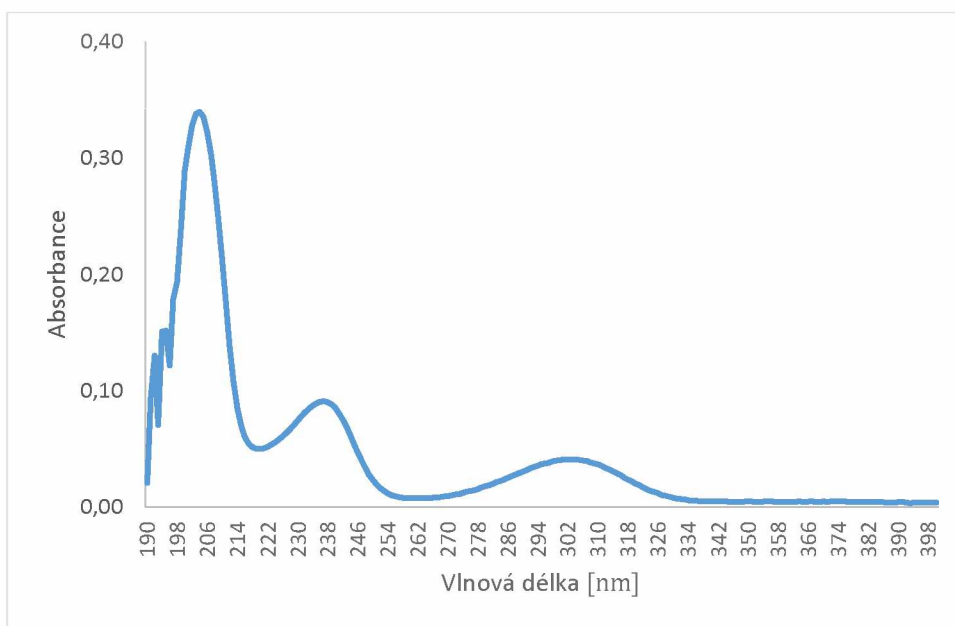
2 tablety	hmotnost ± SD	0,50425 ± 0,00035 g	2 blank tablety	hmotnost ± SD	0,5013 ± 0,0025 g
	tloušťka ± SD	3,23 ± 0,01 mm		tloušťka ± SD	3,305 ± 0,005 mm
	průměr ± SD	13,165 ± 0,005 mm		průměr ± SD	13,15 ± 0 mm
	pevnost ± SD	60 ± 1 N		pevnost ± SD	66 ± 1 N

Tabulka 9 Naměřené a zprůměrované hodnoty charakteristik pro formulaci F2

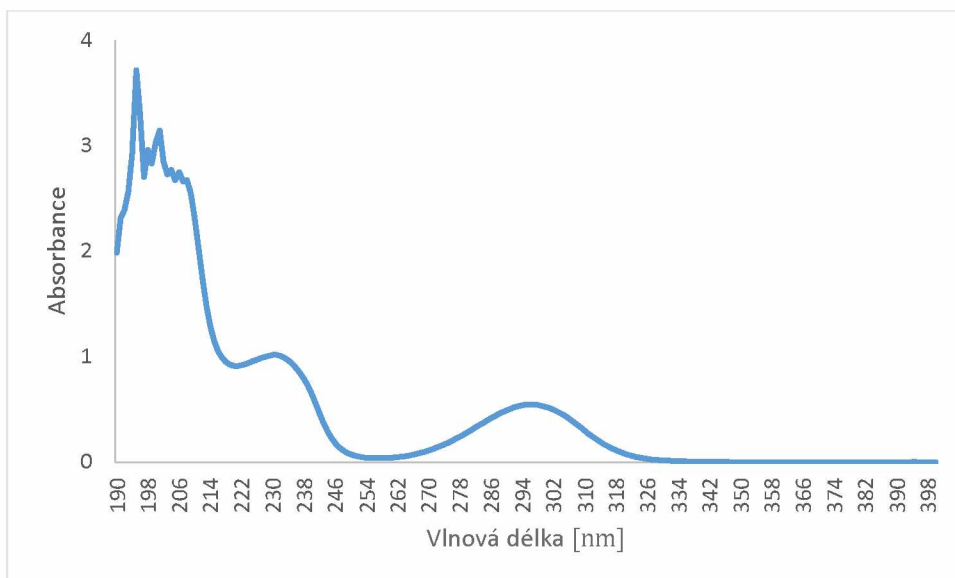
2 tablety	hmotnost ± SD	0,50295 ± 0,00045 g	2 blank tablety	hmotnost ± SD	0,50055 ± 0,00085 g
	tloušťka ± SD	3,31 ± 0,02 mm		tloušťka ± SD	3,35 ± 0,05 mm
	průměr ± SD	13,175 ± 0,015 mm		průměr ± SD	13,155 ± 0,005 mm
	pevnost ± SD	66,5 ± 3,5 N		pevnost ± SD	78 ± 1 N

