

Universita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
katedra farmaceutické technologie

Diplomová práce

**Osmolalita parenterálních přípravků
s obsahem neelektrolytů**

**Osmolality of parenteral preparations
containing nonelectrolytes**

Lenka Křížová

2008

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Děkuji své školitelce PharmDr. Zdeňce Šklubalové, Ph.D. za její odborné vedení mé diplomové práce a především za její ochotu, trpělivost a podporu.

Obsah

1. Úvod	6
2. Teoretická část	8
2.1. Parenterální přípravky	8
2.1.1. Definice a druhy parenterálních přípravků	8
2.1.2. Požadavky na parenterální přípravky	9
2.1.3. Formulace parenterálních přípravků	11
2.1.4. Obaly parenterálních přípravků	13
2.1.5. Lékopisné infuzní roztoky s obsahem neelektrolytů	13
2.1.6. Nelékopisné infuzní roztoky s obsahem neelektrolytů	15
2.2. Osmotický tlak a jeho biologické aspekty	16
2.2.1. Výpočet osmotického tlaku	18
2.3. Osmolalita a její biologické aspekty	19
2.3.1. Určení osmolality	19
2.4. Osmolarita	22
2.4.1. Určení osmolarity	22
2.5. Osmolalita vs. osmolarita	23
3. Experimentální část	25
3.1. Suroviny	25
3.2. Pomůcky a přístroje	25
3.3. Sušení surovin	26
3.4. Příprava roztoků	27
3.5. Měření hustoty	27
3.6. Výpočet objemu roztoku	28
3.7. Odhad molarity	28
3.8. Měření osmolality	28
3.9. Odhad osmolarity	29
3.10. Parciální měrný objem látek	29
4. Výsledky	30
5. Diskuse	51

6. Závěr	55
7. Souhrn	56
8. Literatura	58

1. Úvod

Parenterální podání léků je velmi významné i velmi důležité. Mohlo by se datovat již od objevu krevního oběhu v roce 1628. V té době se tato aplikace příliš nevyužívala a k jejímu rozvoji došlo až na konci 19. století. Základní definici parenterálního podání lze odvodit již z původu tohoto slova, kde „para“ znamená řecky mimo, vedle a „enteron“ střevo. Parenterální podání je tedy aplikace, při které se obchází střevo.¹

V současnosti patří ke standardním postupům v případech, kdy je nutný rychlý nástup účinku léku, kdy nelze podat lék perorální cestou, např. u pacientů v bezvědomí, k zajištění zacílení léku do cílové tkáně nebo pro rychlou obnovu tekutinové a elektrolytové nerovnováhy.² Parenterální přípravky jsou podávány injekcí nebo infuzí přímo do tkání, cév nebo tělních kompartmentů.³ Způsob aplikace je určen podle terapeutického záměru, podle požadavku na rychlost nástupu účinku a dobu trvání účinku léčiva.

Parenterální přípravky musí vyhovovat náročným požadavkům kvality a to především s ohledem na jejich bezpečnost pro pacienta. Mezi základní požadavky patří sterilita, apyrogenita (v závislosti na objemu), osmotický tlak, pH apod. Jedním z důležitých požadavků pro velkoobjemové parenterální přípravky (infuze) je znalost osmotické koncentrace přípravku, která je vyjadřována jako osmolalita nebo osmolarita. Vztahy mezi těmito veličinami nejsou dosud zcela vyřešeny a oba termíny jsou často také zaměňovány.

Pracovní úkoly této diplomové práce byly stanoveny následovně.

1. V teoretické části zpracovat literární rešerži zaměřenou na formulaci parenterálních přípravků a na přehled lékopisných metod vyjadřování osmotické koncentrace infuzních přípravků.
2. V experimentální části práce zjistit hustotu vodných roztoků vybraných neelektrolytů (glukosa, fruktosa, laktosa, mannitol a sorbitol) v odstupňované molální koncentraci v rozmezí 0,1 - 1,0 mol/kg.
3. Pro uvedené vodné roztoky neelektrolytů pomocí osmometru změřit osmolalitu (mosmol/kg).

4. S využitím hustoty roztoků vyjádřit molaritu roztoku.
5. Na základě literárních údajů odhadnout teoretickou a aktuální osmolaritu z měřené osmolality.

2. Teoretická část

2.1. Parenterální přípravky

2.1.1. Definice a druhy parenterálních přípravků⁴

Parenterální přípravky jsou sterilní přípravky určené k podání do lidského nebo zvířecího těla injekcí, infuzí nebo implantací. Český lékopis 2005 rozlišuje několik druhů parenterálních přípravků: injekce, infuze, koncentráty pro injekce nebo infuze, prášky pro injekce nebo infuze, gely pro injekce a implantáty.

Injekce jsou definovány jako sterilní roztoky, emulze nebo suspenze. Připravují se rozpouštěním, emulgováním nebo suspendováním léčivé látky (léčivých látek) a všech dalších přidávaných pomocných látek ve vodě, ve vhodné nevodné tekutině, která může být nesterilní, je-li to zdůvodněno, nebo ve směsi těchto pomocných látek. Dělíme je na jednodávkové a vícedávkové. Injekce jsou baleny v objemu do 100 ml², a proto jsou označovány jako maloobjemové přípravky.

Infuze jsou sterilní vodné roztoky nebo emulze s vodou jako kontinuální fází, obvykle izotonické s krví. Jsou podávány intravenózně ve velkých objemech (100 - 1000ml)¹, a proto jsou označovány jako velkoobjemové. Mezi infuze patří totální parenterální výživa, intravenózní antibiotika, pacientem kontrolovaná anestezie, dialyzační tekutiny a zavodňovací roztoky.²

Koncentrované roztoky pro injekce nebo infuze jsou sterilní roztoky určené k ředění pro injekce nebo pro infuze. Před podáním se ředí předepsaným objemem předepsané kapaliny, obzvláště vodou na injekce. Po zředění vyhovují požadavkům na injekce nebo infuze.

Prášky pro injekce nebo infuze jsou pevné sterilní látky dodávané v konečných obalech, v nichž se po protřepání s předepsaným objemem předepsané sterilní tekutiny rychle vytvoří buď čiré a prakticky částic prosté roztoky, nebo

homogenní suspenze. Po rozpuštění nebo dispergování vyhovují požadavkům na injekce nebo infuze. Do této skupiny patří i parenterální lyofilizáty.

Gely pro injekce jsou sterilní gely s viskozitou zajišťující řízené uvolňování léčivé látky (léčivých látek) v místě podání.

Implantáty jsou sterilní pevné přípravky velikosti a tvaru vhodného pro parenterální implantaci umožňující dlouhodobé uvolňování léčivé látky (léčivých látek). Jsou dodávány výhradně jednotlivě ve sterilních obalech.

2.1.2. Požadavky na parenterální přípravky

Parenterálie musí vyhovovat vyšším standardům než jiné lékové formy, protože jsou aplikovány přímo do tkání nebo cév. Jsou pro ně stanovena závazná kritéria, která se týkají obsahu léčiv, průzračnosti (čirosti), osmotického tlaku, aktuální acidity (pH), sterility a apyrogenity, proto aby parenterální přípravky byly bezpečné, účinné a měly požadovanou vysokou jakost.

Parenterální přípravky musí být sterilní, což znamená, že musí vyhovovat zkoušce na sterilitu. Požaduje se negativní výsledek kultivačního testu.⁴

Parenterální přípravky s objemem větším než 15 ml musí být apyrogenní a vyhovovat lékopisné zkoušce na pyrogenní látky, případně na bakteriální endotoxiny.⁴ Původ slova pyrogen lze odvodit z řečtiny, kde „pyro“ znamená oheň a „gen“ začínající.⁵ Nejčastější reakcí na pyrogeny v těle je tedy horečka. Kromě horečky vyvolávají pyrogeny v organismu pocit mrazení, vasokonstrikci kožních cév, roztažení zornice, „husí“ kůže, ztlumení dýchání, zvýšení arteriálního krevního tlaku, nauseu a malátnost atd.⁵ Pyrogeny jsou produkty metabolismu mikroorganismů nebo se jedná o fragmenty mikroorganismů. Nejnebezpečnější z pyrogenů jsou bakteriální endotoxiny produkované gramnegativními bakteriemi.

Parenterální přípravky musí být také čiré, nesmí obsahovat cizorodé nerozpuštěné částice, pozorovatelné zrakem (viditelné nečistoty) nebo částice pod hranicí viditelnosti, které jsou monitorovány vhodnými instrumentálními

metodami (mikroskopie, rozptyl světla). Pokud by parenterální nespĺňovala tyto požadavky, obsažené částice by mohly způsobit flebitidu, tromboflebitidu, embolii nebo granulomy.⁵

Kromě těchto zkoušek se na parenterální vztahují ještě další lékopisné zkoušky jako zkouška na využitelný objem, zkouška na vzduchotěsnost obalů a pro prášky pro injekce nebo infuze jsou stanoveny zkoušky na obsahovou a hmotnostní stejnoměrnost.⁴

Parenterální přípravky by optimálně měly mít hodnotu pH, která by se měla blížit k fyziologické hodnotě. Ta se pohybuje v úzkém rozmezí $7,4 \pm 0,05$ ⁶. Při fyziologickém pH ale nejsou všechna léčiva stabilní. Z tohoto důvodu je konečná hodnota pH kompromisem mezi optimem pro rozpustnost, stabilitu a ideální hodnotou pH 7,4.⁷ Velké odchylky od fyziologické hodnoty (alkalóza i acidóza) by mohly být pro pacienta nebezpečné. Rozmezí akceptovatelných hodnot pH je rozdílné podle místa aplikace. Podání parenterálního přípravku s pH vyšším než 9 přímo do tkáně způsobuje tkáňovou nekrózu a s pH nižším než 3 způsobuje velkou bolest.⁷ Při intravenózním podání je akceptovatelné rozmezí pH parenterálního přípravku širší (3 - 10,5), protože dochází k rychlému zředění přípravku.⁷

Důležitá je rovněž hodnota osmotického tlaku. Pokud se tato hodnota neblíží fyziologické hodnotě, podání parenterálního přípravku intramuskulárně způsobuje bolest až nekrózu a po intravenózním podání dochází k porušení krvinek nebo ke vzniku trombů.¹ Tomuto tématu bude blíže věnována další kapitola.

