

Univerzita Karlova
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické technologie



Diplomová práce

**Hodnocení disoluce tablet obsahujících theofylin a směsi dvou typů
hydrogenfosforečnanu vápenatého a mikrokrystalické celulosy**

Dissolution testing of tablets containing theophylline and mixtures of two types of
calcium hydrogen phosphates and microcrystalline cellulose

Prohlášení

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové, dne 25.8.2017

Podpis:

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu diplomové práce PharmDr. Pavlu Ondřejkovi, Ph.D. za odborné vedení a pomoc při zpracování této práce a také za rady při vyhodnocování naměřených výsledků. Poděkování patří i mé rodině, která mi umožnila studovat a podporovala mne během celé doby studia.

Obsah

1	ABSTRAKT	6
2	ABSTRACT.....	7
3	ZADÁNÍ	8
4	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	9
5	ÚVOD.....	10
6	TEORETICKÁ ČÁST	11
6.1	Charakteristika surovin	11
6.1.1	Celulosa mikrokrytalická	11
6.1.2	Hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát	13
6.1.3	Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát.....	15
6.1.4	Stearan hořecnatý.....	17
6.1.5	Theofylin.....	19
6.2	Disoluce.....	21
6.2.1	Disoluční metody	22
6.2.1.1	Aparát s košíčkem (USP-1).....	23
6.2.1.2	Aparát s míchadlem – pádlem (USP-2).....	24
6.2.1.3	Aparát s vratným válcem (USP-3)	25
6.2.1.4	Aparát s průtokovou celou (USP-4)	26
6.2.1.5	Aparát s pádly nad diskem (USP-5)	27
6.2.1.6	Aparát s rotujícím válcem (USP-6).....	27
6.2.1.7	Aparát s vratným držákem (USP-7)	28
7	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
7.1	Použité suroviny.....	29
7.2	Použité přístroje	30
7.3	Složení použitých směsí	31
7.4	Postup práce	32
7.4.1	Příprava směsí.....	32
7.4.2	Příprava tablet	33
7.4.3	Kalibrační přímka theofylinu.....	34

7.4.4	Disoluce a její hodnocení.....	35
7.4.5	Zpracování výsledků.....	37
8	VÝSLEDKY	38
8.1	Absorpční spektrum a kalibrační přímka theofylinu.....	38
8.2	Disoluční testy.....	40
9	DISKUZE	49
9.1	Vliv poměru plniv na uvolnění theofylinu	49
9.2	Vliv typu hydrogenfosforečnanu vápenatého na uvolnění theofylinu	51
10	ZÁVĚRY	53
11	LITERATURA	55

1 ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické technologie

Školitel: PharmDr. Pavel Ondrejček, Ph.D.

Posluchač: Kateřina Vávrová

Název diplomové práce: Hodnocení disoluce tablet obsahujících theofylin a směsi dvou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého a mikrokrystalické celulosy

Cílem této práce bylo zhodnocení disoluce tablet obsahujících theofylin, mikrokrystalickou celulosu a jednoho ze dvou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého. Byl sledován vliv složení tabletoviny na disoluci tablet. Tablety byly slisovány ze směsí, které obsahovaly mikrokrystalickou celulosu, hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát a dihydrát. Tyto látky byly použity jako plniva. Připravené směsi obsahovaly theofylin jako modelovou účinnou látku a jako kluznou látku stearan hořečnatý. Následně byly provedeny disoluční testy. Při testech byla využita košíčková metoda. Jako disoluční médium byla použita 0,1M kyselina chlorovodíková.

Z výsledků této práce jsme došli k závěrům, že jsme schopni ovlivňovat celkové množství uvolňovaného theofylinu a jeho rychlost uvolňování různým poměrem mikrokrystalické celulosy a jednoho ze dvou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého. Nejrychleji se theofylin uvolňoval z tablet, které obsahovaly vysoký podíl mikrokrystalické celulosy. S klesající koncentrací mikrokrystalické celulosy a s rostoucí koncentrací obou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého se rychlost uvolňování theofylinu snižovala. Dále se také snižovalo celkové množství uvolněného theofylinu. Bylo také zjištěno, že typ hydrogenfosforečnanu vápenatého neovlivňuje celkové množství uvolněného theofylinu, ale může ovlivnit rychlost jeho uvolňování.

2 ABSTRACT

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradci Králové

Department of Pharmaceutical technology

Consultant: PharmDr. Pavel Ondrejček, Ph.D.

Student: Kateřina Vávrová

Title of Thesis: Dissolution testing of tablets containing theophylline and mixtures of two types of calcium hydrogen phosphates and microcrystalline cellulose

The aim of this thesis was the dissolution testing of tablets containing theophylline, the mixture of two dicalcium phosphate types and microcrystalline cellulose. The influence of tablet composition on the dissolution profiles was evaluated. The tablets were prepared from the mixtures containing microcrystalline cellulose, dicalcium phosphate anhydrous and dihydrate. These substances were used as fillers. Prepared mixtures contained theophylline as a model active ingredient and magnesium stearate as lubricant. Afterwards, the dissolution tests were done. For these tests, the basket method was utilized. As a dissolution medium the 0,1M hydrochloric acid solution was used.

From the results of this experiment we concluded that we can influence the total amount of released theophylline and the speed of its release by the different ratio of microcrystalline cellulose and one of dicalcium phosphate types. The fastest theophylline dissolution was in tablets with high microcrystalline cellulose content. With the decreasing concentration of microcrystalline cellulose and the increasing concentration of both dicalcium phosphate types the release speed decreased. Furthermore, the total amount of released theophylline decreased. It was also found that the type of dicalcium phosphate does not influence the total released theophylline amount but it can influence its release speed.

3 ZADÁNÍ

Teoretická část této práce bude věnována charakterizování použitých surovin a popsání různých metod disoluce a faktorů, které ji mohou ovlivnit. Pomocí disolučních studií můžeme stanovit množství uvolněné léčivé látky z dané lékové formy a odhadnout chování této formy v organismu. V dnešní době mají disoluční studie nezastupitelnou úlohu v hodnocení různých lékových forem.

V experimentální části této práce budou zhodnoceny disoluční zkoušky tablet, které obsahují jako účinnou látku theofylin a jako kluznou látku stearan hořečnatý. Součástí tablet jsou ještě další plniva. Jako plniva jsou použita mikrokrytalická celuloza Compracol 102, hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát DI-CAFOS A150 a hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát DI-CAFOS D160. Experimentální část zahrnuje nejen provedení a hodnocení disolučních zkoušek, ale také přípravu tabletoviny, lisování tablet a vyhodnocení výsledků. V závěru práce je zhodnocen vliv poměru mikrokrytalické celulosy a jednoho z typů hydrogenfosforečnanu vápenatého. Dále je porovnáván vliv dvou typů hydrogenfosforečnanu na disoluční profil.

4 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

A	absorbance
\bar{A}	průměrná hodnota absorbance
A1 až A5	směsi odpovídajícího složení uvedeného v tabulce č. 1
c	koncentrace [%]
C1 až C5	směsi odpovídajícího složení uvedeného v tabulce č. 1
GIT	gastrointestinální trakt
HFVA	hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát (bezvodý)
HFVD	hydrogensforečnan vápenatý dihydrát
CHOPN	chronická obstrukční plicní nemoc
MCC	mikrokrytalická celulóza
s	směrodatná odchylka
SMg	stearan hořečnatý
$\bar{\emptyset}$	průměr

5 ÚVOD

V současnosti patří tablety mezi jedny z nejčastěji využívaných lékových forem. Jsou to tuhé, pevné přípravky, které mohou obsahovat jednu nebo více léčivých látek a další pomocné látky. Tablety jsou získávány různými výrobními postupy – přímým lisováním, vytlačováním (extruzí), formováním nebo lyofilizací. Mohou mít různé tvary, nejčastěji jsou ploché nebo čočkovité. Pro snadnější dávkování jsou opatřeny půlicí ryskou, z identifikačních důvodů mají někdy nápis. [1]

Mají řadu výhod, mezi hlavní můžeme zařadit jednoduchou výrobu, nižší cenu, přesné a pohodlné dávkování a vyšší stabilitu oproti jiným lékovým formám. Další předností tablet je, že můžeme upravit jejich povrch vhodným obalem a ovlivnit, jestli dojde k absorpci léčivé látky v žaludku nebo až v tenkém střevě. Ne vždy je aplikace tablet možná (poruchy trávicího ústrojí, malé děti, nespolupracující pacienti, nízká biologická dostupnost), a proto je třeba zvolit jinou, vhodnější lékovou formu. Český lékopis rozděluje několik druhů tablet pro perorální podání. Jako každá léková forma musí i tablety splňovat požadovaná jakostní kritéria, být stálé a odolné proti vnějším vlivům. Provádí se zkoušení stejnoměrnosti dávkových jednotek, obsahové stejnoměrnosti, hmotnostní stejnoměrnosti, zkouška disoluce nebo rozpadavosti. [2]

„Disoluční testy jsou velmi důležité zejména tehdy, když je rychlost rozpouštění léčivé látky limitujícím stupněm pro její absorpci. Proto se tyto testy používají jako významná lékopisná kontrolní metoda a jsou často nezbytnou částí registrační dokumentace léku“. [3]

Provedením zkoušky disoluce jsme schopni stanovit množství uvolněné léčivé látky z pevné lékové formy v předepsané kapalině (disoluční médium) a v předepsaném čase. Díky disolučním testům můžeme odhadnout, jak se bude účinná látka z lékové formy uvolňovat in vivo. V této diplomové práci byla použita košíčková metoda a byl sledován vliv složení tablet na disoluční profil theofylinu.

6 TEORETICKÁ ČÁST

6.1 Charakteristika surovin

6.1.1 Celulosa mikrokrytalická [4]

Nechráněné názvy:

BP: Microcrystalline Cellulose

JP: Microcrystalline Cellulose

PhEur: Cellulose, Microcrystalline

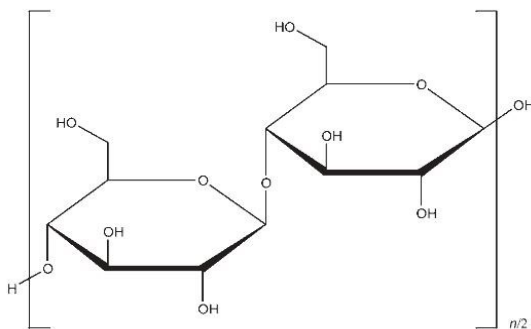
USP-NF: Microcrystalline Cellulose

Synonyma:

Avicel PH, Cellets, Celex, cellulose gel, hellulosum microcristallinum, Celphere, Ceolus KG, crystalline cellulose, Cyclocel, E460, Emcocel, Ethispheres, Fibrocel, MCC Sanaq, Microcel, Pharmacel, Tabulose, Vivapur.

Empirický vzorec: $(C_6H_{10}O_5)_n$

Strukturní vzorec:



Obr. č. 1: Strukturní vzorec mikrokrytalické celulosy, převzato z [4]

Využití:

Mikrokrystalická celulóza nachází široké uplatnění ve farmacii. Může se používat především jako pojivo nebo plnivo v perorálních tabletech a tobolkách. MCC je vhodná pro suchou granulaci, vlhkou granulaci i pro přímé lisování. Má i funkci kluzné látky a rozvolňovadla (snižuje tření tablet a usnadňuje jejich rozpad). Tyto vlastnosti se nechají uplatnit při tabletování. MCC si našla své uplatnění nejen ve farmacii, ale je využívána také v kosmetice a potravinářském průmyslu.

Popis:

Mikrokrystalická celulóza je čištěná, částečně depolymerizovaná celulóza. Vyskytuje se ve formě bílého prášku, který je bez zápachu a bez chuti a je tvořený z porózních částic. MCC komerčně dostupná se nachází v různých formách, které se liší velikostí částic a stupněm vlhkosti. Mohou k ní být přimíchány další pomocné látky, například karagen, sodná sůl karboxymethylcelulosy, mannitol nebo guarová guma.

Rozpustnost:

Mikrokrystalická celulóza je mírně rozpustná v 5 % roztoku hydroxidu sodného, prakticky nerozpustná ve vodě, zředěných kyselinách a většině organických rozpouštědel. [4]

Lékopis udává, že MCC je prakticky nerozpustná ve vodě, v acetonu, v ethanolu bezvodém, v toluenu, ve zředěných kyselinách a v roztoku hydroxidu sodného (50 g/l). [5]

Vlastnosti:

Mikrokrystalická celulóza je za normálních podmínek fyzikálně i chemicky stabilní. Je navíc hygroskopická a měla by být uchovávána v dobře uzavřených nádobách v chladném a suchém místě. MCC je neslučitelná se silnými oxidačními činidly.

Výroba:

Mikrokrystalická celulóza je typicky vyráběna řízenou hydrolyzou alfa-celulosity působením roztoků zředěných minerálních kyselin. Následně je hydrocelulóza promývána vodou a filtrována. Vodná suspenze se poté suší rozprašováním za vzniku suchého prášku.