3.2 Barevná křivka

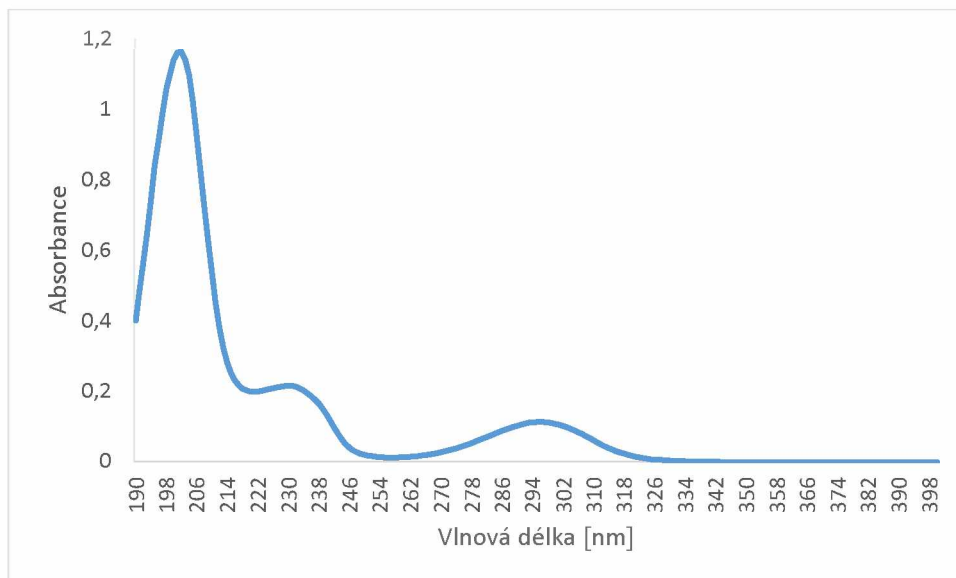
Byly vytvořeny barevné křivky (obrázky 15, 16 a 17), tedy závislosti absorbance na vlnové délce pro formulaci s alginátem sodným při pH 1,2; 4,5 a 6,8. Lze si povšimnout, že v disolučním médiu o pH 4,5 se SA uvolňuje nejlépe a absorbance dosahuje až hodnoty 0,6. Naopak nejhůř je na tom žaludeční médium o pH 1,2, kde absorbance dosahuje hodnot pouze v řádu desetin (nejvíc zhruba 0,05).