Mezi požadavky na parenterální přípravky patří i obsah léčiv, který může být uváděn v hmotnostně-objemové koncentraci, tzn. podíl hmotnosti rozpuštěného léčiva a objemu roztoku. Výhodou takového vyjádření koncentrace je, že parenterální přípravky aplikujeme objemově, ale dávka léčiva je udávána hmotnostně. Toto vyjádření ovšem není zcela přesné, pokud se pracuje v rozmezí teplot, protože objem roztoku je závislý na teplotě, a proto se hmotnostně-objemová koncentrace mění s teplotou.⁸ V praxi se používají

jednotky g/l nebo mg/l. Dalším možným vyjádřením obsahu je tzv. molarita v mol/l a molalita v mol/kg. Molarita nebo také molární koncentrace roztoku je počet molů rozpuštěné látky v 1 litru roztoku. Molalita nebo molální koncentrace je počet molů rozpuštěné látky v 1 kg rozpouštědla. Z fyzikálního hlediska je přesnější užívat molalitu, která je na teplotě nezávislá.⁹ Kromě těchto jednotek se používá také tzv. ekvivalent, který se převážně používá k vyjádření koncentrace iontů v roztoku. Termín ekvivalent (Eq) je analogický k molární hmotnosti.⁸ Např. jednomolární roztok hydrogenuhličitanu sodného obsahuje 1 mol, tj. 1 Eq, sodných iontů a 1 mol, tj. 1 Eq, hydrogenuhličitanových iontů. U vícevalentních iontů se musí brát ohled na jejich valenci.

Vzhledem k tomu, že u parenterálních přípravků očekáváme osmotický účinek, používá se k jejich popisu také osmotický tlak v kPa nebo osmotická koncentrace, která může být vyjádřena jako osmolalita v osmol/kg a nebo osmolarita v osmol/l. Podobně jako molalita a molarita se tato dvě vyjádření liší ve vztahu k celkovému množství roztoku.

Infuze k parenterální výživě jsou také označovány svou energetickou hodnotou (kJ) v objemu (1000 ml).

2.1.3. Formulace parenterálních přípravků

Požadavky na složení jsou odlišné pro maloobjemové (injekce) a velkoobjemové přípravky (infuze).

Léčivá látka je v injkcích většinou obsažena v nízké koncentraci. Kromě vehikula, které tvoří největší část přípravku, se k zajištění stability přípravku využívají i další pomocné látky jako protimikrobní látky, antioxidanty, pufrы, isotonizační přísady a látky usnadňující rozpouštění léčivé látky. Jednodávkové přípravky nesmí obsahovat protimikrobní látky. Vícedávkové přípravky musí obsahovat vhodnou protimikrobní látku ve vhodné koncentraci. Protimikrobní látka se nepřidává, pokud objem podávaný v jednotlivé dávce je vyšší než 15 ml, není-li zdůvodněno jinak, a pokud je přípravek podáván způsobem,

u kterých není z lékařských důvodů protimikrobní látka přijatelná (např. intracisternální, epidurální nebo nitrooční podání).⁴ Pufry se přidávají do parenterálií pro udržení správného pH. Mezi nejběžnější patří octanový, citronanový a fosforečnanový pufr.² Isotonizační přísady se přidávají k úpravě osmotického tlaku a omezení nežádoucích osmotických účinků po aplikaci. Nejčastěji se používají chlorid sodný nebo glukosa.

Infuze se aplikují kanylou do krevního řečiště. Jejich zvláštností je, že neobsahují farmakologicky účinné látky, ale látky, které jsou charakterizovány jako pomocné a které po intravenózní aplikaci navozují terapeutický účinek přímým ovlivněním vnitřního prostředí organismu. Podle složení lze velkoobjemové přípravky rozdělit na roztoky elektrolytů, roztoky neelektrolytů, roztoky pro peritoneální dialýzu, roztoky plazmaexpanderů a mikroheterogenní emulze olejů.

U infuzí se nejčastěji jako vehikulum používá voda na injekce a obvykle obsahují ionty (Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+}), nemetabolizovatelné molekuly (octan, mléčnan) a sacharidy (glukosa). Infuze ke speciálním účelům jako např. totální parenterální výživa obsahuje navíc tuky, aminokyseliny, vitamíny a stopové prvky. Infuze mohou sloužit také jako nosné roztoky, ke kterým se následně přidávají léčivé látky.

Infuze nesmějí obsahovat protimikrobní látky, ale obsahují jiné pomocné látky jako např. antioxidanty. Molekuly obsažené v infuzích mají vlastnosti pufrů a isotonizačních přísad.

Antioxidanty se přidávají, protože některé látky ve vodném roztoku snadno podléhají oxidaci. Jako antioxidanty pro parenterália se používají např. kyselina askorbová nebo siřičitan sodný. Jako ochrana před oxidací se používají i chelatační činidla (např. EDTA, kyselina citrónová), protože vychytávají katalyzátory oxidačních reakcí.

2.1.4. Obaly parenterálních přípravků

Maloobjemové parenterálie jsou baleny jako jednodávkové ampulky, vícedávkové vialky a předplněné stříkačky.²

Ampulky jsou skleněné nebo plastové. Skleněné ampulky jsou tenkostěnné z borosilikátového skla. Aby byly ampulky snadněji otevíratelné a aby skleněné střepey nekontaminovaly obsah ampulek, je na hrdle zářez ve skle, který je označen barevnou tečkou. Plastové ampulky jsou připraveny, plněny a tepelně uzavřeny během jediného procesu. Dobře uzavřené ampulky neztrácejí své deklarované vlastnosti během své použitelnosti.

Vícedávkové vialky jsou silnostěnné a jsou uzavřeny pryžovým uzávěrem, který je upevněn hliníkovou objímkou a překryt plastovou čepičkou. Pro odebrání obsahu vialky musí být jehlou injekční stříkačky propíchnut pryžový uzávěr. Právě toto je nevýhodou, protože fragmenty pryžového uzávěru se mohou při propíchování uvolnit do obsahu vialky. Výhodou je zvýšení dávkové flexibility a snížení ceny za jednotlivou dávku.²

Předplněné stříkačky jsou asepticky plněny a neobsahují antimikrobní látky. Předplněné stříkačky jsou velmi drahé, a proto je takto baleno jen málo výrobků.

Velkoobjemové parenterální přípravky jsou baleny do skleněných lahví, PVC vaků nebo polyethylenových obalů. Skleněné láhve jsou výhodné, protože jsou chemicky inertní a průhledné. Mají také ale své nevýhody, protože jsou křehké a těžké, a proto se hůře transportují. Důsledkem toho se v poslední době často používají plastové obaly, které jsou lehčí a odolné proti nárazu. Mají ale také své nevýhody, např. mohou adsorbovat některá léčiva.

2.1.5. Lékopisné infuzní roztoky s obsahem neelektrolytů^{4,10}

Mezi lékopisné infuzní roztoky s obsahem monosacharidů patří glucosi infusio a mannitoli infusio. K roztokům elektrolytů se přidávají metabolizovatelné ionty jako např. mléčnan (Darrowi infusio, Hartmanni infusio, Ringeri infusio

cum lactate), octan nebo glukosa (Natrii chloridi infusio isotonica cum glucoso, Ringeri infusio cum glucoso), které zajišťují hydrataci organismu.

Glucosi infusio

Lékopis udává 5%, 10%, 20% a 40% infuzní roztok glukosy. Teoretická osmolarita pro tyto roztoky je 277 mosmol/l, 555 mosmol/l, 1110 mosmol/l a 2220 mosmol/l.

Indikace infuzních roztoků glukosy jsou hypoglykémie, krytí energetických potřeb (1 g glukosy odpovídá energii 17,16 kJ = 4 kcal) a potřeb tekutin v rámci parenterální infuzní terapie při pooperačních stavech, šoku, intoxikacích, jaterních onemocněních, při protražovaném zvracení a průjmeh, u intoxikací jako součást forsírované diurézy.

5% roztok glukosy je isoosmotický s krevní plazmou. Používá se k doplnění objemu tělesných tekutin zejména při ztrátě tzv. "čisté vody". Podaná glukosa se zmetabolizuje a zůstává „čistá voda“.⁶ Používá se jako nosný roztok pro další léčiva a v kombinaci s elektrolyty k doplnění tekutin při isotonické dehydrataci. 10% roztok glukosy se používá jako nosný roztok pro další léčiva, jako zdroj energie a vody při parenterální výživě. 20% a 40% roztoky glukosy se používají jako energetický zdroj při parenterální výživě, jako součást směsí pro parenterální výživu, k léčení hypoglykemických stavů, při osmoterapii edému plic, při nitrolební hypertenzi a eklampsii.

Mannitoli infusio

Lékopis udává 10%, 15% a 20% infuzní roztok mannitolu. Teoretická osmolarita těchto roztoků je 549 mosmol/l, 819 mosmol/l a 1092 mosmol/l.

Indikace těchto roztoků jsou podpora diurézy v rámci prevence a terapie oligurické fáze akutního renálního selhání na podkladě operací, šoku, traumatu, popálenin, podpůrná terapie edematózních stavů (event. provázených ascitem nefrogenního, hepatálního a kardiálního původu). Dále k terapii a prevenci nitrolební hypertenze (traumatické, pooperační, i v souvislosti s jiným základním onemocněním), k forsírované diuréze k urychlení eliminace toxických látek s ledvinovou clearance v terapii intoxikací a k léčbě nitrooční

hypertenze (traumatické, pooperační, u glaukomu se zúženým korneálním úhlem).