Bezpečnost:

Mikrokrystalická celulóza je široce využívána v perorálních farmaceutických přípravcích a potravinových produktech. Obecně je považována za relativně netoxickou a nedráždivou látku. Po perorálním podání není systémově absorbována, proto má malý toxický potenciál. Spotřeba velkého množství celulosity může mít laxativní efekt, ačkoli je to nepravděpodobné, když je využita jako pomocná látka v léčivých přípravcích. Abúzus prostředků obsahujících celulosu, buď inhalační cestou, nebo injekční, může mít za následek vznik celulózových granulomů.

6.1.2 Hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát [6]**Nechráněné názvy:**

BP: Anhydrous Calcium Hydrogen Phosphate

JP: Anhydrous Dibasic Calcium Phosphate

PhEur: Calcium Hydrogen Phosphate, Anhydrous

USP-NF: Anhydrous Dibasic Calcium Phosphate

Synonyma:

A-TAB, calcii hydrogenophosphas anhydricus, calcium monohydrogen phosphate, calcium orthophosphate , Di-Cafos AN, dicalcium orthophosphate, E341, Emcompress Anhydrous, Fujicalin, phosphoric acid calcium salt (1:1), secondary calcium phosphate.

Empirický vzorec: CaHPO_4

Využití:

Bezvodý hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát se používá jako pomocná látka a také jako zdroj vápníku v nutričních doplncích. HFVA je využíván ve farmaceutických přípravcích, protože má zhušťovací vlastnosti a dobré tokové vlastnosti hrubým materiálem. HFVA hrubého stupně má abrazivní charakter, a proto je výhodné při tabletování užít vhodnou kluznou látku (například 1% w/w stearan hořečnatý nebo 1% w/w stearyl fumarát sodný).

Ve farmaceutickém průmyslu jsou používány dvě velikosti částic HFVA. Rozemletý materiál se obvykle používá k vlhké granulaci. Nemletý nebo hrubý materiál se používá při přímém lisování. Bezvodý HFVA vápenatý je nehygroskopický a stabilní při pokojové teplotě. Je využíván pro své abrazivní schopnosti do přípravků na čištění zubů a do zubních past.

Popis:

Bezvodý hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát je bílý prášek bez zápachu a chuti nebo krystalická pevná látka. Vyskytuje se ve formě triklinických krystalů. [6]

Lékopis definuje HFVA jako bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je prakticky nerozpustný ve vodě a ethanolu 96%. Rozpouští se ve zředěné kyselině chlorovodíkové a zředěné kyselině dusičné. [7]

Stabilita a podmínky skladování:

Hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát je nehygroskopický a relativně stabilní materiál. Při vysoké vlhkosti vzduchu nevzniká z anhydrátu dihydrát. Sypký materiál by měl být skladován v dobře uzavřené nádobě na suchém místě.

Inkompatibility:

Hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát by neměl být používán k formulaci tetracyklinových antibiotik. Povrch mletého HFVA je zásaditý, a proto by neměl být užíván s léčivými látkami, která jsou citlivá na zásadité pH. Nicméně studie naznačují, že existují rozdíly v povrchové zásaditosti, aciditě mezi mletým a nemletým HFVA. Nemletá forma HFVA má spíše kyselé prostředí na povrchu. U bezvodého HFVA může docházet k neslučitelnosti s mnoha léčivými i pomocnými látkami.

Výroba:

Fosforečnany vápenaté jsou obvykle připravovány reakcí velmi čisté kyseliny fosforečné s hydroxidem vápenatým získaným z vápence. Následuje sušení vodné suspenze při teplotě, která umožní, aby bylo dosaženo správného hydratačního stupně. Po vysušení se získá hrubý stupeň látky a jemná velikost částic se získá mletím. Bezvodý HFVA může být také připraven sušením pomocí rozprašování.

Bezpečnost:

Hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát je široce využíván v perorálních léčivých přípravcích, v potravinových produktech, zubních pastách a je obecně považován za relativně netoxický a nedráždivý materiál. Je třeba dodržovat obvyklá bezpečnostní opatření přiměřená okolnostem a množství materiálu. Jemně rozemleté částice mohou tvořit dráždivý prach, a proto je vhodné použít roušku nebo respirátor.

6.1.3 Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát [8]**Nechráněné názvy:**

BP: Calcium Hydrogen Phosphate

JP: Dibasic Calcium Phosphate Hydrate

PhEur: Calcium Hydrogen Phosphate Dihydrate

USP-NF: Dibasic Calcium Phosphate Dihydrate

Synonyma:

Calcii hydrogenophosphas dihydricus, calcium hydrogen orthophosphate dihydrate, calcium monohydrogen phosphate dihydrate, DiCafos, dicalcium orthophosphate, DI-TAB, E341, Emcompress, phosphoric acid calcium salt (1:1) dihydrate, secondary calcium phosphate.

Empirický vzorec: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Využití:

Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát je široce využíván v tabletových lékových formách jako pomocná látka nebo může být využit jako zdroj vápníku a fosforu v nutričních doplňcích. Je to jedna z mnoha látek, která se uplatňuje ve zdravotnictví a v oblasti výživy. Vyznačuje se dobrou lisovatelností a dobrými tokovými vlastnostmi hrubého materiálu, což jsou výhody, díky kterým našel uplatnění ve farmaceutickém průmyslu. HFVD je stejně jako HFVA abrazivní, proto je nutné při tabletování použít kluznou látku, např. 1% w/w stearan hořečnatý nebo 1% w/w stearyl fumarát sodný. Ve farmaceutickém průmyslu se využívají dvě velikosti částic HFVD. Mletý materiál je typicky využíván pro vlhkou a suchou granulaci. Nemletý nebo hrubý materiál je typicky využíván pro přímé lisování.

Popis:

Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát je nehygroskopický a stabilní při pokojové teplotě. Avšak za určitých teplotních a vlhkostních podmínek může krystalizací ztrácet vodu pod 100°C. To může mít důsledky pro určité typy obalů a vodných filmových potahů. Vyvolávajícím podnětem ke ztrátě vody může být vysoká vlhkost nebo vysoká koncentrace vodních par v blízkosti základních částic HFVD. HFVD se také používá do zubních past a zubních čistících prášků, protože má již zmiňované abrazivní vlastnosti.

Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát je bílý prášek bez zápachu a bez chuti nebo krystalická pevná látka. Vyskytuje se ve formě monoklinických krystalů. Podle lékopisu je HFVD charakterizován jako bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě a ethanolu 96%. Rozpouští se ve zředěné kyselině chlorovodíkové a zředěné kyselině dusičné. [9]

Stabilita a podmínky skladování:

Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát je nehygroskopický, relativně stabilní materiál. Za určitých podmínek může dihydrát ztrácet svojí krystalickou vodu, proto je velmi důležité, jak jsou sypký materiál, povlak a tablety obsahující HFVD uskladňovány. Měly by být uchovávány v dobře uzavřených nádobách na chladném a suchém místě.

Inkompatibility:

Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát by neměl být použit v tetracyklinových antibioticích. Bylo hlášeno, že HFVD je také inkompatibilní s indometacinem, aspirinem, aspartamem, ampicilinem, cefalexinem a erytromycinem. Souvisí to s tím, že povrch HFVD je alkalický a tudíž nemůže být použit s léčivy, které jsou na alkalické pH citlivé.

Bezpečnost:

Hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát se používá do perorálních léčivých přípravků, potravinových produktů, zubních past a je obecně považován za relativně netoxický a nedráždivý materiál. Avšak pozřením většího množství HFVD může dojít k bolestem břicha. Je třeba dodržovat obvyklá opatření přiměřená okolnostem a množství materiálu při manipulaci s HFVD. Jemně mletý materiál může tvořit obtěžující prach, proto je vhodné použít roušku nebo respirátor.

6.1.4 Stearan hořečnatý [10]**Nechráněné názvy:**

BP, JP, PhEur, USP-NF: Magnesium stearate

Synonyma:

Dibasic magnesium stearate, magnesium distearate, magnesi stearas, magnesium octadecanoate, octadecanoic acid, magnesium salt, stearic acid, magnesium salt, Synpro 90.

Empirický vzorec: $C_{36}H_{70}MgO_4$

Strukturní vzorec: $[CH_3(CH_2)_{16}COO]_2Mg$

Využití:

Stearan hořečnatý se používá jako pomocná látka při výrobě tablet a kapslí. Má funkci kluzné látky a tím dokáže zvýšit sypnost tabletoviny. Stearan hořečnatý nachází uplatnění v mnoha odvětvích, například v kosmetice, v potravinářství a ve farmaceutickém průmyslu. Primárně se používá jako lubrikační látka při výrobě kapslí a tablet (nejčastěji v koncentraci mezi 0,25% a 5,0% w/w). SMg vytváří na ostatních částicích tabletoviny film, který vede k prodloužení doby uvolňování léčiva a prodloužení doby rozpadu tablety. [11]

Popis:

Stearan hořečnatý je velmi jemný, lehký, bílý sedimentární nebo mletý, nehmatatelný prášek, který má nízkou objemovou hmotnost. Má slabou vůni kyseliny stearové a charakteristickou chuť. Prášek je mastný na dotek a snadno přilne ke kůži.

Lékopis udává, že je stearan hořečnatý bílý nebo téměř bílý, velmi jemný a lehký prášek, na omak mastný. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v ethanolu bezvodém. [12]

Stabilita a podmínky skladování:

Stearan hořečnatý je stabilní a měl by být skladován v dobře uzavřené nádobě na chladném a suchém místě.

Inkompatibility:

Stearan hořečnatý je inkompatibilní se silnými kyselinami, zásadami a solemi železa. Měli bychom se vyvarovat smíchání stearanu se silně oxidačními materiály. SMg by neměl být použit ve výrobcích obsahujících aspirin, některé vitamíny a většinu alkaloidních solí.

Metody výroby:

Stearan hořečnatý lze připravit buď vzájemným působením vodného roztoku chloridu hořečnatého se steátem sodným nebo interakcí oxidu, hydroxidu nebo uhličitanu hořečnatého s kyselinou stearovou při zvýšených teplotách.

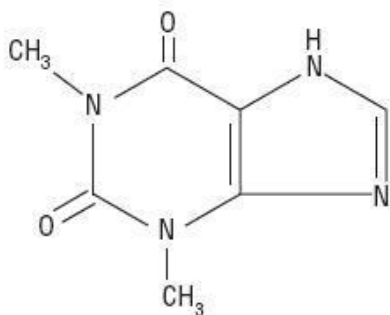
Bezpečnost:

Stearan hořečnatý je používán obvykle jako pomocná látka a je považován za netoxický. Nicméně požití velkého množství může mít projímavý účinek nebo dojde k podráždění sliznice. Toxicita SMg byla posuzována na potkanech a došlo se k závěrům, že nedráždí kůži a je netoxický po perorálním podání nebo inhalaci.

Při manipulaci se SMg je třeba dodržovat obvyklá opatření přiměřená okolnostem a množství materiálu. Je doporučena ochrana očí a rukavice. Nadměrné vdechování prachu SMg může vést k dyskomfortu horních cest dýchacích, kašli a dušení. Je vhodné manipulovat se SMg v dobře větrané místnosti a za použití respirátoru.

6.1.5 Theofylin [13]**Lékopisný název:**

Theophyllinum

Strukturní vzorec:

Obr. č. 2: Strukturní vzorec theofylinu, převzato z [14]

Definice:

Je to 1,3-dimethyl- 3,7-dihydro-2H-purin-2,6(1H)-dion. Obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_7H_8N_4O_2$, počítáno na vysušenou látku. [13]

Synonyma:

1,3- dimethylxanthine, Elixophyllin, Theolair, Theophylline, Theophyllin, Aerobin, Uniphyllin apod. [15]

Vlastnosti:

Lékopis udává, že se jedná o bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Theofylin je těžce rozpustný ve vodě a mírně rozpustný v ethanolu bezvodém. Rozpouští se v roztocích alkalických hydroxidů, v amoniaku a v minerálních kyselinách. [13]

Popis a využití:

Podle struktury můžeme theofylin zařadit mezi methylxantiny. Vykazuje podobné strukturální a farmakologické vlastnosti jako theobromin nebo kofein. V přírodě se nachází v kakaových bobech nebo čajových listech. Theofylin je bílý krystalický prášek bez zápachu s hořkou chutí. [15]

Mechanismus účinku theofylinu spočívá v inhibici fosfodiesterázy a v antagonistickém působení na adenosinových receptorech. Pro své účinky, kdy způsobuje relaxaci hladké svaloviny bronchů (bronchodilataci), se využívá v léčbě onemocnění dýchacích cest, především v léčbě astmatu nebo CHOPN. Theofylin také působí stimulačně na srdce, centrální nervový systém a působí diuretický.

Dobře se absorbuje po perorálním podání a je rozsáhle metabolizován v játrech. [15] Močí je vylučováno 10-15% mateřské látky, exkretuje se rovněž slinami (frakce nevázaná na plazmatické bílkoviny). [16]

V případě těžkých záchvatů astmatu může být podán i parenterálně.