Obrázek 15 Barevná křivka při pH 1,2



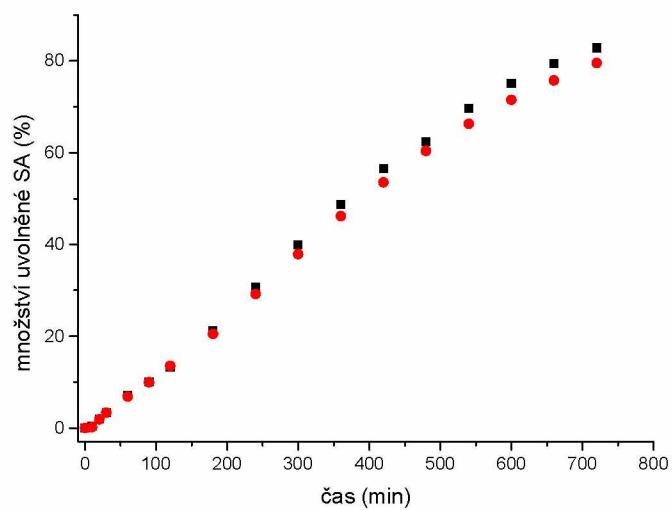
Obrázek 16 Barevná křivka při pH 4,5



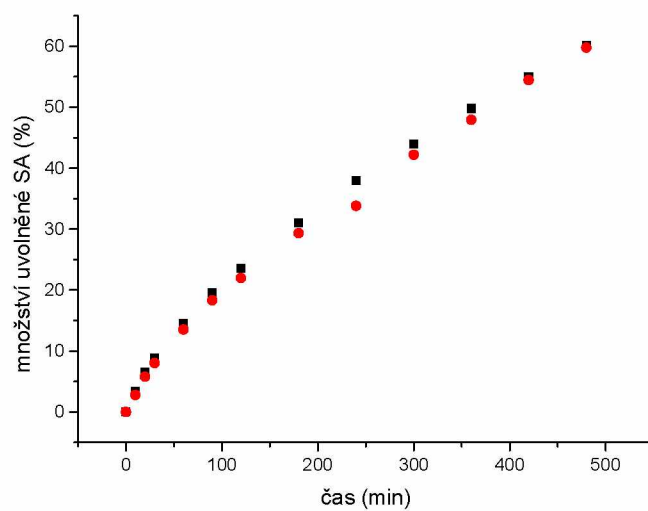
Obrázek 17 Barevná křivka při pH 6,8

3.3 Disoluční profily

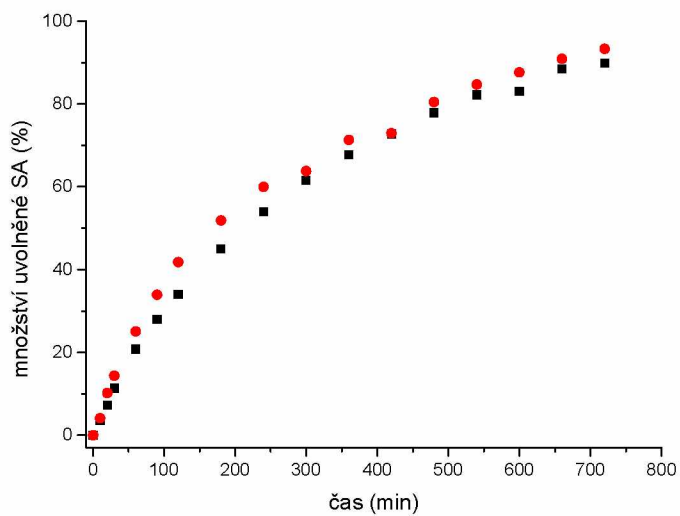
Naměřené absorbance byly metodou kalibrační křivky převedeny na množství uvolněné SA v % v určitém čase, z jejichž hodnot byly vytvořeny disoluční profily jednotlivých formulací při různém pH disolučního média. Jednotlivé disoluční profily se liší mechanismem uvolňování SA. Na prvním grafu (obrázek 18) je znázorněn disoluční profil formulace F1 při pH 1,2+6,8. Další 3 disoluční profily, formulace F2 při pH 4,5 i 1,2+6,8 a F1 při pH 4,5, jsou znázorněny na obrázcích 19, 20 a 21.



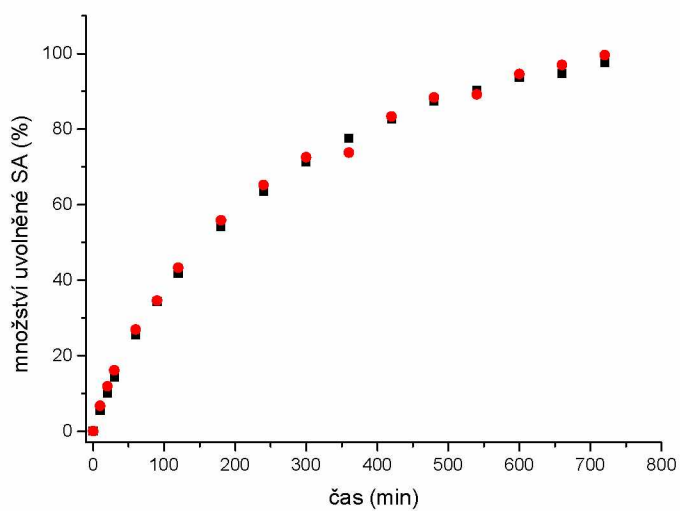
Obrázek 18 Disolucní profil formulace F1, disoluční médium pH 1,2+6,8



Obrázek 19 Disolucní profil formulace F2, disoluční médium pH 1,2+6,8



Obrázek 20 Disolucní profil formulace F1, disoluční médium pH 4,5



Obrázek 21 Disolucní profil formulace F2, disoluční médium pH 4,5

3.4 Mechanismus uvolňování

Jak již bylo zmíněno, jednotlivé disoluční profily se liší mechanismem uvolňování SA. Z grafu disolučního profilu formulace F1 (pH 1,2+6,8) je zřetelné, že uvolňování probíhá kinetikou 0. řádu viz obrázek 18, vyobrazená závislost lze totiž proložit přímkou. Mechanismus uvolňování u ostatních disolučních profilů, formulace F1 (pH 4,5) a formulace F2 (pH 4,5 i 1,2+6,8) viz obrázky 19, 20 a 21, probíhá kinetikou 1. řádu, závislost je tedy exponenciální. Z grafů disolučních profilů byly získány rovnice předpisů jednotlivých funkcí. Do tabulky níže byla přehledně zobrazena regresní analýza všech disolučních profilů.