2.1.6. Nelékopisné infuzní roztoky s obsahem neelektrolytů¹⁰

Infusio fructosi

Tento infuzní roztok je obsažen v ČsL 4¹¹ v koncentracích 50 g/l, 100 g/l a 200 g/l. Pro tyto infuzní roztoky nebyla zavedena ještě osmolarita, ale pouze osmotický tlak 670 kPa, 1342 kPa a 2684 kPa. Z koncentrace roztoku lze za pomoci molekulové hmotnosti určit teoretickou osmolaritu jednotlivých roztoků, tj. 277 mosmol/l, 555 mosmol/l a 1110 mosmol/l.

Infusio sorbitoli

Používají se infuzní roztoky sorbitolu s 5%, 10% a 20% koncentrací, které mají osmolaritu 275 mosmol/l, 549 mosmol/l a 1098 mosmol/l.

Používají se k profylaxi akutního selhání ledvin, při osmoterapii při prevenci nebo léčbě edému mozku, při zvýšeném nitroočním tlaku (glaukomu), při forsírované diuréze (při otravách), na úvod osmotické diurézy při oligourii, při diagnostice oligourie a anurie. Dále se používají k udržení kalorické a metabolické rovnováhy a k doplnění kalorické a vodní potřeby u diabetiků. Kromě toho se používají také jako nosné roztoky pro další léčiva.

Tab. 1 - Osmolarita lékopisných infuzních roztoků

Infuzní roztok	Koncentrace infuzního roztoku (hmotnostní %)	Teoretická osmolarita (mosmol/l)
Infusio fructosi	5	277
	10	555
	20	1110
Infusio glukosi	5	277
	10	555
	20	1110
	40	2220
Infusio mannitoli	10	549
	15	819
	20	1092
Infusio sorbitoli	5	275
	10	549
	20	1098

2.2. Osmotický tlak a jeho biologické aspekty

Aby mohl být definován pojem osmotický tlak, musí být nejdřív vysvětlen termín osmóza. Osmóza je jev, při kterém čisté rozpouštědlo proniká semipermeabilní membránou do roztoku v důsledku rozdílných potenciálů látky, dokud chemický potenciál difundující složky nemá na obou stranách membrány tutéž hodnotu.¹²

Osmotický tlak roztoku jako jedna z koligativních vlastností závisí pouze na počtu přítomných částic a nikoliv na jejich chemické struktuře. Těmito částicemi mohou být jednotlivé molekuly, asociáty molekul nebo také ionty.⁸

Osmóza a osmotický tlak mají nesmírný význam v biologii. V biologických systémech oddělují membrány prostředí o různém složení. Tyto membrány mají různou propustnost. Většina buněčných membrán je permeabilní pro

vodu, ale buňky kontrolují množství vody, které do nich vstupuje.¹³ Každou buňku můžeme tedy považovat za jakýsi mikroskopický osmometr reagující změnou objemu na prostředí, do kterého je vnořen.¹⁴

Hodnota osmotického tlaku krevní plazmy je 0,755 MPa.¹⁴ Roztoky se stejným osmotickým tlakem jako krevní plazma se nazývají izotonické.³ Ve farmacii je důležité, aby parenterální přípravky podávané do organismu byly izotonické s krevní plazmou.

Z fyziologického pohledu jsou termíny isotonický a isoosmotický synonymní pouze tehdy, když rozpuštěné částice neprocházejí přes membránu červených krvinek.³ Jakmile částice přes membránu procházejí, jako např. močovina či kyselina boritá, dochází k osmotickým změnám. Ačkoliv 2% roztok kyseliny borité je isoosmotický s obsahem erytrocytů, způsobuje hemolýzu, protože kyselina boritá se volně pohybuje přes membránu a její hypotonický roztok se chová ve svém účinku na erytrocyty jako čistá voda.¹⁵

Roztoky s vyšším osmotickým tlakem než mají fyziologické tekutiny nazýváme hypertonické. Po aplikaci do krevního řečiště způsobuje hypertonický roztok ztrátu vody z krvinek, což se projevuje zmenšováním krvinek. Tento proces se nazývá hemoptýza. Hypertonické roztoky lze intravenózně podávat pomalu v malých objemech nebo do velké žíly, kde dochází rychle k jejich zředění a distribuci. Pokud se hodnota tonicity roztoku příliš liší od fyziologické hodnoty, dochází k podráždění tkáně a bolesti. Míra těchto nežádoucích účinků závisí na velikosti odchylky tonicity roztoku od fyziologických hodnot.

Roztoky, jejichž osmotický tlak je nižší než fyziologické tekutiny, nazýváme hypotonické. Hypotonické roztoky narušují integritu membrány červených krvinek, což vyvolá vstup vody do buňky a tím zvětšení buňky. Do určité míry jsou erytrocyty schopné tolerovat odchylky v osmotickém tlaku (až o 67% původní velikosti)¹⁶, ale při velkém nárůstu jejich objemu může dojít až k prasknutí erytrocytů a následnému uvolnění hemoglobinu. Tento jev se nazývá

hemolýza a jedná se o nevratný proces. Důsledkem toho může docházet až ke křečím a edému.

Ovšem i nadměrné množství isotonické tekutiny aplikované parenterálně může způsobit zvýšení objemu extracelulární tekutiny, což může vést až k cirkulačnímu přetížení.

Z předchozích vět vyplývá, že u parenterálních roztoků jsou hodnoty osmotického tlaku a aplikovaného objemu velmi důležité.

2.2.1. Výpočet osmotického tlaku

Osmotický tlak roztoku je stejný jako tlak, který by mělo stejné množství látky rozpuštěné, kdyby bylo v témže objemu a za téže teploty přítomno jako ideální plyn.¹⁴ Z této skutečnosti lze odvodit van't Hoffovu rovnici, která umožňuje výpočet osmotického tlaku roztoku:

$$\pi = \frac{n}{V} \cdot R \cdot T = c \cdot R \cdot T \quad (1)$$

kde π je osmotický tlak v Pa, n je látkové množství v molech, V je objem v litrech, R je univerzální plynová konstanta v J/kg·mol, T je absolutní teplota v Kelvinech.

Takto vypočítaná hodnota neodpovídá plně skutečnosti. Ve skutečnosti dochází ke snížení osmotického tlaku v důsledku meziiontových atrakčních sil mezi kladně a záporně nabitými ionty. Následkem toho nejsou ionty plně disociovány a nemohou uplatnit plný osmotický účinek.¹⁷ Čím větší je koncentrace roztoku, tím více se uplatňují interakce mezi částicemi. Další účinek se přisuzuje přitažlivosti iontů, které váží molekuly rozpouštědla v roztoku a snižují tak tendenci rozpouštědla opouštět roztok a následkem toho dochází ke snížení tlaku páry. Dochází i k interakcím mezi rozpouštědlem a rozpuštěnou látkou, tzn. že solvatace také snižuje meziiontové síly, a proto se také snižuje tlak páry.¹⁷

U parenterálních roztoků se osmotický tlak vyjadřuje jako osmotická koncentrace, tj. koncentrace osmoticky aktivních částic v roztoku. Osmotická

koncentrace se vyjadřuje jako osmolalita nebo osmolarita. O těchto termínech bude pojednáno v dalších kapitolách.

2.3. Osmolalita a její biologické aspekty

Osmolalita vyjadřuje míru osmotického tlaku vyvinutého reálným roztokem na semipermeabilní membránu. Osmolalita reálného roztoku odpovídá molalitě ideálního roztoku obsahujícího nedisociované částice.¹⁸ Jednotkou osmolality je osmol na kilogram (osmol/kg), ale většinou se používá odvozená jednotka miliosmol na kilogram (mosmol/kg).

Jelikož při rozpouštění neelektrolytů (např. glukosy) vzniká v roztoku pouze jedna osmoticky aktivní částice, je 1 mol látky ekvivalentní k 1 osmolu a roztok s koncentrací 1 mol/kg (jednomolálnímu) má osmotickou koncentraci rovnou 1 osmol/kg.⁷

Rozdíly mezi reálným a ideálním roztokem vyjadřuje tzv. osmotický koeficient, který odráží interakce mezi částicemi (viz předchozí kapitola).

Osmolalita krevní plazmy je obvykle uváděna jako 285 mosmol/kg.¹⁹ Fyziologická hodnota osmolality je velmi jemně regulována osmoregulačním systémem v hypotalamu, kde osmoreceptory reagují již na změnu 2%, tzn. na pokles či vzestup okolo 6 mosmol/kg.⁶ Stimulace osmoreceptorů vede k uvolnění antidiuretického hormonu z neurohypofýzy, který ovlivní renální vylučování vody a současně se zvyšuje pocit žízně.⁶ Při snížení osmolality probíhají zmíněné procesy v opačném smyslu. Při i.v. aplikaci parenterálních přípravků je tedy velmi důležité, aby jejich osmolalita byla co nejbližší fyziologické hodnotě, aby se minimalizovaly nežádoucí účinky.

2.3.1. Určení osmolality

Osmolalitu můžeme vypočítat s použitím různých postupů nebo změřit pomocí osmometru.

Český lékopis 2005⁴ vychází z překladu Evropského lékopisu 5, proto oba lékopisy odkazují na článek „Osmolalita“, podle něhož lze osmolalitu ξ_m určit:

$$\xi_m = \nu \cdot m \cdot \Phi \quad (2)$$

kde v je počet částic vzniklých při disociaci jedné molekuly v roztoku. Není-li roztok ionizován, pak $v = 1$. Jestliže je roztok ionizován, v je celkový počet iontů přítomných v roztoku nebo vytvořených solvolýzou z jedné molekuly rozpuštěné látky, m je molalita roztoku, což je počet molů rozpuštěné látky na kilogram rozpouštědla a Φ je molální osmotický koeficient, který udává počet interakcí mezi ionty opačného náboje v roztoku. Jeho hodnota je závislá na molalitě. Zvyšuje-li se složitost roztoku, hodnotu molálního osmotického koeficientu je obtížné měřit.