Výroba:

Theofylin se získává extrakcí čajových lístků nebo chemickou syntézou, která začíná s dimethylureou a ethylkyanoacetátem. [15]

Bezpečnost:

Nevýhodou theofylinu je úzké terapeutické okno. Vyšší koncentrace (zejména nad 40 mg/l) vedou k intoxikaci projevující se nespavostí, nauzeou a zvracením, průjmami, palpitacemi, zvýšeným krevním tlakem až svalovými křečemi. [16]

Není hořlavý, ale při zahřívání se rozkládá a může tvořit toxické výpary včetně oxidů dusíku. [15] Preventivní opatření mohou zahrnovat použití respirátoru, aby nebyly vdechovány výpary a použití ochranných pomůcek (rukavic a brýlí).

6.2 Disoluce

Principem zkoušky disoluce je stanovení množství uvolněné léčivé látky z lékové formy v předepsaném disolučním médiu a v předepsaném čase. Zkoušky disoluce nenašly uplatnění pouze u pevných lékových forem, ale mohou být využity i u transdermálních přípravků (náplasti), u lipofilních tuhých lékových forem (čípky, tobolky) a léčivých žvýkacích gum.

Při zkouškách disoluce je zkoušená jednotka léku vpravena do disoluční kapaliny, v určených časových intervalech jsou odebírány vzorky, ve kterých se následně pomocí vhodné analytické metody stanoví množství uvolněné léčivé látky (disoluční profil léčiva). Je nutné přesné dodržování podmínek, aby bylo možné výsledky porovnávat mezi různými pracovišti. [17]

Podmínky související se složením a vlastnostmi rozpouštěcí kapaliny: [17]

- **teplota** – používá se 37°C (perorální, vaginální, rektální, oční, implantační lékové formy), 32°C u dermálních lékových forem; s rostoucí teplotou většinou dochází ke zvýšení rychlosti rozpouštění léčivé látky.
- **rozpouštěcí kapalina a viskozita** – čištěná voda, tlumivé roztoky, gely; rychlost uvolňování léčivé látky se zpravidla snižuje se vzrůstající viskozitou.

- **objem rozpouštěcí kapaliny** – měl by být zvolen takový, který simuluje fyziologické podmínky; je důležité, aby nedošlo k přesycení rozpouštěcí kapaliny léčivou látkou; rychlost rozpouštění se snižuje s rostoucí koncentrací léčiva v rozpouštěcí kapalině.
- **hodnota pH** – ovlivňuje především rychlost rozpouštění slabých kyselin a zásad; u slabých kyselin se rychlost rozpouštění zvyšuje s rostoucím pH, u slabých zásad je tomu naopak.
- **povrchově aktivní látky** – mohou mírně zvyšovat rychlost rozpouštění léčivé látky.
- **enzymy** – používají se ty, které se nacházejí ve fyziologickém prostředí (př. pepsin); většinou zvyšují rychlost rozpouštění léčivých látek.

Mezi další podmínky, které musí být přesně definovány a dodržovány, patří:

- **tvar a velikost nádoby**
- **tvar a rychlost otáček míchadla**

Disoluční testy lze ve farmaceutickém průmyslu využít k mnoha účelům – při vývoji nového léku, při kontrolách kvality a při stanovení bioekvivalence.

6.2.1 Disoluční metody

Výběr vhodné disoluční metody závisí na vlastnostech lékové formy. Americký lékopis charakterizuje sedm typů disolučních metod (USP1-USP7). [18] Český lékopis popisuje pro perorální pevné lékové formy disoluční metody, které jsou realizovány pomocí přístroje s košíčkem nebo míchadlem, přístroje s vratným válcem anebo s průtokovou celou. [19]

Ve farmaceutickém průmyslu se přístroj s košíčkem nebo míchadlem využívá pro optimalizaci lékových formulací během jejich vývoje a pro kontrolu jejich kvality, která zajistí reprodukovatelnost šarží. [19]

6.2.1.1 Aparát s košíčkem (USP-1)

Metoda s košíčkem byla poprvé popsána v roce 1968 Pernarowskim a jeho spolupracovníky. [20] Přístroj se skládá z nádoby, která je vyrobena ze skla nebo jiného inertního průhledného materiálu. Nádoba může být zakryta víkem, aby nedocházelo k odpařování disolučního média. Dále se zařízení skládá z motoru a hnací hřídele, na kterou je upevněn válcovitý košíček (míchací jednotka). Nádoba je částečně ponořena do vhodné lázně, především vodné, která musí být vytemperována na předepsanou teplotu. Nádoba je válcovitého tvaru s půlkulatým dnem a o objemu 1 litr. Přesné rozměry jsou uvedeny v lékopise. Hřídel musí umožňovat plynulou rotaci, jinak by mohlo dojít ke zkresleným výsledkům. Hřídel a košíček bývají nejčastěji vyrobeny z nerezové oceli. Je důležité, aby materiál, ze kterého je zařízení vyrobeno, byl chemicky inertní a aby negativně neovlivňoval zkoušený přípravek. Na začátku každé zkoušky se vkládá dávková jednotka do suchého košíčku. [21] Obrázek č. 3 znázorňuje detail hřídele, na kterou se napojí košíček (USP-1) nebo míchadlo (USP-2).

Obr. č. 3: Detail košíčku a míchadla, převzato z [22]



6.2.1.2 Aparát s míchadlem – pádlem (USP-2)

Toto zařízení se skládá ze stejných částí jako USP-1, pouze košíček je nahrazen lopatkovým míchadlem (pádlem). [18] Hřídel musí být vystředěna a musí umožňovat plynulou rotaci bez chvění, které by mohlo negativně ovlivnit výsledky. Míchadlo by mělo být opět vyrobeno z inertního materiálu a mělo by tvořit s hřídelí jeden celek. Před spuštěním míchadla se vkládá zkoušený přípravek na dno nádoby. Abychom zamezili vznášení dávkové jednotky v disolučním médiu, je možné ji přidržet u dna použitím vhodné pomůcky např. spirálky z drátku. [21]

Zařízení USP-1 a USP-2 mají některé společné výhody i nevýhody. Mezi výhody patří: nejrozšířenější metody pro testování disoluce, jsou to zařízení první volby pro pevné perorální lékové formy, standardizace, snadná manipulace a relativně dlouhodobé zkušenosti. [18] Nevýhodou je omezený objem disolučního média, a proto jsou tyto metody použity pro uzavřený model hodnocení léčiv. [18] To znamená, že se používají tam, kde se rozpuštěné léčivo kumuluje v systému. In vivo se totiž léčivo může dále absorbovat a distribuovat do dalších systémů. Na obrázku č. 4 je znázorněn aparát s míchadly.

Obr. č. 4: Zařízení s míchadly, převzato z [22]

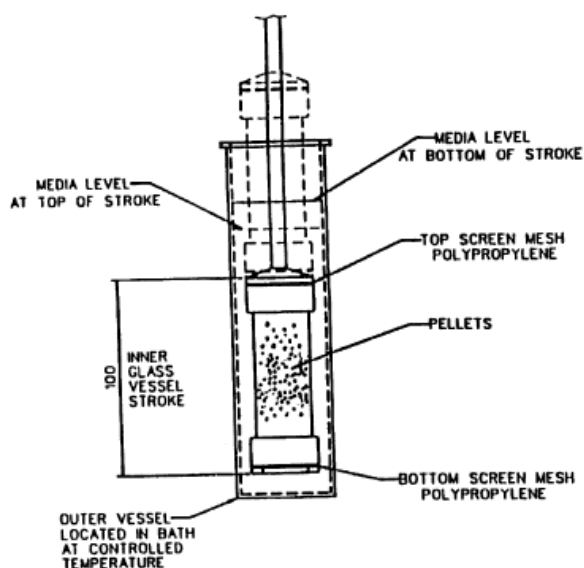


6.2.1.3 Aparát s vratným válcem (USP-3)

Zařízení se skládá z válcovitých nádob s plochým dnem a z vratných válců. K překrytí horních a dolních částí válců slouží sítky, které musí být vyrobeny z neadsorbujícího a nereaktivního materiálu. Další částí je motor a hnací zařízení, které umožňuje vratný svislý pohyb válců uvnitř nádoby. Nádoby jsou částečně ponořené do vodní lázně vytemperované na $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Nádoby bývají opatřeny odpařovacím víkem, které při zkoušení zůstává na svém místě. Rozměry skleněných nádob a vratných válců jsou dány lékopisem. [21]

Zkoušená jednotka se vkládá do vratného válce, který se během zkoušky pohybuje nahoru a dolů, přičemž dochází k uvolňování léčivé látky. Použitím této metody jsme schopni simulovat podmínky v GITu, protože můžeme simulovat změny pH. Můžeme sledovat průběh disoluce z více médií najednou, protože máme k dispozici více nádob. Média se mohou snadno vyměňovat. Nevýhodou tohoto aparátu je malý objem disolučního média, při použití povrchově aktivních látek může docházet k pění a při delším testování může docházet k vypařování médií.[18] Na obrázku č. 5 je znázorněn detail aparátu s vratným válcem.

Obr. č. 5: Aparát s vratným válcem, převzato z [22]



6.2.1.4 Aparát s průtokovou celou (USP-4)

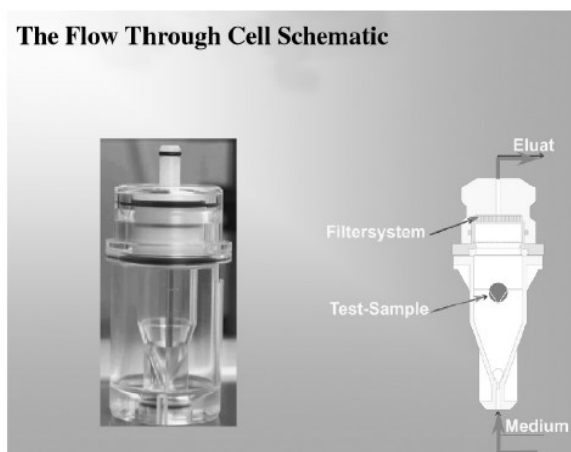
Zařízení se skládá ze zásobní nádoby, pumpy na disoluční médium, průtokové cely a vodní lázně, která udržuje disoluční médium při $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Pumpa vytlačuje disoluční médium přes průtokovou celu různou rychlostí. Musí zajišťovat konstantní tok s pulzací 120 ± 10 pulzů/minutu nebo lze použít pumpu s nepulzujícím průtokem.

Průtoková cela je tvořena průhledným a inertním materiálem a je spojena s filtračním systémem. Standardní rozměry cely jsou uvedeny v lékopise. Cela se ponořuje do vodní lázně a teplota se udržuje při $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. [21]

Při testování pomocí USP-4 se zkoušená jednotka vkládá do držáku nebo na skleněné kuličky. Disoluční médium je čerpáno skrz dno nádoby, aby bylo dosaženo požadované rychlosti průtoku. Následně jsou vzorky odebírány na výstupu z cely. Tento aparát můžeme použít pro testování široké škály lékových forem zahrnující tablety, prášky, čípky, tvrdé nebo měkké tobolky. Je to metoda volby pro formy s prodlouženým uvolňováním nebo špatně rozpustné. [18]

Mezi výhody tohoto zařízení patří neomezené množství disolučního média, je vhodné pro špatně rozpustné látky, lze simulovat gastrointestinální průchod, lze ho použít u speciálních lékových forem – prášek, granule, implantáty. Nevýhodu můžeme najít v omezených zkušenostech s tímto přístrojem. [18] Na obrázku č. 6 je znázorněn detail průtokové cely.

Obr. č. 6: Detail průtokové cely, převzato z [22]

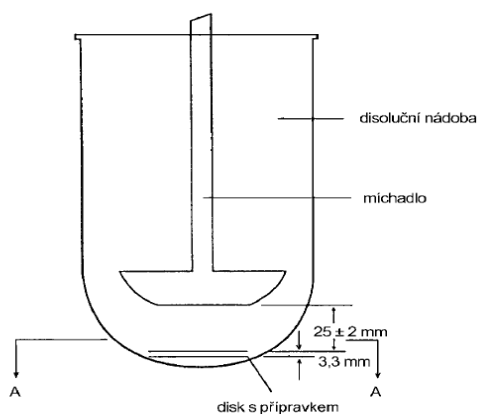


6.2.1.5 Aparát s pádly nad diskem (USP-5)

Tento aparát s pádly nad diskem je podobný aparátu podle USP-2. Použije se stejný disoluční přístroj s míchadlem, který je navíc opatřen diskem z nerezové oceli ve formě sítky. Rozměry otvorů sítky jsou dány lékopisem. Zkoušený přípravek je u dna nádoby přidržován pomocí disku. Hlavní funkcí disku je, aby udržoval náplast rovnou, rovnoběžnou se spodní hranou listu míchadla a s povrchem uvolňování orientovaným nahoru. Teplota, při které test probíhá, se udržuje na $32 \pm 0,5^\circ\text{C}$ a nádoba se zakrývá, aby se zamezilo odpařování média. [23]

Na obrázku č. 7 je znázorněna disoluční nádoba s míchadlem a diskem, do kterého se vkládá náplast. Tento přístroj se používá k testování transdermálních náplastí. [18]

Obr. č. 7: Umístění míchadla a disku v disoluční nádobě, převzato z [23]



6.2.1.6 Aparát s rotujícím válcem (USP-6)

Při této metodě se použije aparát s míchadlem, ale list míchadla a hřídel je nahrazena válcem z nerezové oceli. Na začátku zkoušky se náplast umístí na válec. Teplota, při které test probíhá, se opět udržuje na $32 \pm 0,5^\circ\text{C}$. [23]

Náplast se vhodným způsobem umístí na válec, který se připojí k přístroji a uvede se do rotačního pohybu. V určených časových intervalech se odebírají vzorky, které jsou následně hodnoceny vhodnou analytickou metodou. Množství uvolněné léčivé látky z náplasti v určeném čase, se vyjadřuje jako množství na jednotku plochy povrchu náplasti za jednotku času. Přípravek vyhovuje, pokud jsou výsledky testu v požadovaném rozmezí. [23] Tento aparát se také používá k testování transdermálních náplastí, stejně jako USP-5. [18] Detail válce, který se používá při této metodě je znázorněn na obrázku č. 8.