Tabulka 10 Regresní analýza disolučních profilů

Formulace, pH	Mechanismus uvolňování	Rychlostní konstanta $k_0 \pm SD$ [mg/min] $k_1 \pm SD$ [min ⁻¹]	Koeficient determinace R^2	Poločas reakce $t_{1/2}$ [min]
F1, pH 1,2+6,8	0. řád ^A	0,12095 ± 0,00196	0,99141	413,39
F1, pH 4,5	1. řád ^B	0,00393 ± 0,000197145	0,99129	176,37
F2, pH 1,2+6,8	1. řád ^B	0,00269 ± 0,000246703	0,99242	257,68
F2, pH 4,5	1. řád ^B	0,00441 ± 0,00013938	0,99605	157,18

Rovnice předpisů funkcí pro kinetiku 0. řádu (A) a 1. řádu (B):

$$A: A_{SA} = a - k_0 t$$

$$B: A_{SA} = a (1 - e)^{-k_1 t} \dots \text{kde } A_{SA} \text{ je množství uvolněné SA z tablety v mg,}$$

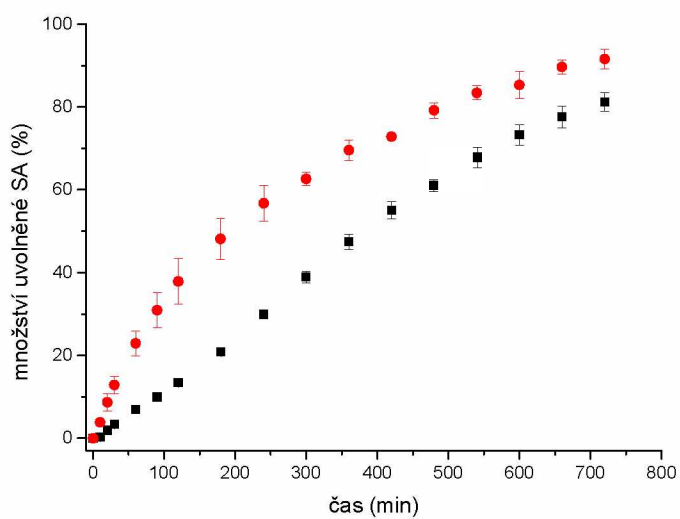
a je počáteční množství SA v mg a t je čas v minutách

3.5 Vliv složení na rychlost uvolňování účinné látky

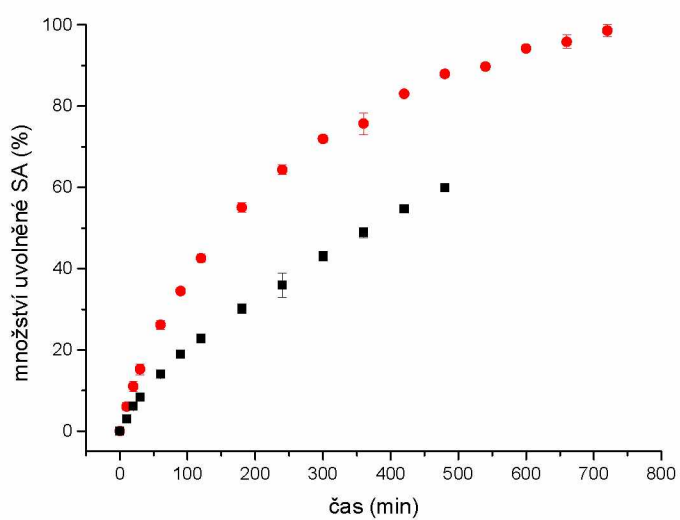
Z disolučních profilů je patrné, že rychlost uvolňování SA není téměř ovlivněna použitím sodného či vápenatého alginátu. Jak již bylo zmíněno, v případě disoluční zkoušky v pH 1,2+6,8 je u obou formulací rozdílný mechanismus uvolňování. V případě alginátu sodného se SA uvolňuje téměř lineárně (0. řád), zatímco při použití alginátu vápenatého už uvolňování SA není lineární (1. řád). V případech disoluční zkoušky při pH 4,5 lze u formulace F1 (alginát sodný) pozorovat četné odchylky při uvolňování SA ze dvou stejných tablet. Z tohoto pohledu je tedy lepší formulace F2 (alginát vápenatý), u kterého je při daném pH viditelná pouze jedna odchylka. Vliv složení jednotlivých formulací může hrát velkou roli na rychlost uvolňování aktivní účinné látky, ovšem v tomto případě (Na-alginát versus Ca-alginát) lze závěrem konstatovat, že složení nehraje téměř žádnou roli.