Americký lékopis USP 28¹⁸ odkazuje na článek „Osmolalita a osmolarita“, podle něhož lze osmolalitu vypočítat z rovnice (3), v níž je význam symbolů obdobný:

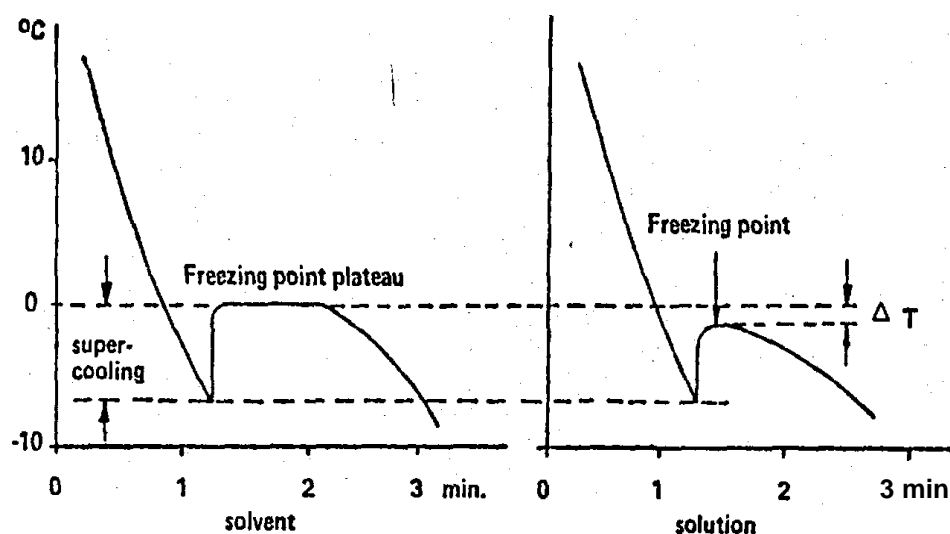
$$\xi_m = \sum v_i \cdot m_i \cdot \Phi_{m,i} \quad (3)$$

V běžné klinické praxi se osmolalita odhaduje pomocí výpočtu ze sérových koncentrací sodíku, močoviny a glykémie (v hranatých závorkách), které lze jednoduše zjistit z krevních testů:

$$\text{osmolalita (mosmol/kg H}_2\text{O)} = 2 [\text{Na}] \text{ mmol/l} + [\text{močovina}] \text{ mmol/l} + [\text{glykémie}]^{20} \quad (4)$$

K přesnému určení osmolality slouží měření pomocí osmometru. V současnosti se používají dva typy osmometrů. První typ pracuje na principu měření snížení teploty tuhnutí (kryoskopie), druhý typ na principu měření zvýšení teploty varu (ebulioskopie).

V současné době se používají převážně osmometry prvního typu. Přístroj se skládá ze zařízení pro chlazení, měření teploty (odporový termistor) a zařízení pro běžné měření proudu nebo rozdílu potenciálů, spojeném se stupnicí pro vyjádření snížení teploty tuhnutí nebo osmolality, a zařízení pro míchání vzorku.⁴ Principem měření v tomto typu osmometru je rychlé podchlazení vzorku o několik stupňů pod bod tuhnutí. Mechanickým rázem se poté vyvolá tuhnutí, při kterém se uvolní skupenské teplo tuhnutí a teplota vzorku se zvyšuje, až dosáhne teploty tuhnutí. Snížení teploty tuhnutí ΔT oproti čistému rozpouštědлу je úměrné koncentraci roztoku.²¹



Obr. 1 – Vyjádření snížení teploty tuhnutí roztoku (vpravo) oproti čistému rozpouštědлу (vlevo) - převzato ²¹

Teplota tuhnutí je definována jako teplota, při které jsou pevná a tekutá fáze v rovnováze při atmosferickém tlaku. Teplota tuhnutí pro zdravou lidskou krev je $-0,52^{\circ}\text{C}$.¹⁶

Český lékopis⁴ a zároveň i Evropský lékopis uvádí vztah mezi osmolalitou ξ_m a snížením teploty tuhnutí ΔT :

$$\xi_m = \frac{\Delta T}{1,86} \cdot 1000 \text{ mosmol/kg} \quad (5)$$

Také americký lékopis¹⁸ uvádí vztah mezi osmolalitou a snížením teploty tuhnutí ΔT_f :

$$\Delta T_f = k_f \cdot \xi_m \quad (6)$$

kde k_f je molální kryoskopická konstanta, jejíž hodnota pro vodu je $1,860^{\circ}$ na mol, tzn. přidáním 1 molu látky k 1 kg vody se sníží teplota tuhnutí o $1,860^{\circ}\text{C}$. Podobně jako rovnice (2) a (3) jsou rovnice (5) a (6) totožné, neboť význam symbolů je podobný (viz tabulka 2).

2.4. Osmolarita

Osmolarita roztoku vyjadřuje celkové množství osmoticky aktivních částic rozpuštěných v 1 l roztoku. Jedná se o teoretickou veličinu vyjádřenou v osmolech na litr (osmol/l). Výhodou užívané osmolární koncentrace nad osmolální koncentrací je schopnost vztahovat osmoly nebo miliosmoly k objemu (litr nebo mililitr). Proto osmolární pojetí je u parenterálních léčivých přípravků jednodušší a praktičtější vzhledem k jejich objemové aplikaci a dávkování. Z fyzikálního pohledu je ale nevýhodou osmolární koncentrace závislost objemu roztoku na teplotě.

2.4.1. Určení osmolarity

Osmolaritu nelze měřit, ale můžeme ji spočítat. Literatura rozlišuje teoretickou a aktuální osmolaritu. Teoretická osmolarita je odvozena z molární koncentrace roztoku a počtu částic vzniklých při rozpouštění látky. Teoretická osmolarita je např. uváděna u lékopisných infuzních roztoků.⁴

Výpočet teoretické osmolarity z molární koncentrace je možný použitím rovnice (7), kterou udává USP 31¹⁸.

$$\xi_c = \sum v_i \cdot c_i \quad (7)$$

Ve které ξ_c vyjadřuje osmolaritu v osmol/l, v_i je počet částic vzniklých disociací jedné molekuly a c_i je molární koncentrace v mol/l.

Aktuální osmolaritu je možné určit z měřené osmolality roztoku pomocí rovnice uvedené v USP 31¹⁸:

$$\xi_c = \frac{1000 \xi_m}{\frac{1000}{\rho} + \sum w_i \cdot v_i} \quad (8)$$

kde w_i je hmotnost v gramech, ρ je hustota v kg/l, v_i je parciální měrný objem (ml/g), který vyjadřuje změny v objemu roztoku po rozpuštění 1 g látky. Tento objem je možné určit měřením hustoty roztoku před a po přidání látky do roztoku.

2.5. Osmolalita vs. osmolarita

Přístup k této problematice je v současné literatuře nejednotný a termíny osmolalita a osmolarita se v praxi často zaměňují. Díky předpokladu, že za standardních podmínek 1 litr vody váží 1 kg, je u zředěných roztoků osmolalita přibližně stejná jako osmolarita a rozdíly mezi hodnotami se dají zanedbat. U koncentrovanějších roztoků je množství rozpuštěných částic významnější a rozdíly se zvyšují.⁷

Ve skutečnosti je však mezi osmolaritou a osmolalitou vždy rozdíl. Jednoosmolární roztok je vždy koncentrovanější než jednoosmolální roztok.¹⁶ Rozdíl mezi osmolalitou a teoretickou osmolaritou je důsledkem skutečnosti, že osmotický tlak reálného roztoku je menší než osmotický tlak ideálního roztoku v důsledku vzájemných interakcí mezi rozpuštěnými molekulami látky nebo mezi molekulami rozpuštěné látky a molekulami rozpouštědla. Takovéto interakce snižují tlak rozpuštěných molekul na semipermeabilní membránu, což snižuje experimentálně zjištěnou osmolalitu oproti teoretické hodnotě osmolarity.¹⁶ Tato odlišnost ukazuje důležitost určení osmolality experimentálně, spíše než vypočítáváním teoretické hodnoty.

Pro větší přehlednost v teoretické části slouží tato tabulka, která shrnuje symboliku veličin v české a anglosaské literatuře.

Tab. 2 - Tabulka názvů a symbolů veličin v anglosaské a české literatuře

český název	anglosaský název	český symbol	anglosaský symbol
hmotnost	weight	m	w_i
kryoskopická konstanta	cryoscopic constant	K_k	k_f
molalita	molality	m	m_i
molální osmotický koeficient	molal osmotic coefficient	Φ	$\Phi_{m,i}$
molární koncentrace	molar concentration	c	c_i
osmolalita	osmolality	ξ_m	ξ_m
osmolarita	osmolarity	ξ_c	ξ_c
parciální měrný objem	partial specific volume	v	v_i
počet disociovaných částic	the number of particles formed by the dissociation of one molecule	ν	ν_i
snížení teploty tuhnutí	freezing point depression	ΔT	ΔT_f

3. Experimentální část

3.1. Suroviny

Fruktosa (Fructosum) p.a., Penta, Chrudim

Glukosa (Glucosum) ČL 2005, Kulich, Hradec Králové

Laktosa monohydrát (Lactosum monohydricum) ČL 2002, Kulich, Hradec Králové

Mannitol (Mannitolum) ČL 2002 doplněk 2003, Kulich, Hradec Králové/Říčany

Sorbitol (Sorbitolum) ČL 2002 doplněk 2004, Kulich, Hradec Králové/Říčany

Čištěná voda pro HPLC, Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové

Chlorid sodný (Natrii chloridum) ČL 2002, Kulich, Hradec Králové

Tab. 3 - Molekulové hmotnosti surovin

Látka	Molekulová hmotnost
Fruktosum	180,16
Glukosum	180,16
Laktosum monohydricum	360,31
Mannitolum	182,17
Sorbitolum	182,17