Obr. č. 8: Detail válce, převzato z [22]



6.2.1.7 Aparát s vratným držákem (USP-7)

Tento aparát je podobný USP-3, ale má jiné rozměry. Poprvé byl použit pro testování malých transdermálních náplastí, kdy není potřeba velkých objemů disolučního média. Postupně byly přidávány další nástavce, které rozšířily použitelnost této metody i u jiných lékových forem. [18]

Teplota vodní lázně se volí podle typu lékové formy. Tento aparát nachází uplatnění při testování transdermálních náplastí, tablet, tobolek nebo implantátů.

7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

7.1 Použité suroviny

Microcrystalline cellulose Comprecel 102

šarže: C1307086

výrobce: Mingtai chemical CO., LTD., Taiwan

Theophyllinum

šarže: TAM/10071

výrobce: Dr. Kulich Pharma, s.r.o., Hradec Králové – Česká Republika

Magnesii stearas

šarže: C334749

výrobce: JRS Pharma GmbH & Co. Kg., Německo

Dicalcium phosphate anhydrous DI-CAFOS A150

šarže: MV 4000

výrobce: Chemische Fabrik Budenheim KG, Německo

Dicalcium phosphate dihydrate DI-CAFOS D160

šarže: MV 5030

výrobce: Chemische Fabrik Budenheim KG, Německo

7.2 Použité přístroje

- Digitální váhy KERN 440 – 33N (GOTTLE KERN & SOHN GmbH, SRN)
- Analytické váhy CAHN HR – 120 (A&D Company Limited, Japan)
- Mísící krychle KB 15S (Erweka, SRN)
- Lisovací přípravek Adamus HT (Machine Factory Group, Szczecin, Polsko)
- Zařízení pro testování pevnosti materiálu v tlaku a tahu Zwick GmbH (Ulm, SRN)
- Disoluční přístroj SOTAX AT-7 Smart (SOTAX)
- Spektrofotometr Specord 205 (Analytic Jena, SRN)

7.3 Složení použitých směsí

Celá experimentální část se týká dvaceti směsí o hmotnosti 100g. Směsi jsou podle obsahu rozdílného typu hydrogenfosforečnanu vápenatého rozděleny na směs A a C. Složení jednotlivých směsí, které byly použity v této práci, shrnuje tabulka č. 1.

Tabulka č. 1: Složení směsí

Směs	Vzorek				
Směs č. A s theofylinem	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5
DI-CAFOS D160	0,0	20,0	40,0	60,0	80,0
Comprecel 102	80,0	60,0	40,0	20,0	0,0
Theofylin	19,5	19,5	19,5	19,5	19,5
Stearan hořecnatý	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Směs č. A bez theofylinu	A-1 S	A-2 S	A-3 S	A-4 S	A-5 S
DI-CAFOS D160	0,0	20,0	40,0	60,0	80,0
Comprecel 102	80,0	60,0	40,0	20,0	0,0
Stearan hořecnatý	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Směs č. C s theofylinem	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
DI-CAFOS A150	0,0	20,0	40,0	60,0	80,0
Comprecel 102	80,0	60,0	40,0	20,0	0,0
Theofylin	19,5	19,5	19,5	19,5	19,5
Stearan hořecnatý	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Směs č. C bez theofylinu	C-1 S	C-2 S	C-3 S	C-4 S	C-5 S
DI-CAFOS A150	0,0	20,0	40,0	60,0	80,0
Comprecel 102	80,0	60,0	40,0	20,0	0,0
Stearan hořecnatý	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

7.4 Postup práce

První krok této práce zahrnoval přípravu jednotlivých směsí, ze kterých byly lisovány tablety. Následovalo sestrojení kalibrační křivky theofylinu, kdy byly připraveny roztoky o různé koncentraci a byla proměřena jejich absorbance. Provedl se test disoluce pomocí košíčkové metody, odebrané vzorky byly proměřeny pomocí přístroje Specord 205 (Analytic Jena, SRN) při vlnové délce 270 nm. Získané hodnoty absorbance jednotlivých vzorků byly porovnávány s kalibrační přímkou theofylinu.

7.4.1 Příprava směsí

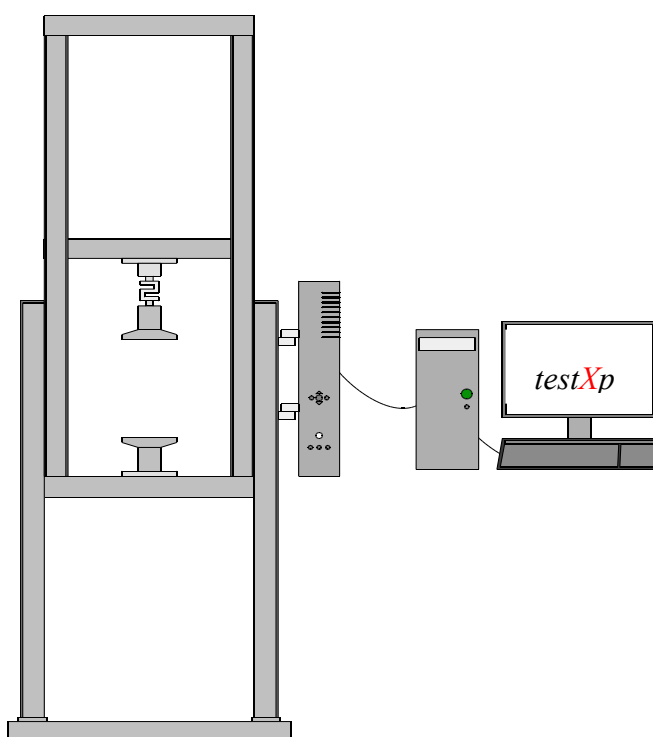
Jednotlivé směsi jsem připravila podle tabulky č. 1. Stanovené množství Comprecelu 102, DI-CAFOSU D160, DI-CAFOSU A150 a theofylinu jsem navažovala na digitální váze KERN 440 – 33N, stearan hořečnatý na analytické váze CAHN HR – 120. K mísení směsí byla použita mísicí krychle KB 15S. Rychlost otáček byla nastavena na 105 otáček za minutu. Nejprve jsem smísila plniva – Comprecel 102, DI-CAFOS D160/ A150 a účinnou látku theofylin, po přidání každé složky následovalo pětiminutové mísení. Nakonec byla přidána kluzná látka stearan hořečnatý a opět následovalo pětiminutové mísení.

Celkem jsem připravila dvacet směsí. Deset obsahovalo theofylin a deset bylo bez theofylinu. Směsi bez theofylinu sloužily jako kontrolní vzorky. Jednotlivé vzorky směsi A a C se lišily různou koncentrací pomocných látek, směs A a C navíc různým typem DI-CAFOSU.

7.4.2 Příprava tablet

Tablety byly lisovány v lisovacím přípravku Adamus HT (Machine Factory Group, Szczecin, Polsko), v zařízení pro testování pevnosti materiálu v tlaku a tahu Zwick/Roell T1-FRO 50 (Zwick GmbH, Ulm, SRN). Zařízení je znázorněno na obrázku č. 9.

Obr. č. 9: Trhací lis Zwick/ Roell T1 FRO 50, převzato z [24]



500 mg tabletoviny s přesností $\pm 0,500$ mg jsem vpravila do matrice, která měla průměr 13 mm a následně vložila do lisovacího zařízení. Po uvedení přístroje do chodu se horní čelist přibližovala k dolní, dokud nebylo dosaženo lisovacího tlaku 5 kN. Po dosažení lisovacího tlaku se horní čelist od dolní začala vzdalovat. Tímto způsobem jsem vylisovala z každé tabletoviny obsahující theofylin po 6 tabletách a z tabletoviny bez theofylinu po 2 tabletách.

7.4.3 Kalibrační přímka theofylinu

Dalším krokem byla příprava kalibrační přímky theofylinu. Připravila jsem si základní roztok, který obsahoval theofylin.

Základní výpočty:

100 g směsi obsahuje 19,5 g theofylinu

1 tbl (500 mg) obsahuje 0,0975 g theofylinu

1 tbl se bude disoluuovat v 1 litru 0,1M HCl

0,0975 g theofylinu v 1000 ml 0,1M HCl = 0,00975 % roztok

0,1M HCl jsem si připravila do odměrné baňky z 12,29 g 35% HCl a destilované vody, kterou jsem doplnila po rysku.

Vpravila jsem 48,83 mg theofylinu do odměrné baňky o objemu 500 ml a doplnila po rysku 0,1M HCl. Poté jsem si připravila kalibrační roztoky, kdy jsem základní roztok smísila s 0,1M HCl v odměrných baňkách o objemu 100 ml. Složení roztoků pro kalibrační přímku je uvedeno v tabulce č. 2.

Tabulka č. 2: Složení roztoků pro kalibrační přímku

	Roztok pro kalibrační přímku									
	č. 1	č. 2	č. 3	č. 4	č. 5	č. 6	č. 7	č. 8	č. 9	č. 10
c [%]	0,15	0,1	0,08	0,06	0,04	0,02	0,01	0,006	0,004	0,002
ml zákl. roztoku	75	50	40	30	20	10	5	3	2	1
ml 0,1M HCl	25	50	60	70	80	90	95	97	98	99

Absorpční spektrum theofylinu jsem měřila na přístroji Specord 205 (Analytic Jena, SRN). Nejvyšší absorbanci jsem naměřila při vlnové délce 270 nm (obr. č. 12, kapitola 8). Tuto vlnovou délku jsem dále použila při měření absorbance jednotlivých kalibračních roztoků a disolučních vzorků. Proměřila jsem všech 10 kalibračních roztoků (5x). Pečlivě umyté a vysušené křemenné kyvety jsem postupně naplňovala všemi kalibračními roztoky, měřila absorbanci při vlnové délce 270 nm proti slepému vzorku, kterým byla 0,1M HCl. Měření se opakovalo vždy 5x.

Po získání potřebných hodnot jsem zpracovala kalibrační přímku závislosti absorbance theofylinu na jeho koncentraci (obr. č. 13, kapitola 8).

Závislost mezi absorbancí a koncentrací theofylinu popisuje kalibrační rovnice:

$$A = 25,709c + 0,0058$$
$$R^2 = 0,9999 \quad (1)$$

kde A je absorbance, c je koncentrace theofylinu (%), R^2 je hodnota spolehlivosti.

Jednotlivé absorbance všech kalibračních roztoků jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Kalibrační přímka a kalibrační rovnice je na obr. č. 13 v kapitole Výsledky.

7.4.4 Disoluce a její hodnocení

Pro testování disoluce tablet byla použita metoda s košíčkem. Pracovala jsem na disolučním přístroji SOTAX AT-7 Smart (SOTAX). Při disolučních testech byla jako disoluční médium použita 0,1 M kyselina chlorovodíková, kterou jsem připravila naředěním 35% HCl. Na 1000 ml 0,1 M roztoku HCl bylo potřeba 12,29 g 35% HCl.

Pro vlastní disoluci jsem použila 6 nádob, každou z nich naplnila 1000 ml disolučního média, které bylo vytemperováno na teplotu $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Rychlost otáčení košíčků byla 100 otáček za minutu a rychlost pumpy 32 ml za minutu.

Do pěti suchých košíčků jsem vložila tablety, které obsahovaly theofylin, v šestém košíčku byl slepý vzorek, který theofylin neobsahoval.

Na obrázcích č. 10 a č. 11 je znázorněn průběh disoluce na přístroji SOTAX AT-7 Smart a detail košíčku.

Obr. č. 10: Průběh disoluce



Obr. č. 11: Detail košíčku v průběhu testu



V předepsaných časech byly z disolučních nádob odebírány 3 ml vzorky, které byly následně nahrazovány 3 ml disolučního média. Před, i po odběru vzorku bylo zařízení vždy propláchnuto 12 ml čistého média. Test trval celkem 2,5 hodiny a vzorky byly odebírány v 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90, 120 a 150 minutě.

Odebrané vzorky byly naředěny (0,5 ml vzorku + 2,5 ml destilované vody) a měřeny na přístroji Specord 205 (Analytic Jena, SRN). Absorbance byla měřena při vlnové délce 270 nm, vždy pětkrát proti slepému vzorku.

Výsledky, tabulky a grafy z disolučních testů jsou uvedeny dále v kapitole Výsledky.