3.6 Vliv pH na rychlost uvolňování účinné látky

Na rychlost uvolňování SA má významný vliv pH, které je zodpovědný i za různý mechanismus uvolňování SA (0. řád x 1. řád). Jak je vidět na obrázcích níže (obrázek 22 a 23), u obou formulací se účinná látka uvolňuje lépe v disolučním médiu o pH 4,5, kde se po zhruba 12 hodinách uvolní téměř veškeré množství SA, tedy skoro 100 %. Při zkoušce v disolučním médiu o pH 1,2+6,8 se po stejně dlouhém intervalu uvolní kolem 80 % SA, což je o pětinu méně než v případě disoluční zkoušky při pH 4,5. Při disoluční zkoušce v disolučním médiu o pH 4,5 pravděpodobně vzniká polyelektrolyt, který pozitivně ovlivňuje mechanismus uvolňování. Pro uvolňování SA je tedy vhodnější pH 4,5.



Obrázek 22 Vliv pH u formulace F1, černá řada – pH 1,2+6,8, červená řada – pH 4,5



Obrázek 23 Vliv pH u formulace F2, černá řada – pH 1,2+6,8, červená řada – pH 4,5

3.7 Indexy bobtnání a eroze

Všechny tablety použité při disolučních testech byly zváženy třikrát viz praktická část. U některých tablet je vidět nárůst hmotnosti po vysušení oproti původním hmotnostem nalisovaných tablet, ověření bylo provedeno převážením. Změny hmotností všech tablet po jednotlivých operacích jsou uvedeny v tabulce 11 a 12.

Tabulka 11 Změny hmotností tablet při disoluční zkoušce, formulace F1

		počáteční váha [mg]	váha po disoluční zkoušce [mg]	váha po vysušení [mg]
tableta1	(pH 1,2+6,8)	497	4 773,8	344,4
tableta2		504,2	4 847,4	346,7
blank		504,6	4 042,3	417,1
tableta1	(pH 4,5)	505,1	4 620,3	419,3
tableta2		508,6	5 060,8	413,9
blank		504	3 425,5	462,7

Tabulka 12 Změny hmotností tablet při disoluční zkoušce, formulace F2

		počáteční váha [mg]	váha po disoluční zkoušce [mg]	váha po vysušení [mg]
tableta1	(pH 1,2+6,8)	501,2	5 983,6	332,6
tableta2		505,8	6 393,65	341,1
blank		501,5	6 729	463,6
tableta1	(pH 4,5)	503,3	5 906,8	395,1
tableta2		504,5	6 074,1	395,6
blank		499,6	6 472	567

Z těchto hmotností byly vypočítány a přehledně zobrazeny v tabulkách níže (tabulka 13 a 14) indexy bobtnání a eroze, míra absorpce disolučního média a zbytková hmota. Vypočítané hodnoty jsou podobného charakteru, nicméně lze si povšimnout, že míra absorpce disolučního média je vyšší u alginátu vápenatého, stejně jako stupeň bobtnání, který je až dvanásobný

oproti původní nalisované tabletě. U formulace s alginátem sodným je index bobtnání maximálně devítinásobek oproti původní tabletě. Taktéž u obou formulací při všech hodnotách pH je míra absorpce disolučního média větší u tablet s účinnou látkou a znatelně menší u blank tablet, což je zajímavá skutečnost, vezmeme-li v potaz, že samotná účinná látka (SA) vodu odpuzuje a je málo rozpustná. V disolučním médiu se tedy SA chová neobvykle. Formulace F2 (alginát vápenatý) více zadržuje disoluční médium, z tohoto důvodu se v tabulce 12 objevuje v posledním řádku záporná hodnota u indexu eroze, a naopak hodnota větší než 100 % u zbytkové hmoty, jinými slovy, tablety i po 48 hodinách sušení nebyly zcela vysušené.