3.2. Pomůcky a přístroje

analytické váhy Kern ABJ 120-4M, Kern & Sohn GmbH, Německo
(d = 0,1mg)

váhy Kern 573, Kern & Sohn GmbH, Německo (d = 0,1g)

semimikroosmometr DL, Knauer, Německo

tiskárna k osmometru 1420, Knauer, Německo

kalkulačka Voyage 200, Texas Instruments, Thajvan

sušárna HS 61A, Chirana, Česká republika

exsikátor

pyknometry

automatická pipeta 150 μ l

Tab. 4 - Seznam zkratk používaných v praktické části

Zkratka	Jednotka	Název
M	kg	hmotnost roztoku
M_w	g	molekulová hmotnost
m	mol/kg	molalita
c	mol/l	molarita
V_r	l	objem roztoku
V_v	l	objem vody v roztoku
V_{gram}	ml/g	parciální měrný objem
h	kg/l	hustota
h_r	bezrozměrné	relativní hustota
h_v	kg/l	hustota vody
m_{osm}	osmol/kg	osmolalita
c_{osm}	osmol/l	osmolarita
r	bezrozměrné	koeficient korelace

3.3. Sušení surovin

Do předem vysušených a zvážených skleněných zábrusových lahvíček jsem navázila přesně malé množství jednotlivých surovin. Suroviny jsem v nádobě umístila do sušárny a sušila do konstantní hmotnosti nejdříve při teplotě 70°C po dobu 8 hodin, a po té všechny látky s výjimkou glukosy dále při teplotě 90°C po dobu 3,5 hodiny. V tabulce 6 je uveden procentuální úbytek hmotnosti vyjadřující obsah vlhkosti v surovině. Následně jsem lahvičky uchovávala při běžných laboratorních podmínkách, tzn. při teplotě 25 \pm 0,5°C a vlhkosti 65 \pm 5%, abych zjistila rovnovážný obsah vlhkosti. Procentuální příbytek hmotnosti vyjadřující obsah vlhkosti v surovině je shrnutý v tabulce 7.

3.4. Příprava roztoků

Abych získala roztok o přesné molalitě m (mol/kg), navážila jsem do jedné kádinky přesné množství suroviny (s přesností na 0,1 mg), odpovídající molekulové hmotnosti M_w . Do druhé kádinky jsem navážila 1,0 kg čištěné vody. Navážku jsem rozpustila v menším množství vody a kvantitativně přenesla do zásobní zábrusové baňky a doplnila zbytkem vody. Tímto postupem jsem si připravila roztoky fruktosy, glukosy, laktosy, mannitolu a sorbitolu o molalitě 0,1 - 1,0 mol/kg.

Hmotnost roztoku M (kg) jsem potom určila z rovnice:

$$M = 1 + M_w \cdot m \quad (9)$$

3.5. Měření hustoty

Hustotu jsem stanovila pyknometricky⁴ pomocí pěti pyknometrů. Dokonale čistý, suchý a předem zvážený pyknometr jsem naplnila destilovanou vodou a nechala vytemperovat při teplotě $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Zjistila jsem jeho vodné číslo, tj. rozdíl hmotností pyknometru s destilovanou vodou a prázdného pyknometru. Poté jsem pyknometr omyla v destilované vodě a etanolu 96% a vysušila, naplnila jsem ho připraveným roztokem a po temperaci jsem zjistila hustotu roztoku. Stejně jsem postupovala u všech připravených roztoků studovaných látek. Takto zjištěná hustota se nazývá relativní. Pro zjištění reálné hustoty roztoku jsem použila rovnici:

$$h = h_r \cdot h_v \quad (10)$$

kde h je reálná hustota (kg/l), h_r je relativní hustota a h_v je hustota vody při teplotě 25°C , tj. 0,9971 kg/l (viz tabulka 5).

Průměrné hustoty ($n = 5$) pro jednotlivé použité látky jsou uvedeny v tabulkách 8 - 12.

Tab. 5 - Ovlivnění hustoty vody teplotou²²

Teplota (°C)	Hustota vody (kg/l)
0	0,9999
5	1,0000
10	0,9997
15	0,9991
20	0,9982
25	0,9971
30	0,9957
35	0,9941
40	0,9923

3.6. Výpočet objemu roztoku

Objem roztoku V_r (l) jsem vypočítala z rovnice:

$$V_r = \frac{M}{h} \quad (11)$$

kde M je hmotnost roztoku v kg a h je hustota v kg/l.

3.7. Odhad molarity

Molaritu c (mol/kg) jsem určila z molality a objemu roztoku:

$$c = \frac{m}{V_r} \quad (12)$$

kde m je molalita v mol/kg a V_r je objem roztoku v l.

Vztah mezi molalitou roztoku a odhadem molarity jsem vyjádřila regresními rovnicemi, které jsem shrnula pro jednotlivé roztoky do tabulky 13.

3.8. Měření osmolality

Osmolalitu jsem měřila pomocí osmometru. Před měřením jsem přístroj nakalibrovala pomocí čištěné vody (0 mosmol/kg) a roztoku chloridu sodného (12,687 g chloridu sodného a 1 kg vody - 400 mosmol/kg). Do měřicí zkumavky jsem umístila 150 μ l měřeného vzorku a vložila do přístroje. Pro

každý roztok jsem osmolalitu (mosmol/kg) změřila pětkrát. Průměrné hodnoty 5 měření, která se nelišila o více než 5 mosmol/kg, jsou uvedeny v tabulkách 8 - 12.

3.9. Odhad osmolarity

K odhadu teoretické osmolarity (c_{osm}) lze využít lékopisnou¹⁸ rovnici (7).

K odhadu aktuální osmolarity (c_{osm}) jsem využila lékopisnou¹⁸ rovnici (8). Hodnotu aktuální osmolarity roztoku c_{osm} (osmol/l) lze odhadnout ze známé molality roztoku m (mol/kg), měřené osmolality m_{osm} (osmol/kg) a molarity roztoku c (mol/l) za předpokladu rovnosti poměrů látkové a osmotické koncentrace roztoku:

$$c_{osm} = m_{osm} \cdot \frac{c}{m} \quad (13)$$

Vztahy mezi osmolalitou roztoku (osmol/kg) a odhady osmolarity (osmol/l) jsem vyjádřila regresními rovnicemi, které jsem pro jednotlivé látky shrnula do tabulky 20.

3.10. Parciální měrný objem látek

Objem roztoku V_r (l) je tvořen objemem rozpouštědla (vody) a objemem rozpuštěné látky. Při aktuální teplotě měření (25°C) je objem vody v roztoku roven podílu hmotnosti vody (1,0 kg) a její hustoty při dané teplotě (0,9971 kg/l). tj. 1,0029 l.

Pro parciální měrný objem látky V_{gram} (ml/g) pak platí:

$$V_{gram} = \frac{V_r - V_v}{m \cdot M_w} \quad (14)$$

kde V_r je objem roztoku v litrech, V_v je objem vody v roztoku v litrech, m je molalita v mol/kg a M_w je molekulová hmotnost v gramech.

Parciální měrné objemy roztoků monosacharidů jsou uvedeny v posledním sloupci tabulek 8 - 12 v závislosti na molalitě roztoku. Na obrázcích 2 - 6 jsou zachyceny změny parciálního měrného objemu v závislosti na koncentraci roztoku s vyznačením linie odpovídající průměrné hodnotě parciálního měrného objemu (tabulka 14).

4. Výsledky

Tab. 6 - Ztráta sušením

Látka	Navážka (g)	Úbytek hmotnosti látky (%) v čase (hod)				
		při teplotě sušení				
		70°C				90°C
		2 hod	3 hod	5,5 hod	8 hod	3,5 hod
Fruktosum	1,7828	0,01	0,02	0,03	0,03	0,03
Glukosum	1,4555	0,01	0,01	0,01	0,01	
Laktosum monohydricum	1,3499	0,05	0,09	0,09	0,10	0,11
Mannitolum	1,0989	0	0,02	0,04	0,07	0,11
Sorbitolum	1,5161	0,04	0,08	0,09	0,11	0,11

Tab. 7 - Stanovení obsahu rovnovážné vlhkosti

Látka	Navážka (g)	Nárůst hmotnosti látky (%) v čase		
		42 hod	6 dní	9 dní
Fruktosum	1,7828	0,07	0,09	0,11
Glukosum	1,4555	0,12	0,18	0,18
Laktosum monohydricum	1,3499	0	0,07	0,11
Mannitolum	1,0989	0,06	0,11	0,13
Sorbitolum	1,5161	0,01	0,12	0,13

Tab. 8 - Vlastnosti vodných roztoků fruktosy

Molalita m (mol/kg)	Navážka látky (g)	Hmotnost roztoku M (g)	Hustota h (kg/l)	Objem roztoku V _r (l)	Molarita c (mol/l)	Osmolalita m _{osm} (mosmol/kg)	Parciální měrný objem V _{gram} (ml/g)
0,1	18,0162	1018,0162	1,0045	1,0134	0,0987	96	0,5823
0,2	36,0322	1036,0322	1,0112	1,0245	0,1952	205	0,5992
0,3	54,0479	1054,0479	1,0178	1,0356	0,2897	303	0,6049
0,4	72,0643	1072,0643	1,0243	1,0466	0,3822	404	0,6063
0,5	90,0800	1090,0800	1,0305	1,0578	0,4727	513	0,6094
0,6	108,0963	1108,0963	1,0376	1,0680	0,5618	615	0,6022
0,7	126,1120	10126,1120	1,0428	1,0799	0,6482	714	0,6105
0,8	144,1281	1144,1281	1,0486	1,0911	0,7332	828	0,6119
0,9	162,1436	1162,1436	1,0544	1,1021	0,8166	924	0,6118
1,0	180,1602	1180,1602	1,0602	1,1131	0,8984	1036	0,6116