7.4.5 Zpracování výsledků

- Excel
- Program QC-Expert 3.3

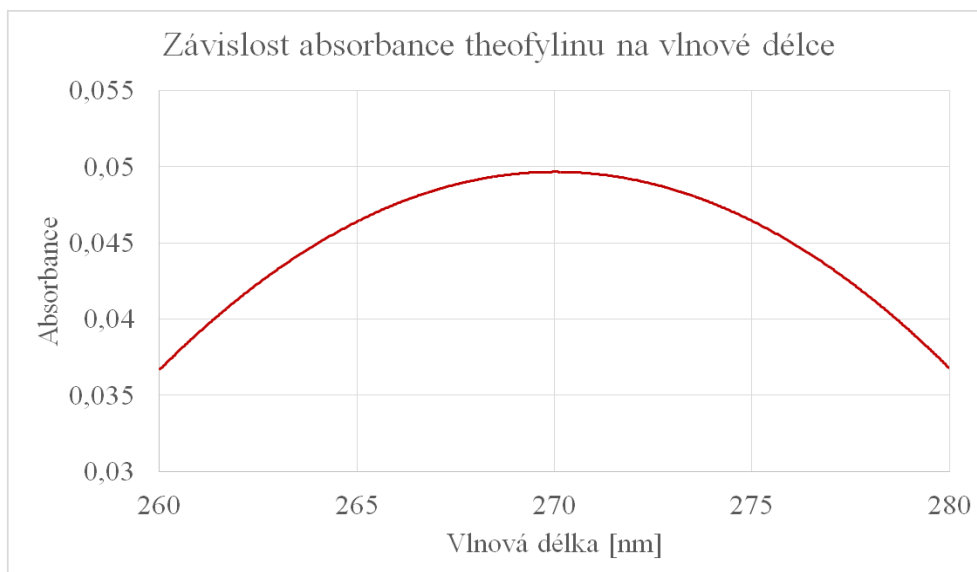
Výsledky, které jsem získala při měření absorbance, byly dále zpracovány v programu Excel. Pro posouzení statistické významnosti jsem použila program QC-Expert 3.3. Každý vzorek s obsahem theofylinu byl proměřován pětkrát proti slepého vzorku. Množství uvolněného theofylinu (%) se vypočítalo z kalibrační rovnice. Jednotlivá množství theofylinu pro každý vzorek se zprůměrovala a vypočetla se směrodatná odchylka.

Získané hodnoty jsou zpracovány a vloženy do tabulek a grafů. Tabulky a grafy jsou uvedeny dále v kapitole Výsledky.

8 VÝSLEDKY

8.1 Absorpční spektrum a kalibrační přímka theofylinu

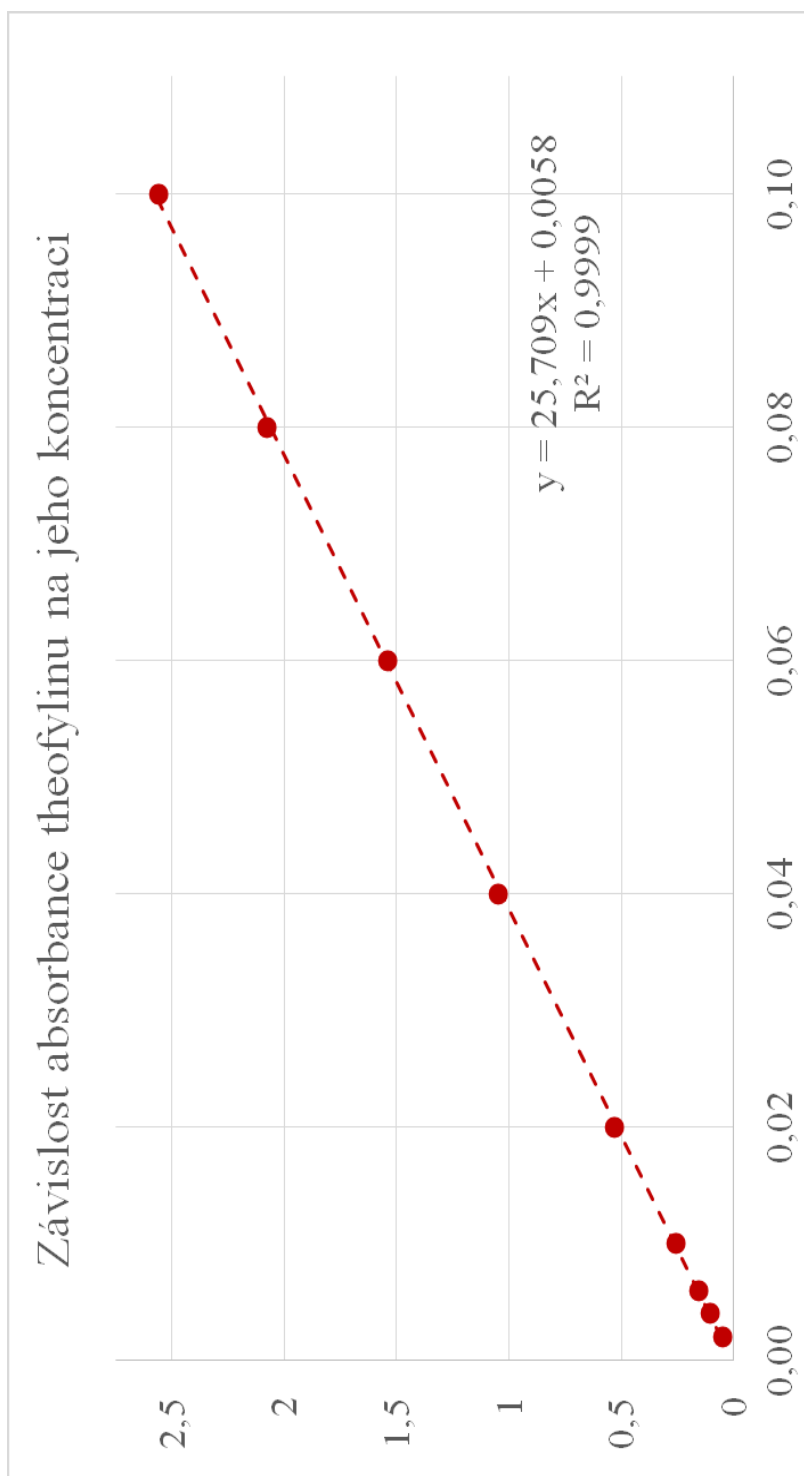
Obr. č. 12: Absorpční spektrum theofylinu



Tabulka č. 3: Absorbance kalibračních roztoků

roztok	c [%]	Absorbance					
		A1	A2	A3	A4	A5	\bar{A}
Č. 1	0,15	3,47199	3,45472	3,49551	3,71329	3,33403	3,493908
Č. 2	0,10	2,55529	2,55668	2,57082	2,56087	2,56087	2,560906
Č. 3	0,08	2,07841	2,07396	2,07491	2,07836	2,07625	2,076378
Č. 4	0,06	1,54119	1,54073	1,53943	1,53978	1,53899	1,540024
Č. 5	0,04	1,05043	1,05031	1,05034	1,05035	1,05056	1,050398
Č. 6	0,02	0,53362	0,53359	0,53353	0,53369	0,53359	0,533604
Č. 7	0,01	0,25584	0,25582	0,25590	0,25581	0,25582	0,255838
Č. 8	0,01	0,15681	0,15672	0,15672	0,15653	0,15649	0,156654
Č. 9	0,004	0,10402	0,10410	0,10413	0,10405	0,10401	0,104062
Č. 10	0,002	0,04992	0,04986	0,04991	0,04992	0,04991	0,049904

Obr. č. 13: Kalibrační přímka theofylinu



8.2 Disoluční testy

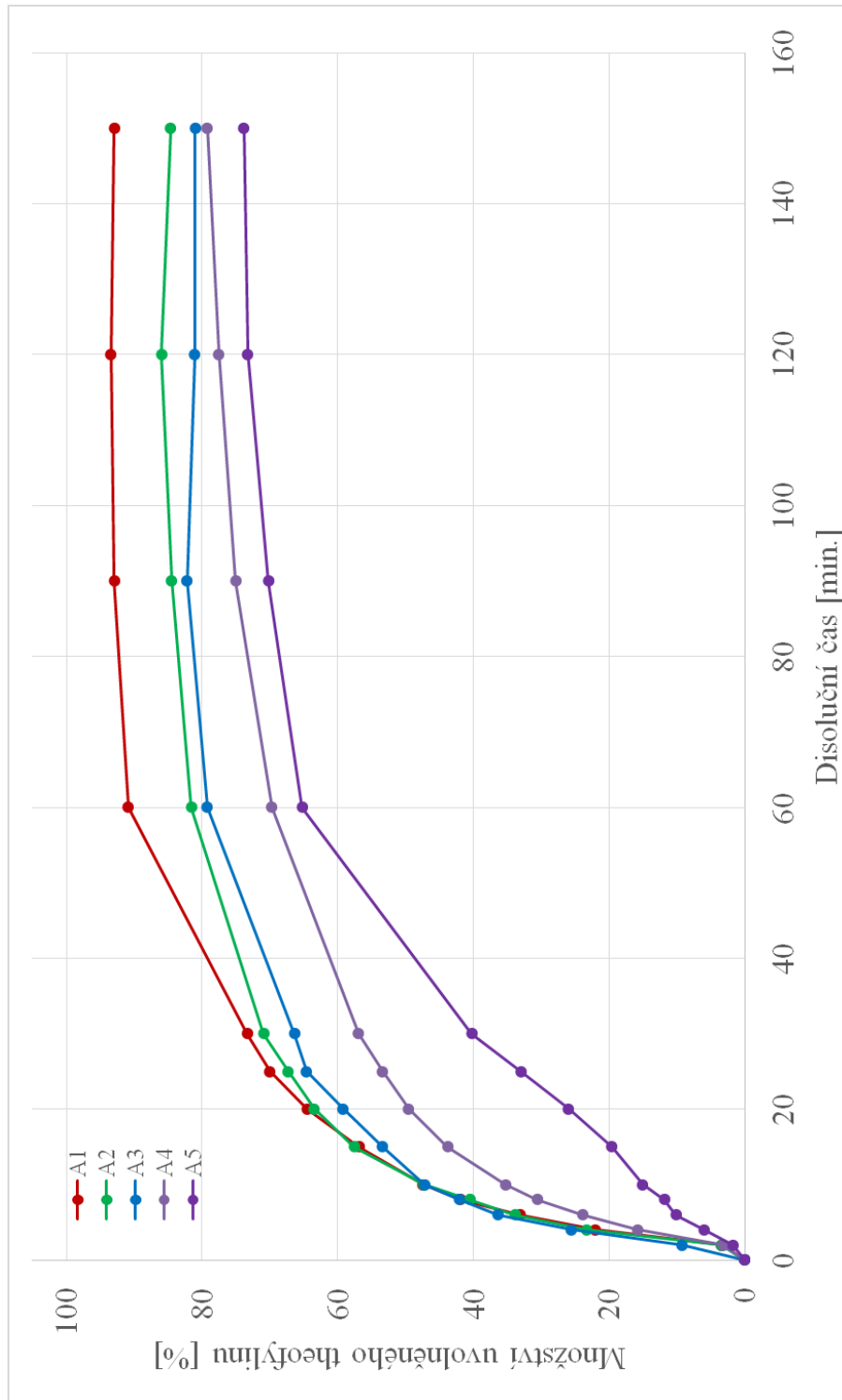
Tabulka č. 4: Množství theofylinu uvolněného ze směsí A1 až A5

Směs A	A1 [%]		A2 [%]		A3 [%]		A4 [%]		A5 [%]	
	Ø	s	Ø	s	Ø	s	Ø	s	Ø	s
2	3,38	0,89	3,49	1,07	9,33	1,13	3,20	0,72	1,78	0,59
4	22,05	1,73	23,37	0,66	25,58	1,09	15,81	1,63	6,02	0,71
6	33,10	1,77	33,86	4,06	36,33	1,40	23,87	2,49	10,14	0,56
8	41,86	2,67	40,56	5,01	42,04	0,76	30,58	2,66	11,84	0,69
10	47,41	1,00	47,28	3,29	47,19	2,62	35,33	2,67	15,09	0,90
15	56,90	2,51	57,58	4,10	53,43	2,01	43,82	1,01	19,60	1,75
20	64,54	2,22	63,51	4,15	59,19	2,70	49,57	2,97	26,00	2,35
25	70,05	1,14	67,35	5,23	64,62	2,81	53,39	2,97	33,01	1,55
30	73,33	2,78	70,95	2,60	66,36	0,81	56,94	1,96	40,24	0,90
60	90,91	1,96	81,57	2,19	79,27	1,08	69,75	2,11	65,25	1,64
90	92,98	1,87	84,49	0,80	82,25	2,33	75,05	0,94	70,22	2,74
120	93,47	2,09	85,99	1,64	81,12	1,53	77,55	2,03	73,30	1,56
150	92,93	1,43	84,61	1,06	81,04	2,34	79,28	1,80	73,87	1,03