Tabulka 13 Vypočítané hodnoty pro formulaci F1

		Míra absorpce disolučního média	Index eroze	Index bobtnání	Zbytková hmota
tableta1	(pH 1,2+6,8)	1286,12 %	30,70 %	860,52 %	69,30 %
tableta2		1194,32 %	31,24 %	861,40 %	68,76 %
blank		869,14 %	17,34 %	701,09 %	82,66 %
tableta1	(pH 4,5)	1001,91 %	16,99 %	814,73 %	83,01 %
tableta2		1122,71 %	18,62 %	895,05 %	81,38 %
blank		640,33 %	8,19 %	579,66 %	91,81 %

Tabulka 14 Vypočítané hodnoty pro formulaci F2

		Míra absorpce disolučního média	Index eroze	Index bobtnání	Zbytková hmota
tableta1	(pH 1,2+6,8)	1699,04 %	33,64 %	1093,85 %	66,36 %
tableta2		1774,42 %	32,56 %	1164,07 %	67,44 %
blank		1351,47 %	7,56 %	1241,77 %	92,44 %
tableta1	(pH 4,5)	1395,01 %	21,50 %	1073,61 %	78,50 %
tableta2		1435,41 %	21,59 %	1103,98 %	78,41 %
blank		1041,45 %	-13,49 %	1195,44 %	113,49 %

Na obrázcích níže (obrázek 24 a 25) jsou ilustrativní fotky tablet: vlevo ihned po nalisování, uprostřed bezprostředně po vytažení z disolučního média (pH 4,5) a vpravo po vysušení. Mezi nalisovanými tabletami jednotlivých formulací není viditelný rozdíl, to už nemůžeme říci o zbývajících mokřých a následně vysušených tabletách jednotlivých formulací. V případě nabobtnalých mokřých tablet je vidět, že míra absorpce disolučního média formulace 2 (čili alginát vápenatý) je zřejmě větší, než je tomu u formulace 1 (tedy alginát sodný).



Obrázek 24 Formulace F1 po nalisování, po disolučním testu a po vysušení, pH 4,5



Obrázek 25 Formulace F2 po nalisování, po disolučním testu a po vysušení, pH 4,5

4 ZÁVĚR

Bylo studováno uvolňování kyseliny salicylové jako modelové účinné látky ve dvou formulacích odlišného složení. Formulace F1 obsahovala alginát sodný, ve formulaci F2 byl obsažen alginát vápenatý. Byly provedeny celkem čtyři disoluční zkoušky, dvě s formulací F1 a dvě s formulací F2. Disoluční zkoušky se prováděly při různém pH disolučního média (1,2+6,8 a 4,5). Byla zkoumána pevnost tablet, vliv složení a vliv pH na rychlost uvolňování kyseliny salicylové, mechanismus uvolňování kyseliny salicylové, dále byly zjištěny indexy eroze, bobtnání, míra absorpce disolučního média a zbytková hmota.

Na základě regresní analýzy disolučních profilů byl zjištěn různý mechanismus uvolňování kyseliny salicylové, u matricových tablet s alginátem sodným (pH 1,2+6,8) probíhá uvolňování pomocí 0. řádu, u zbývajících tří disolučních profilů, matricové tablety s alginátem sodným (pH 4,5) a matricové tablety s alginátem vápenatým (pH 1,2+6,8 a pH 4,5), probíhá uvolňování kinetikou 1. řádu. Složení v tomto případě má zanedbatelný vliv na rychlost uvolňování kyseliny salicylové. Hodnoty pH disolučního média mají významný vliv na rychlost uvolňování kyseliny salicylové ze studovaných formulací. Při disoluční zkoušce v pH 1,2+6,8 se po 12 hodinách uvolní pouze zhruba 80 % kyseliny salicylové, naproti tomu při disoluční zkoušce v pH 4,5 se za stejnou dobu uvolní téměř veškeré množství kyseliny salicylové, tedy téměř 100 % kyseliny salicylové.

Ze zkoušky pevnosti vyplynulo, že tablety neobsahující účinnou látku jsou pevnější než tablety s účinnou látkou, to platí pro obě studované formulace. Z vypočítaných indexů eroze, bobtnání, míry absorpce disolučního média a zbytkové hmoty bylo zjištěno, že míra absorpce disolučního média je vyšší u formulace s alginátem vápenatým, stejně jako stupeň bobtnání. Zároveň je značně vyšší míra absorpce disolučního média tablet s účinnou látkou (kyselina salicylová) než tablet bez účinné látky i přesto, že kyselina salicylová je ve vodě málo rozpustná. U některých tablet došlo dokonce k nárůstu hmotnosti tablety po vysušení oproti původní hmotnosti nalisované tablety, což je způsobeno zadržováním disolučního média v tabletách.

Získané výsledky by bylo vhodné doplnit indexy bobtnání, eroze a mírou absorpce disolučního média ve více časech, např. i v průběhu disoluční zkoušky. Vzhledem k odlišnostem mechanismu uvolňování kyseliny salicylové by bylo zajímavé soustředit se na vliv pravděpodobně vzniklého polyelektrolytu v daném rozmezí pH.