Tab. 9 - Vlastnosti vodných roztoků glukosy

Molalita m (mol/kg)	Navážka látky (g)	Hmotnost roztoku M (g)	Hustota h (kg/l)	Objem roztoku V _r (l)	Molarita c (mol/l)	Osmolalita m _{osm} (mosmol/kg)	Parciální měrný objem V _{gram} (ml/g)
0,1	18,0160	1018,0160	1,0045	1,0134	0,0987	105	0,5823
0,2	36,0316	1036,0316	1,0110	1,0247	0,1952	199	0,6048
0,3	54,0483	1054,0483	1,0177	1,0357	0,2897	308	0,6067
0,4	72,0639	1072,0639	1,0239	1,0470	0,3820	403	0,6118
0,5	90,0801	1090,0801	1,0303	1,0581	0,4725	513	0,6127
0,6	108,0963	1108,0963	1,0361	1,0695	0,5610	621	0,6160
0,7	126,1120	1126,1120	1,0421	1,0806	0,6478	739	0,6161
0,8	144,1282	1144,1282	1,0478	1,0920	0,7326	831	0,6181
0,9	162,1441	1162,1441	1,0539	1,1027	0,8162	950	0,6154
1,0	180,1598	1180,1598	1,0592	1,1142	0,8975	1052	0,6177

Tab. 10 - Vlastnosti vodných roztoků laktosy

Molalita m (mol/kg)	Navážka látky (g)	Hmotnost roztoku M (g)	Hustota h (kg/l)	Objem roztoku V _r (l)	Molarita c (mol/l)	Osmolalita m _{osm} (mosmol/kg)	Parciální měrný objem V _{gram} (ml/g)
0,1	36,0314	1036,0314	1,0108	1,0250	0,0976	103	0,6131
0,2	72,0624	1072,0624	1,0233	1,0477	0,1909	196	0,6216
0,3	108,093	1108,093	1,0352	1,0704	0,2803	309	0,6244
0,4	144,124	1144,124	1,0463	1,0935	0,3658	411	0,6286
0,5	180,1553	1180,1553	1,0571	1,1164	0,4479	521	0,6300
0,6	216,1868	1216,1868	1,0671	1,1398	0,5264	649	0,6332
0,7	252,2173	1252,2173	1,0776	1,1620	0,6024	754	0,6308
0,8	288,2488	1288,2488	1,0868	1,1854	0,6749	875	0,6331
0,9	324,2787	1324,2787	1,0957	1,2086	0,7447	991	0,6343
1,0	360,3095	1360,3095	1,1052	1,2309	0,8124	1114	0,6328

Tab. 11 - Vlastnosti vodných roztoků mannitolu

Molalita m (mol/kg)	Navážka látky (g)	Hmotnost roztoku M (g)	Hustota h (kg/l)	Objem roztoku V _r (l)	Molarita c (mol/l)	Osmolalita m _{osm} (mosmol/kg)	Parciální měrný objem V _{gram} (ml/g)
0,1	18,2170	1018,2170	1,0029	1,0153	0,0985	88	0,6802
0,2	36,4342	1036,4342	1,0101	1,0260	0,1949	194	0,6338
0,3	54,6511	1054,6511	1,0162	1,0378	0,2891	295	0,6384
0,4	72,8680	1072,8680	1,0219	1,0499	0,3810	408	0,6449
0,5	91,0851	1091,0851	1,0271	1,0623	0,4707	508	0,6520
0,6	109,3019	1109,3019	1,0332	1,0737	0,5588	606	0,6477
0,7	127,5188	1127,5188	1,0385	1,0858	0,6447	702	0,6500
0,8	145,7363	1145,7363	1,0437	1,0977	0,7288	805	0,6504
0,9	163,9528	1163,9528	1,0487	1,1099	0,8109	906	0,6526
1,0	182,1696	1182,1696	1,0534	1,1223	0,8910	1014	0,6554

Tab. 12 - Vlastnosti vodných roztoků sorbitolu

Molalita m (mol/kg)	Navážka látky (g)	Hmotnost roztoku M (g)	Hustota h (kg/l)	Objem roztoku V _r (l)	Molarita c (mol/l)	Osmolalita m _{osm} (mosmol/kg)	Parciální měrný objem V _{gram} (ml/g)
0,1	18,2172	1018,2172	1,0042	1,0140	0,0986	96	0,6089
0,2	36,4340	1036,4340	1,0097	1,0265	0,1948	199	0,6475
0,3	54,6513	1054,6513	1,0162	1,0379	0,2890	299	0,6403
0,4	72,8679	1072,8679	1,0221	1,0497	0,3811	402	0,6421
0,5	91,0848	1091,0848	1,0278	1,0616	0,4710	502	0,6444
0,6	109,3021	1109,3021	1,0334	1,0734	0,5590	601	0,6449
0,7	124,5187	1124,5187	1,0387	1,0856	0,6445	706	0,6485
0,8	145,7361	1145,7361	1,0440	1,0975	0,7289	796	0,6491
0,9	163,9527	1163,9527	1,0492	1,1093	0,8113	900	0,6489
1,0	182,1704	1182,1704	1,0543	1,1212	0,8919	1006	0,6493

Tab. 13 – Závislost molarity (c) roztoků monosacharidů na jejich molalitě (m)

Látka	Rovnice lineární regrese	r
Fruktosum	$c = 0,896745m + 0,014782$	0,9995
Glukosum	$c = 0,896809m + 0,014614$	0,9996
Laktosum monohydricum	$c = 0,809745m + 0,026336$	0,9983
Mannitolum	$c = 0,890482m + 0,015523$	0,9995
Sorbitolum	$c = 0,8911m + 0,015395$	0,9995

Tab. 14 – Průměrné hodnoty parciálního měrného objemu V_{gram} (ml/g) monosacharidů

Látka	Průměrná hodnota V_{gram} (ml/g)
Fruktosum	0,6050
Glukosum	0,6102
Laktosum monohydricum	0,6282
Mannitolum	0,6505
Sorbitolum	0,6424

Tab. 15 - Porovnání metod odhadu osmolarity z měřené osmolality pro vodné roztoky fruktosy

Molalita m (mol/kg)	Molarita c (mol/l)	Osmolalita m _{osm} (mosmol/kg)	Osmolarita c _{osm} (mosmol/l)		
			Teoretická	Aktuální (rovnice 13)	Aktuální (rovnice 8)
0,1	0,0987	96	99	95	95
0,2	0,1952	205	195	200	203
0,3	0,2897	303	290	293	299
0,4	0,3822	404	382	386	396
0,5	0,4727	513	473	485	500
0,6	0,5618	615	562	576	598
0,7	0,6482	714	648	661	689
0,8	0,7332	828	733	759	795
0,9	0,8166	924	817	838	882
1,0	0,8984	1036	898	931	984

Tab. 16 - Porovnání metod odhadu osmolarity z měřené osmolality pro vodné roztoky glukosy

Molalita m (mol/kg)	Molarita c (mol/l)	Osmolalita m _{osm} (mosmol/kg)	Osmolarita c _{osm} (mosmol/l)		
			Teoretická	Aktuální (rovnice 13)	Aktuální (rovnice 8)
0,1	0,0987	105	99	104	104
0,2	0,1952	199	195	194	197
0,3	0,2897	308	290	297	303
0,4	0,3820	403	382	385	395
0,5	0,4725	513	473	485	500
0,6	0,5610	621	561	581	602
0,7	0,6478	739	648	684	712
0,8	0,7326	831	733	761	796
0,9	0,8162	950	816	862	906
1,0	0,8975	1052	898	944	997

Tab. 17 - Porovnání metod odhadu osmolarity z měřené osmolality pro vodné roztoky laktosy

Molalita m (mol/kg)	Molarita c (mol/l)	Osmolalita m _{osm} (mosmol/kg)	Osmolarita c _{osm} (mosmol/l)		
			Teoretická	Aktuální (rovnice 13)	Aktuální (rovnice 8)
0,1	0,0976	103	98	101	102
0,2	0,1909	196	191	187	192
0,3	0,2803	309	280	289	299
0,4	0,3658	411	366	376	393
0,5	0,4479	521	448	467	492
0,6	0,5264	649	526	569	604
0,7	0,6024	754	602	649	694
0,8	0,6749	875	675	738	794
0,9	0,7447	991	745	820	886
1,0	0,8124	1114	812	905	983

Tab. 18 - Porovnání metod odhadu osmolarity z měřené osmolality pro vodné roztoky mannitolu

Molalita m (mol/kg)	Molarita c (mol/l)	Osmolalita m _{osm} (mosmol/kg)	Osmolarita c _{osm} (mosmol/l)		
			Teoretická	Aktuální (rovnice 13)	Aktuální (rovnice 8)
0,1	0,0985	88	99	87	87
0,2	0,1949	194	195	189	192
0,3	0,2891	295	289	284	290
0,4	0,3810	408	381	389	398
0,5	0,4707	508	471	478	492
0,6	0,5588	606	559	564	583
0,7	0,6447	702	645	647	671
0,8	0,7288	805	729	733	765
0,9	0,8109	906	811	816	854
1,0	0,8910	1014	891	903	949

Tab. 19 - Porovnání metod odhadu osmolarity z měřené osmolality pro vodné roztoky sorbitolu