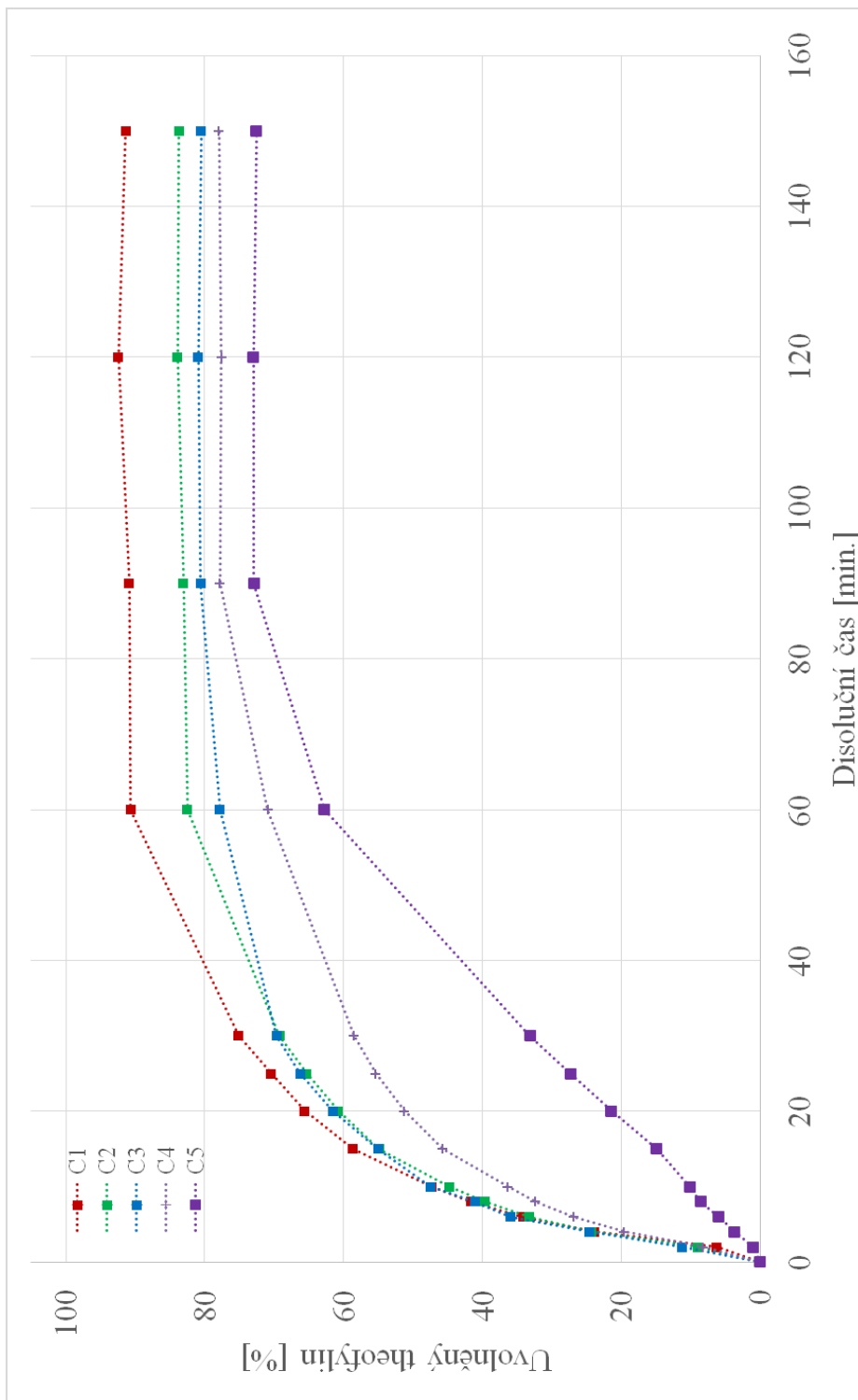
Tabulka č. 5: Množství theofylinu uvolněného ze směsí C1 až C5

Směs C	C1 [%]		C2 [%]		C3 [%]		C4 [%]		C5 [%]	
	Ø	s	Ø	s	Ø	s	Ø	s	Ø	s
2	6,28	0,99	9,05	0,97	11,31	0,92	8,24	0,75	1,05	0,68
4	23,92	1,44	24,31	1,00	24,66	1,70	19,62	1,46	3,72	1,90
6	34,13	1,11	33,20	1,23	35,92	1,88	26,87	2,26	5,99	0,75
8	41,66	1,37	39,61	1,91	41,15	0,82	32,41	1,77	8,60	1,17
10	47,34	2,58	44,78	2,42	47,50	1,57	36,36	0,90	10,14	1,10
15	58,67	2,85	54,87	2,08	55,04	0,62	45,73	1,42	14,91	1,49
20	65,60	1,06	60,81	2,26	61,57	1,54	51,27	2,93	21,45	0,73
25	70,45	2,25	65,36	1,57	66,25	1,93	55,37	2,96	27,34	1,85
30	75,11	1,98	69,25	1,60	69,63	1,72	58,50	2,79	33,19	2,98
60	90,64	1,03	82,51	1,66	77,81	1,40	70,95	0,52	62,74	2,38
90	90,91	0,99	83,05	1,06	80,58	2,06	77,82	2,34	72,92	2,73
120	92,43	1,01	83,93	2,38	80,95	0,65	77,61	2,66	73,02	1,84
150	91,40	0,72	83,70	2,12	80,52	2,78	77,94	2,46	72,60	1,32

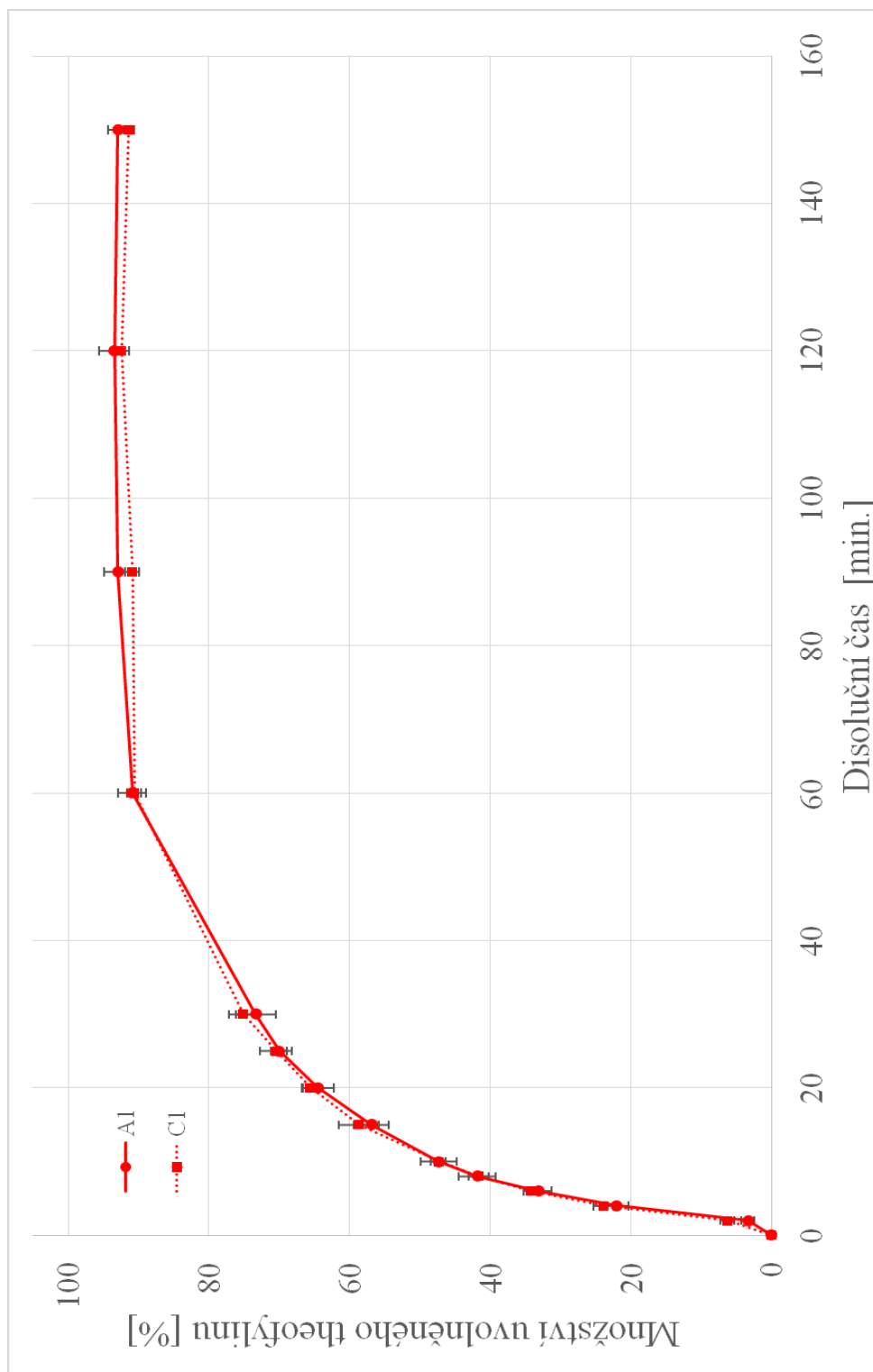
Obr. č. 14: Disoluční profil tablet směsi A1 až A5



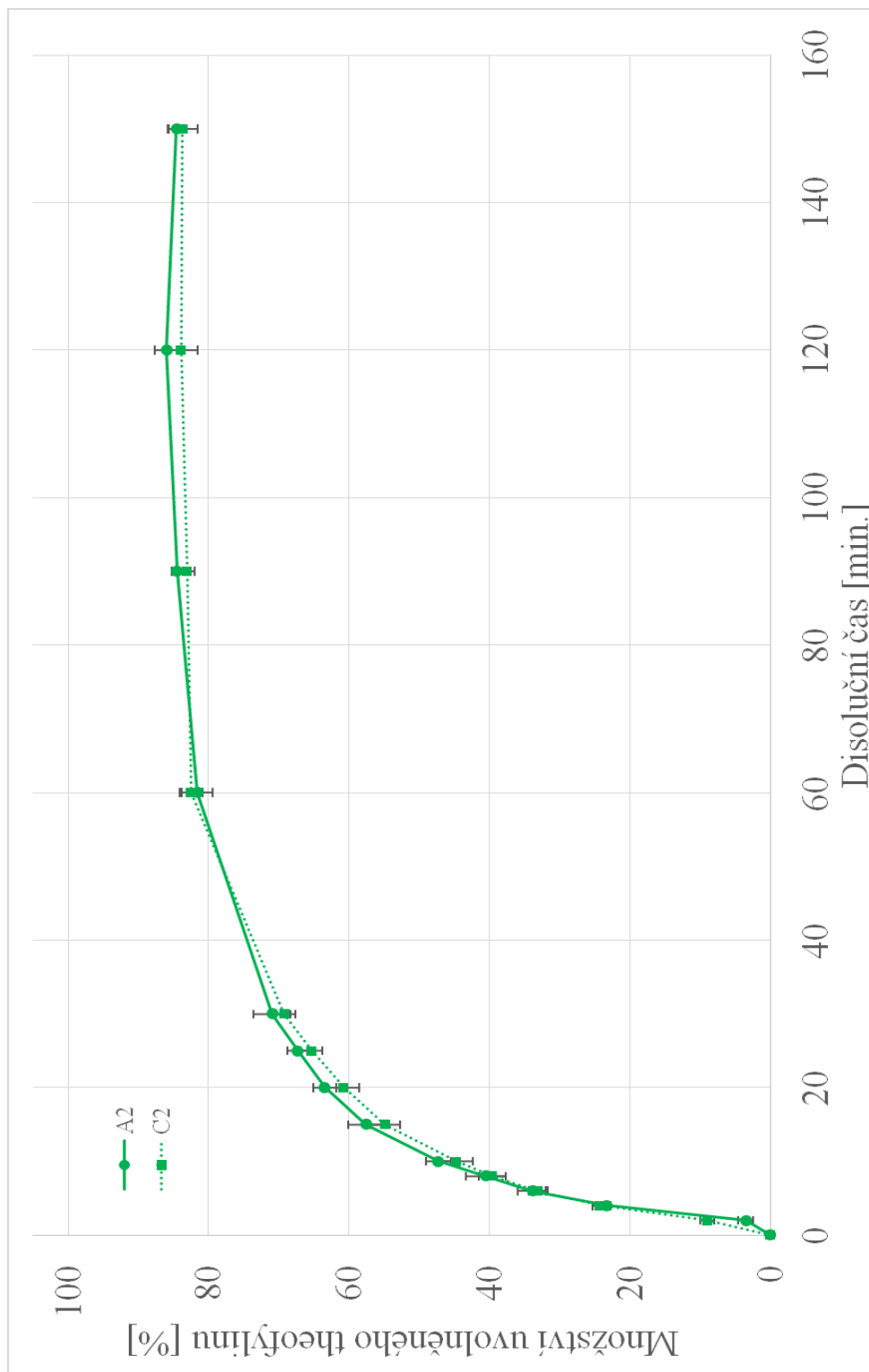
Obr. č. 15: Disoluční profil tablet směsi C1 až C5