5 BIBLIOGRAFIE

- [1] MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR. *Český lékopis 2009: Doplnky 2010 – 2016*. 1. vydání. Praha: GRADA Publishing a. s., 2014. ISBN 978-80-247-2994-7.
- [2] L. OKÁČOVÁ, D. VETCHÝ, A. FRANC a M. RABIŠKOVÁ. Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek technologickými postupy usnadňujícími jejich rozpouštění. *Chemické listy*. Ústav technologie léků, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2011, **105**, 34-40.
- [3] A. BALK, J. WIEST, T. WIDMER, B. GALLI, U. HOLZGRABE a L. MEINEL. Transformation of acidic poorly water soluble drugs into ionic liquids. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2015, **94**, 73-82. DOI: 10.1016/j.ejpb.2015.04.034. ISSN 09396411. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0939641115002143>
- [4] J. RIIKONEN, W. XU a V.-P. LEHTO. Mesoporous systems for poorly soluble drugs – recent trends. *International Journal of Pharmaceutics*. 2018, **536**(1), 178-186. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.11.054. ISSN 03785173. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517317311092>
- [5] J. MOUREK, *Fyziologie: učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. 2. dopl. vyd. Praha: Grada, 2012. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-3918-2.
- [6] S.J. RUNE, pH in the Human Duodenum. *Digestion*. 1973, **8**(3), 261-268. DOI: 10.1159/000197323. ISSN 0012-2823. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/197323>
- [7] L. OVESEN, F. BENDTSEN, U. TAGE-JENSEN, N.T. PEDERSEN a S.J. RUNE. Intraluminal pH in the stomach, duodenum, and proximal jejunum in normal subjects and patients with exocrine pancreatic insufficiency. *Gastroenterology*. Denmark: Elsevier Inc., 1986, **90**(4), 958–962.

- [8] T. CIEPLAK, M. WIESE, S. NIELSEN, T. VAN DE WIELE, F. VAN DEN BERG a D. NIELSEN. The Smallest Intestine (TSI)—a low volume in vitro model of the small intestine with increased throughput. *FEMS Microbiology Letters*. 2018, **365**(21). DOI: 10.1093/femsle/fny231. ISSN 1574-6968. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsle/article/doi/10.1093/femsle/fny231/5104379>
- [9] V. MAURYA a M. AGGARWAL. Factors influencing the absorption of vitamin D in GIT: an overview. *Journal of Food Science and Technology*. 2017, **54**(12), 3753-3765. DOI: 10.1007/s13197-017-2840-0. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s13197-017-2840-0>
- [10] J. CUSTODIO, Chi-Y. WU a L. BENET. Predicting drug disposition, absorption/elimination/transporter interplay and the role of food on drug absorption. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2008, **60**(6), 717-733. DOI: 10.1016/j.addr.2007.08.043. ISSN 0169409X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X07003705>
- [11] F. HAMPL a J. PALEČEK. *Farmakochemie*. 1. vydání. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2002. ISBN 80-708-0495-5.
- [12] A. SHARIATI a C.J. PETERS. Measurements and modeling of the phase behavior of ternary systems of interest for the GAS process: I. The system carbon dioxide+1-propanol+salicylic acid. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2002, **23**(3), 195-208. DOI: 10.1016/S0896-8446(02)00006-2. ISSN 08968446. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896844602000062>
- [13] S. PUTTIPIATKHACHORN, J. NUNTHANID, K. YAMAMOTO a G. E. PECK. Drug physical state and drug–polymer interaction on drug release from chitosan matrix films. *Journal of Controlled Release*. 2001, **75**(1-2), 143-153. DOI: 10.1016/S0168-3659(01)00389-3. ISSN 01683659. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365901003893>
- [14] R. THAKURIA, A. DELORI, W. JONES, M. P. LIPERT, L. ROY a N. RODRÍGUEZ-HORNEDO. Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013, **453**(1), 101-125. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.10.043. ISSN 03785173. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517312009830>