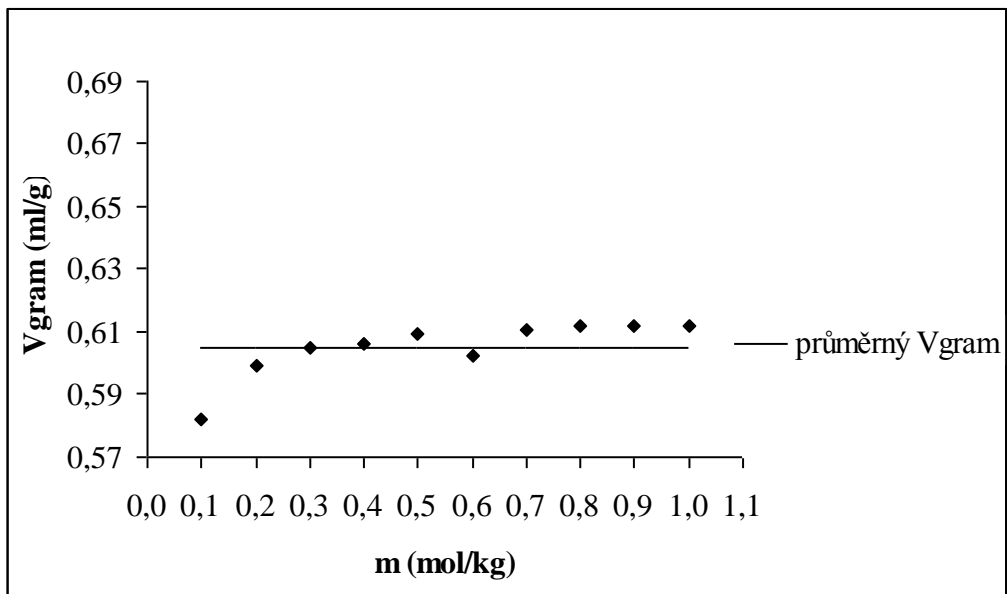
Molalita m (mol/kg)	Molarita c (mol/l)	Osmolalita m _{osm} (mosmol/kg)	Osmolarita c _{osm} (mosmol/l)		
			Teoretická	Aktuální (rovnice 13)	Aktuální (rovnice 8)
0,1	0,0986	96	99	95	95
0,2	0,1948	199	195	194	196
0,3	0,2890	299	289	288	293
0,4	0,3811	402	381	383	392
0,5	0,4710	502	471	473	487
0,6	0,5590	601	559	560	579
0,7	0,6445	706	645	650	675
0,8	0,7289	796	729	725	756
0,9	0,8113	900	811	811	850
1,0	0,8919	1006	892	897	943

Tab. 20 - Závislost osmolarity (c_{osm}) roztoků monosacharidů na jejich osmolalitě (m_{osm})

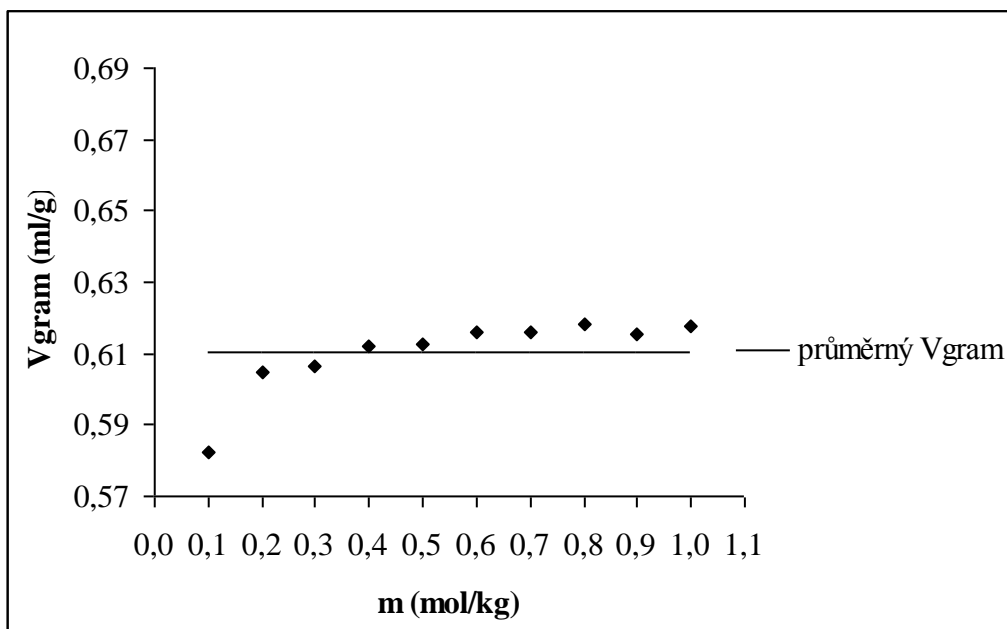
Látka	Osmolarita	Rovnice lineární regrese	r
Fruktosum	teoretická	$c_{osm}=0,866114m_{osm} + 19,44104$	0,9993
	aktuální (13)	$c_{osm}=0,897663m_{osm} + 14,815809$	0,9996
	aktuální (8)	$c_{osm}=0,950053m_{osm} + 7,691047$	0,9999
Glukosum	teoretická	$c_{osm}=0,848731m_{osm} + 8,011646$	0,9989
	aktuální (13)	$c_{osm}=0,89695m_{osm} + 15,049973$	0,9996
	aktuální (8)	$c_{osm}=0,948064m_{osm} + 8,011646$	0,9999
Laktosum monohydricum	teoretická	$c_{osm}=0,722525m_{osm} + 42,13504$	0,9960
	aktuální (13)	$c_{osm}=0,80982m_{osm} + 27,676053$	0,9985
	aktuální (8)	$c_{osm}=0,882694m_{osm} + 19,163998$	0,9993
Mannitolum	teoretická	$c_{osm}=0,875383m_{osm} + 21,114848$	0,9994
	aktuální (13)	$c_{osm}=0,8907m_{osm} + 15,272199$	0,9995
	aktuální (8)	$c_{osm}=0,936728m_{osm} + 9,512985$	0,9998
Sorbitolum	teoretická	$c_{osm}=0,886814m_{osm} + 17,028471$	0,9995
	aktuální (13)	$c_{osm}=0,890778m_{osm} + 15,498792$	0,9995
	aktuální (8)	$c_{osm}=0,938106m_{osm} + 9,077501$	0,9998

Tab. 21 - Průměrné odchylky (%) odhadů osmolarity od měřené osmolality

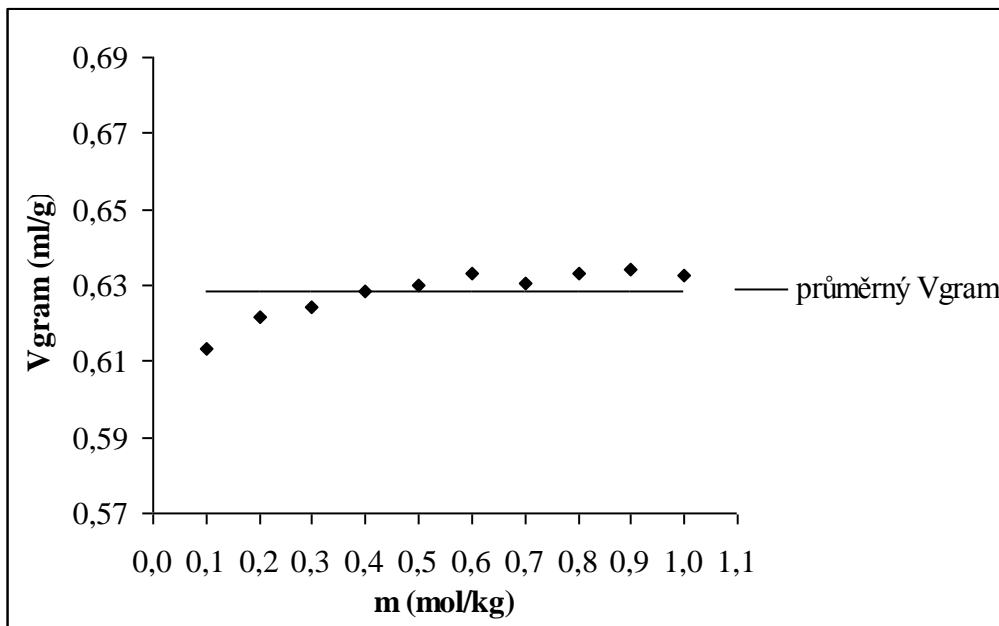
Látka	Průměrná odchylka (%)		
	Teoretická osmolarita	Aktuální osmolarita (rovnice 13)	Aktuální osmolarita (rovnice 8)
Fruktosum	7,35	5,82	2,77
Glukosum	8,91	5,88	2,89
Laktosum monohydricum	15,57	10,98	6,27
Mannitolum	5,09	6,26	3,48
Sorbitolum	5,89	6,21	3,49



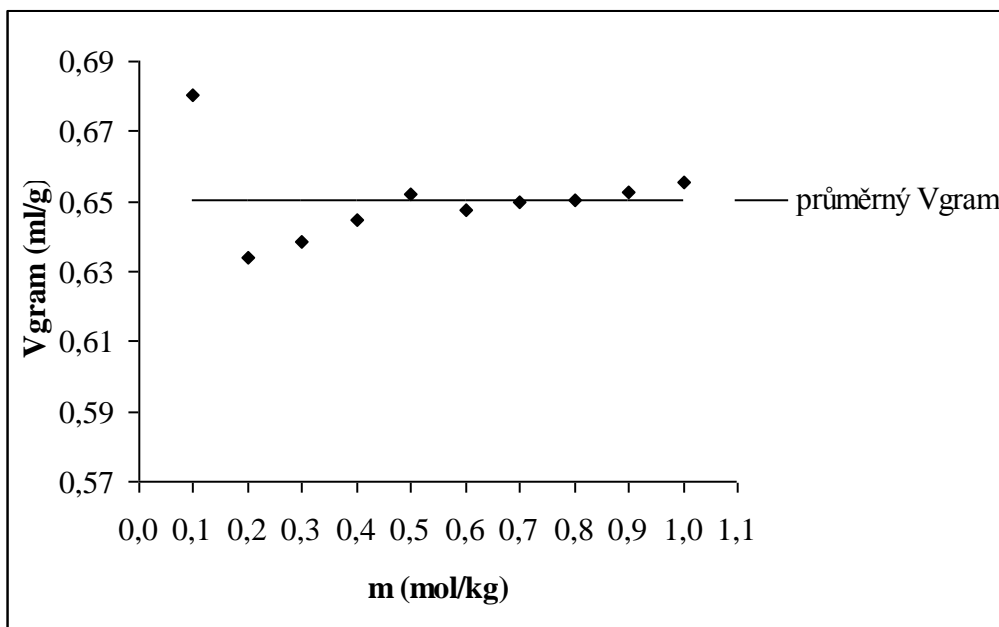
Obr. 2 - Závislost parciálního měrného objemu fruktosy na molalitě vodného roztoku