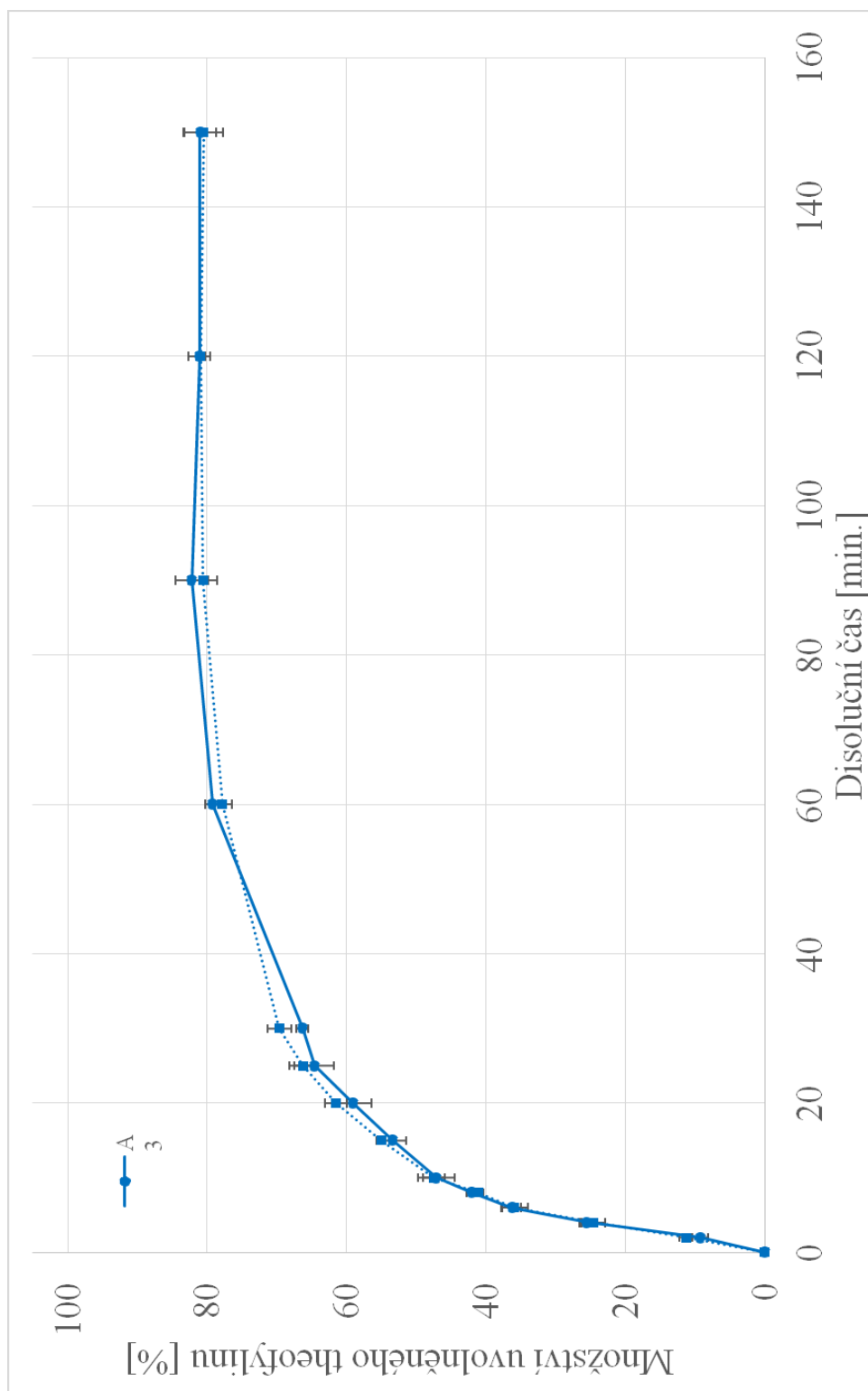
Obr. č. 16: Porovnání disolučních profilů tablet směsi A1 a C1



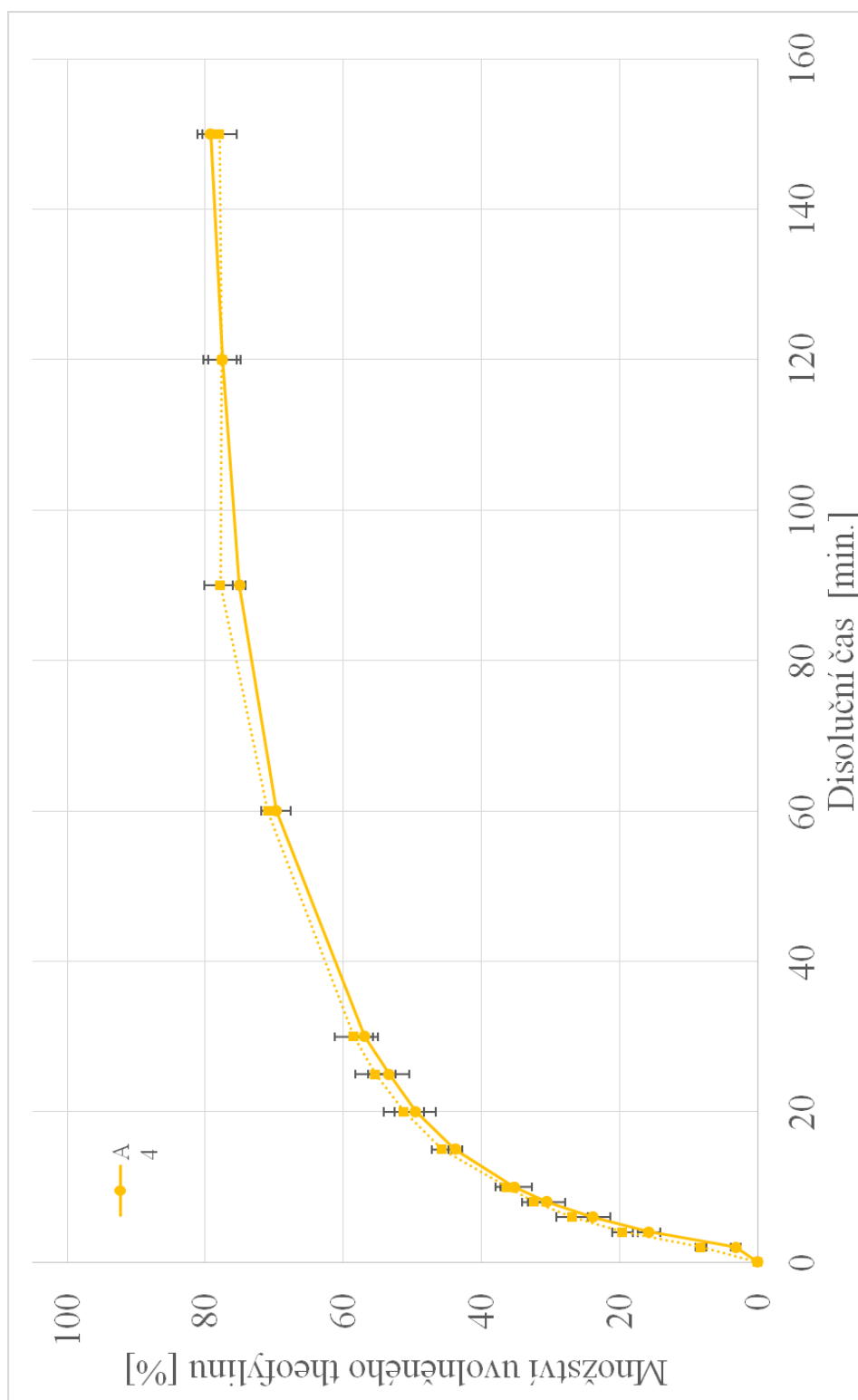
Obr. č. 17: Porovnání disolučních profilů tablet směsi A2 a C2



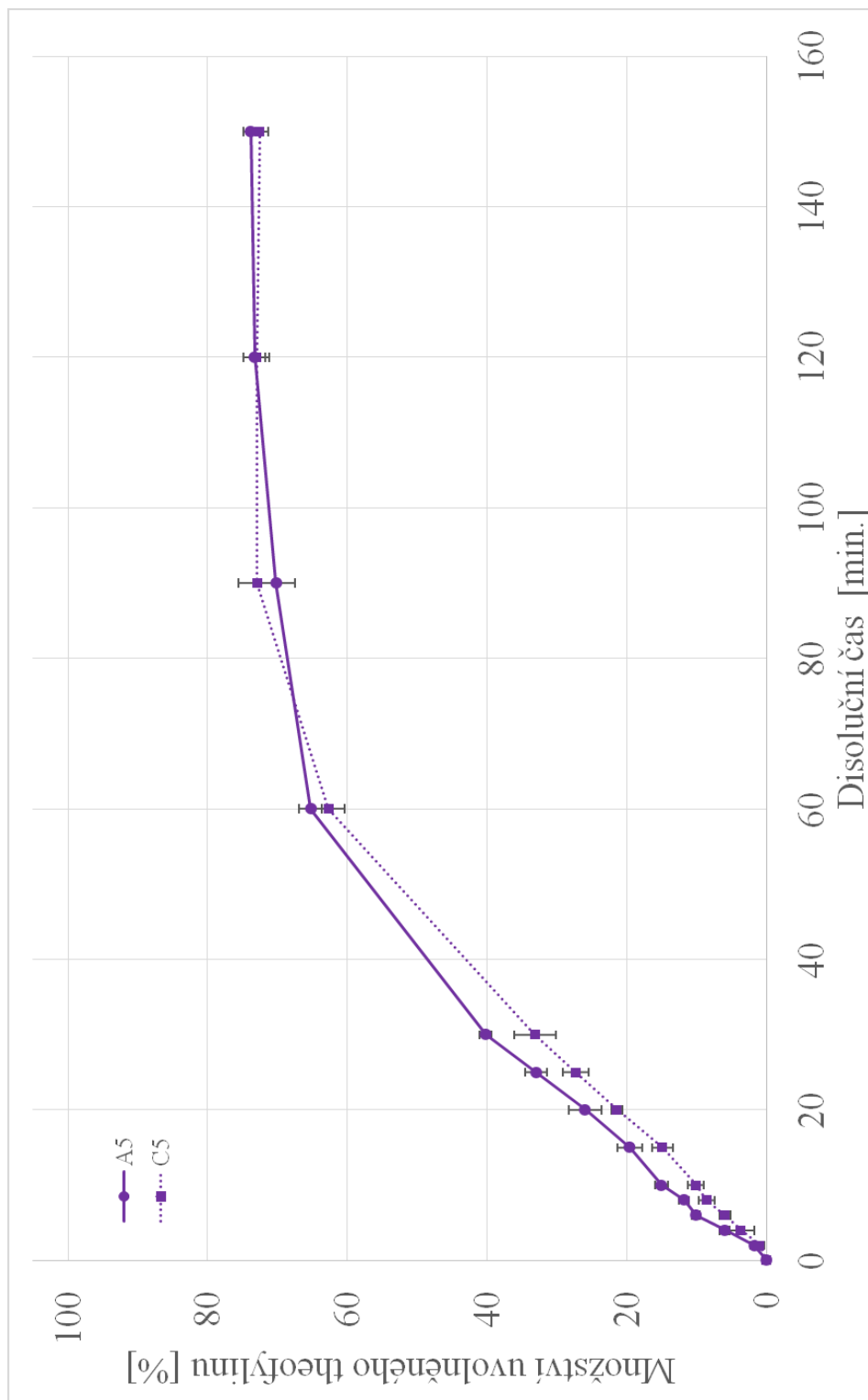
Obr. č. 18: Porovnání disolučních profilů tablet směsi A3 a C3



Obr. č. 19: Porovnání disolučních profilů tablet směsi A4 a C4



Obr. č. 20: Porovnání disolučních profilů tablet směsi A5 a C5



9 DISKUZE

Provedením zkoušky disoluce jsme schopni stanovit množství uvolněné léčivé látky z pevné lékové formy v předepsané kapalině (disoluční médium) a v předepsaném čase. Uvolňování léčivé látky z lékové formy je podmíněno mnoha faktory.

Cílem této práce bylo zhodnocení disoluce tablet obsahujících theofylin, směsi dvou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého a mikrokystalické celulosy. Jako plniva byla použita mikrokystalická celuloza Comprecel 102, hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát DI-CAFOS A150 se střední velikostí částic 150 μm a hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát DI-CAFOS D160 se střední velikostí částic 160 μm . Jako kluzná látka byl použit stearan hořečnatý. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách č. 4 a 5 a na obrázcích č. 14-20.

9.1 Vliv poměru plniv na uvolnění theofylinu

Na obr. č. 14 jsou znázorněny disoluční profily tablet, které byly připraveny ze směsi obsahujících mikrokystalickou celulosu (Comprecel 102), theofylin, hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát (DI-CAFOS D160) a stearan hořečnatý. Připravila jsem celkem pět směsí, které se lišily různým poměrem mikrokystalické celulosy a hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu. Směs A1 a A5 obsahovala pouze jedno plnivo, v případě směsi A1 to byla mikrokystalická celuloza, u směsi A5 to byl hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát. Směsi A2, A3 a A4 obsahovaly obě plniva v různých poměrech. Přesné složení těchto směsí je uvedeno v tabulce č. 1.