- [15] *Salicylic acid: Merck* [online]. Darmstadt: Merck, 2020 [cit. 2020-04-10]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=salicylic+acid&interface=All&N=0&mode=match%20partialmax&lang=en®ion=CZ&focus=product>
- [16] B. KATZUNG, *Základní a klinická farmakologie*. 2. vydání. Jinočany: H+H, 2006. ISBN 80-731-9056-7.
- [17] J. PROKEŠ, *Základy toxikologie: obecná toxikologie a ekotoxikologie*. 1. vydání. Praha: Galén, 2005. ISBN 80-726-2301-X.
- [18] D. PĚČEK, M. ŠTÝBNAROVÁ, E. MAŠKOVÁ, P. DOLEŽEL, M. KEJDUŠOVÁ, D. VETCHÝ a K. DVOŘÁČKOVÁ. Využití analýzy textury při vývoji a hodnocení matricových tablet s prodlouženým uvolňováním léčiva. *Chemické listy*. Brno: Ústav technologie léků, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014, **108**(5), 483-487. ISSN 1213-7103.
- [19] A. BADWAN, I. RASHID, M. AL OMARI a F. DARRAS. Chitin and Chitosan as Direct Compression Excipients in Pharmaceutical Applications. *Marine Drugs*. 2015, **13**(3), 1519-1547. DOI: 10.3390/md13031519. ISSN 1660-3397. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1660-3397/13/3/1519>
- [20] H. TØNNESEN a J. KARLSEN. Alginate in Drug Delivery Systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2002, **28**(6), 621-630. DOI: 10.1081/DDC-120003853. ISSN 0363-9045. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1081/DDC-120003853>
- [21] *Salicylic Acid: The Merck Index** [online]. Whitehouse Station, N.J., U.S.A.: The Royal Society of Chemistry, 2020 [cit. 2020-02-26]. Dostupné z: <https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/m9739/salicylic%20acid?q=unauthorize>

[22] *Salicylic acid: Merck* [online]. Darmstadt: Merck, 2020 [cit. 2020-02-26]. Dostupné z:

<https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=CZ&language=cs&productNumber=S5922&brand=SIGMA&PageToGoToURL=https%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fsearch%3Fterm%3D69-72-7%26interface%3DCAS%2520No.%26N%3D0%26mode%3Dpartialmax%26lang%3Den%26region%3DCZ%26focus%3Dproduct>

[23] H. LÜLLMANN, K. MOHR a M. WEHLING. *Farmakologie a toxikologie*. Vyd. 2. české. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0836-1.

[24] M. LEBWOHL, The role of salicylic acid in the treatment of psoriasis. *International Journal of Dermatology*. 1999, **38**(1), 16-24. DOI: 10.1046/j.1365-4362.1999.00500.x. ISSN 0011-9059. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-4362.1999.00500.x>

[25] D. KLESSIG, H. CHOI a D'Maris DEMPSEY. Systemic Acquired Resistance and Salicylic Acid: Past, Present, and Future. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2018, **31**(9), 871-888. DOI: 10.1094/MPMI-03-18-0067-CR. ISSN 0894-0282. Dostupné z: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/MPMI-03-18-0067-CR>

[26] Ch. AN a Z. MOU. Salicylic Acid and its Function in Plant Immunity. *Journal of Integrative Plant Biology*. 2011, **53**(6), 412-428. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2011.01043.x. ISSN 16729072. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1744-7909.2011.01043.x>

[27] *SÚKL: Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. Praha, 2010 [cit. 2020-03-12]. Dostupné z:

http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data%5Bsearch_for%5D=&data%5Bcode%5D=&data%5Bcat_group%5D=&data%5Bmaterial%5D=kyselina+salicylov%C3%A1&data%5Bpath%5D=&data%5Breg%5D=&data%5Bradio%5D=none&data%5Brc%5D=&data%5Bcheckbox%5D%5B%5D=brail-yes&data%5Bcheckbox%5D%5B%5D=brail-no&data%5Bcheckbox%5D%5B%5D=brail-def&data%5Bwith_adv%5D=0&search=Vyhledat&data%5Blisting%5D=20

[28] ALPICORT. *SÚKL: Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. Praha, 2010 [cit. 2020-03-18]. Dostupné z:

<http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0092411&tab=texts>

[29] BELOSALIC. *SÚKL: Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. Praha, 2010 [cit. 2020-03-18]. Dostupné z:

<http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0215402&tab=texts>

[30] DIPROSALIC. *SÚKL: Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. Praha, 2010 [cit. 2020-03-18]. Dostupné z:

<http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0192219&tab=texts>

[31] L. WANG, K. CHEN, H. WEN, D. OUYANG, X. LI, Y. GAO, W. PAN a X. YANG. Design and Evaluation of Hydrophilic Matrix System Containing Polyethylene Oxides for the Zero-Order Controlled Delivery of Water-Insoluble Drugs. *AAPS PharmSciTech*. 2017, **18**(1), 82-92. DOI: 10.1208/s12249-016-0498-y. ISSN 1530-9932. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1208/s12249-016-0498-y>

[32] L. LI, L. WANG, Y. SHAO, R. NI, T. ZHANG a S. MAO. Drug release characteristics from chitosan–alginate matrix tablets based on the theory of self-assembled film. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013, **450**(1-2), 197-207. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.04.052. ISSN 03785173. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517313003530>