Nejrychleji a nejvíce se theofylin uvolňoval ze směsi, která obsahovala pouze mikrokystalickou celulosu (A1), kdy došlo k uvolnění 92,93% obsaženého theofylinu a už po šedesáté minutě se uvolnilo více než 90,91%. Naproti tomu u směsi A5, která obsahovala pouze hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát,

docházelo k uvolňování theofylinu pomaleji a v menší míře. Uvolnilo se celkem 73,87% theofylinu, to je o 19,06% méně než u tablet lisovaných ze směsi A1.

U všech směsí se s přibývajícím časem zvyšovalo množství uvolněného theofylinu. Z výsledků disolučního testu vyplynulo, že se snižujícím se množstvím mikrokrystalické celulosy a se zvyšujícím se množstvím hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu docházelo k pomalejšímu uvolňování theofylinu a také se ho uvolnilo menší množství.

Na obr. č. 15 jsou znázorněny disoluční profily tablet, které byly připraveny ze směsí obsahujících mikrokrystalickou celulosu (Comprecel 102), theofylin, hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát (DI-CAFOS A150) a stearan hořečnatý. Připravila jsem opět pět směsí, které se lišily různým poměrem mikrokrystalické celulosy a hydrogenfosforečnanu vápenatého anhydrátu. Směs C1 a C5 obsahovaly opět pouze jedno plnivo, v případě směsi C1 to byla mikrokrystalická celuloza, u směsi C5 to byl hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát. Směsi C2, C3 a C4 obsahovaly obě plniva v různých poměrech. Přesné složení těchto směsí je uvedeno v tabulce č. 1.

Nejrychleji a nejvíce se theofylin uvolňoval opět ze směsi, která obsahovala pouze mikrokrystalickou celulosu (C1), kdy došlo k uvolnění 91,40% obsaženého theofylinu a už po šedesáté minutě se uvolnilo 90,64% theofylinu. Po 120 minutě se uvolnilo 92,43% obsaženého theofylinu a poté množství theofylinu statisticky nevýznamně kleslo. Naproti tomu u směsi C5, která obsahovala pouze hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát, docházelo opět k uvolňování theofylinu pomaleji a v menší míře. Uvolnilo se celkem 72,60% theofylinu, to je o 18,8% méně než u tablet lisovaných ze směsi C1. Po 120. minutě se uvolnilo 73,02% obsaženého theofylinu a poté množství theofylinu opět kleslo jako u směsi C1.

S klesajícím obsahem mikrokrystalické celulosy a se zvyšujícím se obsahem hydrogenfosforečnanu vápenatého anhydrátu, opět docházelo k pomalejšímu uvolňování theofylinu a také se ho uvolnilo menší množství.

9.2 Vliv typu hydrogenfosforečnanu vápenatého na uvolnění theofylinu

Na obrázcích č. 16 až 20 je znázorněno porovnání disolučních profilů směsí A a C, které obsahují vždy stejné množství mikrokystalické celulosy, ale liší se použitým typem hydrogenfosforečnanu vápenatého (tabulka č. 1.). Ve směsi A byl použit hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát a v případě směsi C hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát.

Na obr. č. 16 je znázorněn disoluční profil směsí A1 a C1. Obě tyto směsi obsahují jako plnivo pouze mikrokystalickou celulosu. U směsi C1 dochází k nepatrně rychlejšímu uvolnění theofylinu než u směsi A1. Po šedesáti minutách dochází u obou směsí k uvolnění podobného množství theofylinu. V případě směsi A1 to bylo 90,91% a C1 90,64%. Po 150. minutě se ze směsi A1 uvolnilo 92,93% množství theofylinu a ze směsi C1 91,40%. Rozdíl v množství uvolňovaného theofylinu u obou směsí (A1 a C1) není statisticky významný, avšak disoluční profil by měl být identický, protože jde o směsi stejného složení. Možné odchylky mohou být způsobeny nepřesným navážením substancí, zvláště stearanu hořečnatého nebo nedodržením stejných podmínek při přípravě směsí. Stearan hořečnatý má funkci kluzné látky. Je schopný vytvářet na ostatních částicích tabletoviny film, který může vést k prodloužení doby uvolňování léčiva a prodloužení doby rozpadu tablety. Je to hydrofóbní látka a v literatuře bývá popsán jeho nepříznivý účinek na míru rozpouštění. [11]

Na obr. č. 17 je znázorněn disoluční profil směsí A2 a C2, které obsahují 60 gramů mikrokystalické celulosy a 20 gramů příslušného hydrogenfosforečnanu vápenatého. V prvních třiceti minutách se uvolňuje theofylin rychleji ze směsi A2, tedy směsi, která obsahuje hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát. Po 60 minutách je množství theofylinu, které se uvolnilo ze směsi A2 nepatrně vyšší než ze směsi C2. Rozdíl je statisticky nevýznamný. Ze směsi A2 se celkem uvolnilo 84,61% theofylinu, ze směsi C2 83,70%.

Na obr. č. 18 je znázorněn disoluční profil směsi A3 a C3, které obsahují 40g mikrokrystalické celulosy a 40g hydrogenfosforečnanu vápenatého dihydrátu nebo anhydrátu. Disoluční profil těchto směsí je téměř totožný a rozdíl není statisticky významný. Ze směsi A3 se po dovršení 150. minuty uvolnilo celkem 81,04% theofylinu a ze směsi C3 80,52%.

Na obr. č. 19 je znázorněn disoluční profil směsi A4 a C4, které obsahují 20g mikrokrystalické celulosy a 60g příslušného hydrogenfosforečnanu vápenatého. V případě směsi A4 to je dihydrát, u C4 anhydrát. Do 90. minuty se theofylin uvolňoval nepatrně rychleji (rozdíl je statisticky nevýznamný) a ve větší míře u směsi obsahující anhydrát (směs C4), od 90. minuty byl disoluční profil obou směsí téměř totožný. Ze směsi A4 se celkem uvolnilo 79,28% množství theofylinu a ze směsi C4 77,94%.

Na obr. č. 20 je znázorněn disoluční profil poslední směsi A5 a C5, které obsahují pouze hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát (směs A5) a anhydrát (směs C5) bez mikrokrystalické celulosy. Do 60. minuty se uvolňoval theofylin rychleji a ve větší míře ze směsi A5, která obsahovala dihydrát. Po 60. minutě byl disoluční profil obou směsí téměř totožný a rozdíl není statisticky významný. K maximální koncentraci uvolňovaného theofylinu (u směsi A5) docházelo až po 150. minutě testu. U směsi C5, která obsahovala hydrogenfosforečnan vápenatý anhydrát se theofylin nejdříve uvolňoval pomaleji, ale už po 90 minutách je dosaženo maximální koncentrace.

10 ZÁVĚRY

V mé diplomové práci jsem hodnotila směsi, které obsahovaly jako účinnou látku theofylin a jako kluznou látku stearan hořečnatý. Dále byla ve směsi obsažena mikrokrystalická celulosa a dva typy hydrogenfosforečnanu vápenatého (dihydrát a anhydrát). Tyto látky zastávaly funkci plniva. V této práci jsem sledovala, jak může být ovlivněn průběh disoluce obsaženými látkami. Sledovala jsem vliv poměru plniv na rychlost a množství uvolněného theofylinu z tablet. A dále jestli průběh disoluce může být ovlivněn použitím různého typu hydrogenfosforečnanu vápenatého.

Z diplomové práce vyplynuly tyto závěry:

- Typ použitého hydrogenfosforečnanu vápenatého neovlivňuje celkové množství uvolněného theofylinu. U směsí obsahujících dihydrát nebo anhydrát bylo dosaženo stejného uvolnění theofylinu (maximální koncentrace).
- Rychlost uvolňování theofylinu může být ovlivněna zvoleným typem hydrogenfosforečnanu vápenatého. Do 60. minuty testu se theofylin uvolňoval rychleji a ve větší míře z tablet, které byly slisovány ze směsi obsahující dihydrát než ze směsi obsahující anhydrát.
- Rychlost uvolňování theofylinu z tablet lze ovlivňovat různým poměrem mikrokrystalické celulosity a obou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého.
- S klesající koncentrací mikrokrystalické celulosity (Comprecel 102) a s rostoucí koncentrací obou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého (DI-CAFOS D160/A150) se rychlost uvolňování theofylinu snižovala.

- S klesající koncentrací mikrokrystalické celulosy (Comprecel 102) a s rostoucí koncentrací obou typů hydrogenfosforečnanu vápenatého (DI-CAFOS D160/A150) se také snižovalo celkové množství uvolněného theofylinu.

11 LITERATURA

- [1] KOMÁREK, P., RABIŠKOVÁ, M. et al.: *Technologie léků*. 3., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Galén, 2006, 399s., ISBN 80-7262-423-7. s. 228.
- [2] Český Lékopis 2009 – Doplněk 2013. 2013, Grada Publishing, a. s., Praha, 4354 s., CD-ROM 2, Tabulettae, s. 898.
- [3] DVOŘÁČKOVÁ, K., BAUTZOVÁ, T., RABIŠKOVÁ, M. Disoluční studie v hodnocení perorálních léků s řízeným uvolňováním léčiva. *Chemické listy*. 2011, 105, s. 50. ISSN 12137103.
- [4] ROWE C. R., P. J. SHESKEY, W. G. COOK, M. E. FENTON. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 7th ed, 2012. London: APhA/Pharmaceutical Press, s. 140-143. ISBN 9780857110275.
- [5] Český Lékopis 2009 – Doplněk 2012. 2012, Grada Publishing, a. s., Praha, 4361 s., CD-ROM, Cellulosum microcristallinum, s. 2087-2090.
- [6] ROWE C. R., P. J. SHESKEY, W. G. COOK, M. E. FENTON. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 7th ed, 2012. London: APhA/Pharmaceutical Press, s. 101-103. ISBN 9780857110275.
- [7] Český Lékopis 2009 – Doplněk 2012. 2012, Grada Publishing, a. s., Praha, 4361 s., CD-ROM, Calcii hydrogenophosphas anhydricus, s. 1974-1975.
- [8] ROWE C. R., P. J. SHESKEY, W. G. COOK, M. E. FENTON. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 7th ed, 2012. London: APhA/Pharmaceutical Press, s. 104-106. ISBN 9780857110275.
- [9] Český Lékopis 2009 – Doplněk 2012. 2012, Grada Publishing, a. s., Praha, 4361 s., CD-ROM, Calcii hydrogenophosphas dihydricus, s. 1975-1976.

- [10] ROWE C. R., P. J. SHESKEY, M. E QUINN. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6th ed, 2009. London: APhA/Pharmaceutical Press, s. 404-407. ISBN 9780853697923.
- [11] Udruženje basičnih medicinskih znanosti. Effect of magnesium stearate concentration on dissolution properties of ranitidine hydrochloride coated tablets. *Bosn J Basic Med Sci*. 2007 Aug;7(3): 279-83. ISSN 1840-4812.
- [12] Český Lékopis 2009 – Doplněk 2012. 2012, Grada Publishing, a. s., Praha, 4361 s., CD-ROM, Magnesii stearas, s. 2993-2996.
- [13] Český Lékopis 2009 – Doplněk 2012. 2012, Grada Publishing, a. s., Praha, 4361 s., CD-ROM, Theophyllum, s. 3738-3739.
- [14] Obrázek převzat z <http://www.drugs.com/pro/theophylline.html>, dostupný k 20.8.2017
- [15] National Center for Biotechnology Information: PubChem Compound Database, CID 2153, k 20.8.2017. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2153>
- [16] MARTÍNKOVÁ, J. a kolektiv: *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada Publishing, a.s., 2007, 380 s., ISBN 978-80-247-1356-4. s. 250.
- [17] KOMÁREK, P., RABIŠKOVÁ, M. et al.: *Technologie léků*. 3., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Galén, 2006, 399s., ISBN 80-7262-423-7. s. 169.
- [18] UDDIN, R., SAFFOON a K. BISHWAJIT SUTRADHAR. Dissolution and Dissolution Apparatus: A Review. *International Journal of Current Biomedical and Pharmaceutical Research*. 2011, 1, s. 203-205. ISSN 2231-6264.

- [19] GRUBEROVÁ, L., KRATOCHVÍL, B. Disoluční přístroje pro simulaci in vivo podmínek. *Chemické listy*. 2015, 109, s. 908. ISSN 12137103.
- [20] PERNAROWSKI, M., WOO, W., SEARL, RO. Continuous flow apparatus for the determination of the dissolution characteristics of tablets and capsules. *J Pharm Sci*. 1968; 57(8): 1419-1421.
- [21] Český Lékopis 2009 – Doplněk 2013. 2013, Grada Publishing, a. s., Praha, 4354 s., CD-ROM 1, Zkouška disoluce pevných lékových forem, s. 341-343.
- [22] DRESSMAN, J. B., KRAMER, J. *Pharmaceutical dissolution testing*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005, s. 45-57. ISBN 9780824754679. Dostupné také z: <http://www.loc.gov/catdir/enhancements/fy0648/2005050291-d.html>
- [23] Český Lékopis 2009 – Doplněk 2013. 2013, Grada Publishing, a. s., Praha, 4354 s., CD-ROM 1, Zkouška disoluce transdermálních přípravků, s. 347-349.
- [24] ONDREJČEK, P., ŘEHULA, M., SVAČINOVÁ, P. Pracovní postupy pro hodnocení tuhých lékových forem, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické technologie. Vydání první. 5. 5. 2014.