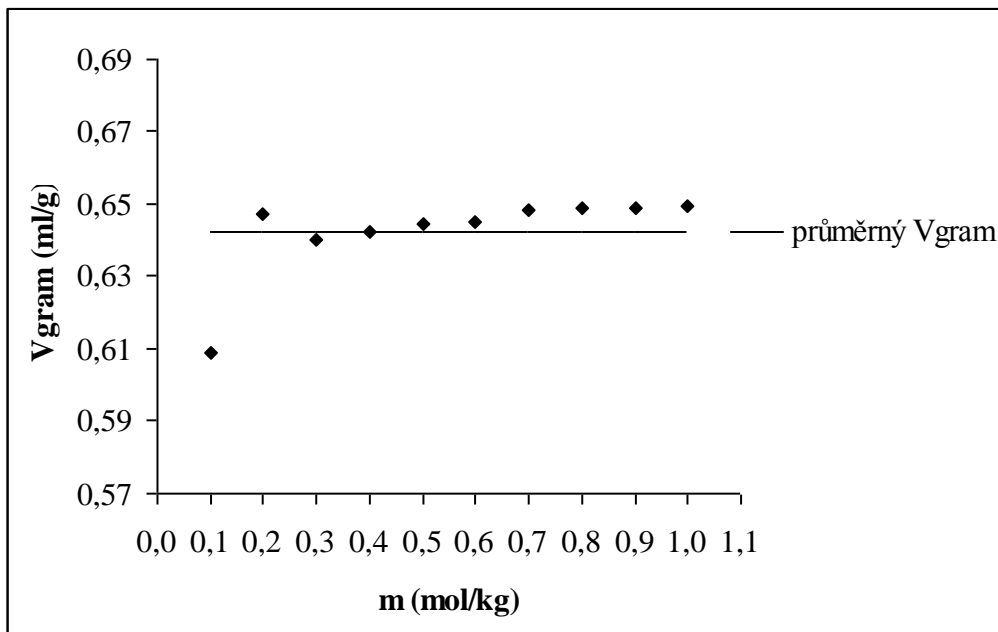
Obr. 3 - Závislost parciálního měrného objemu glukosy na molalitě vodného roztoku



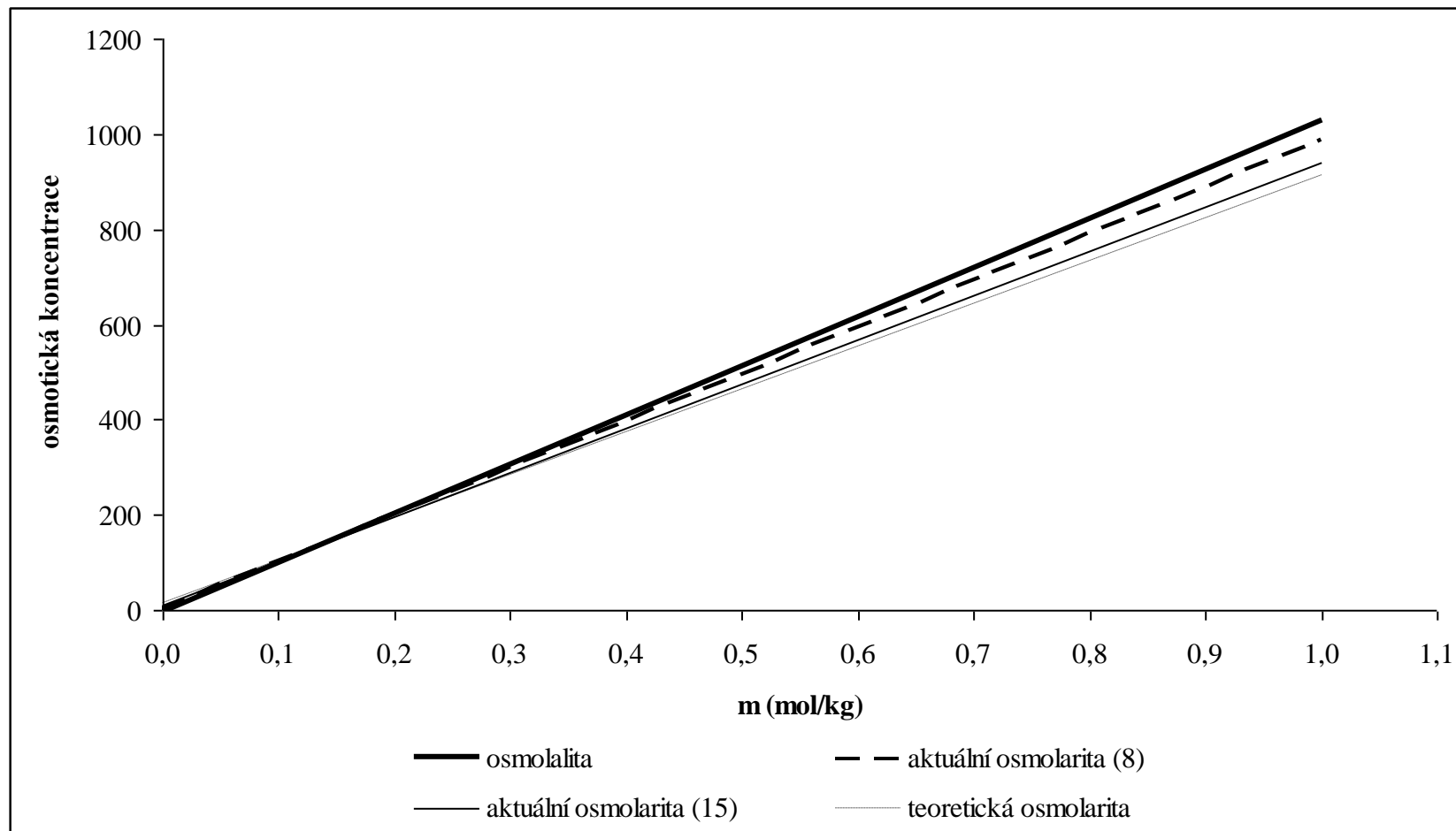
Obr. 4 - Závislost parciální měrného objemu laktosy na molalitě vodného roztoku



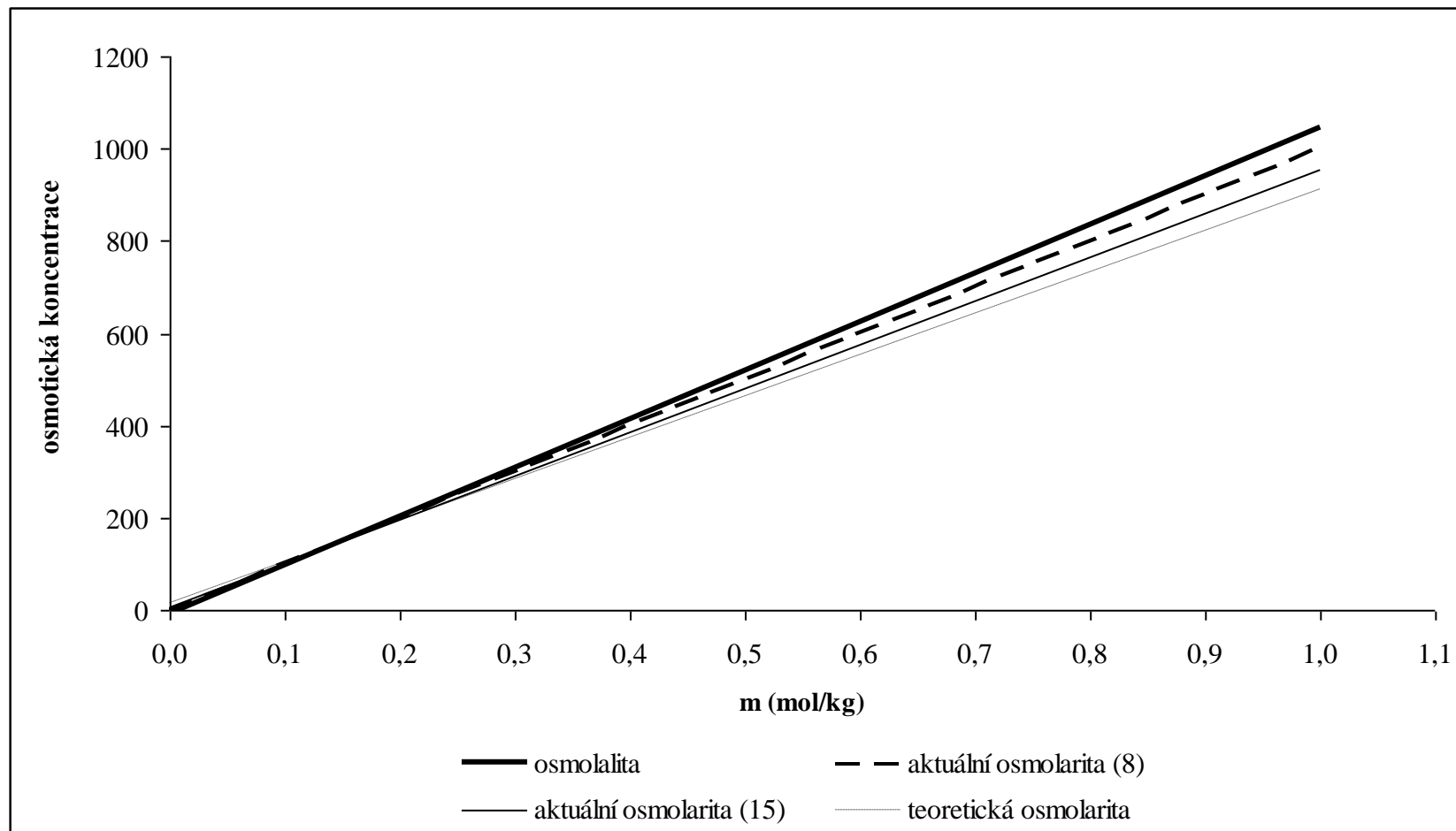
Obr. 5 - Závislost parciálního měrného objemu mannitolu na molalitě vodného roztoku



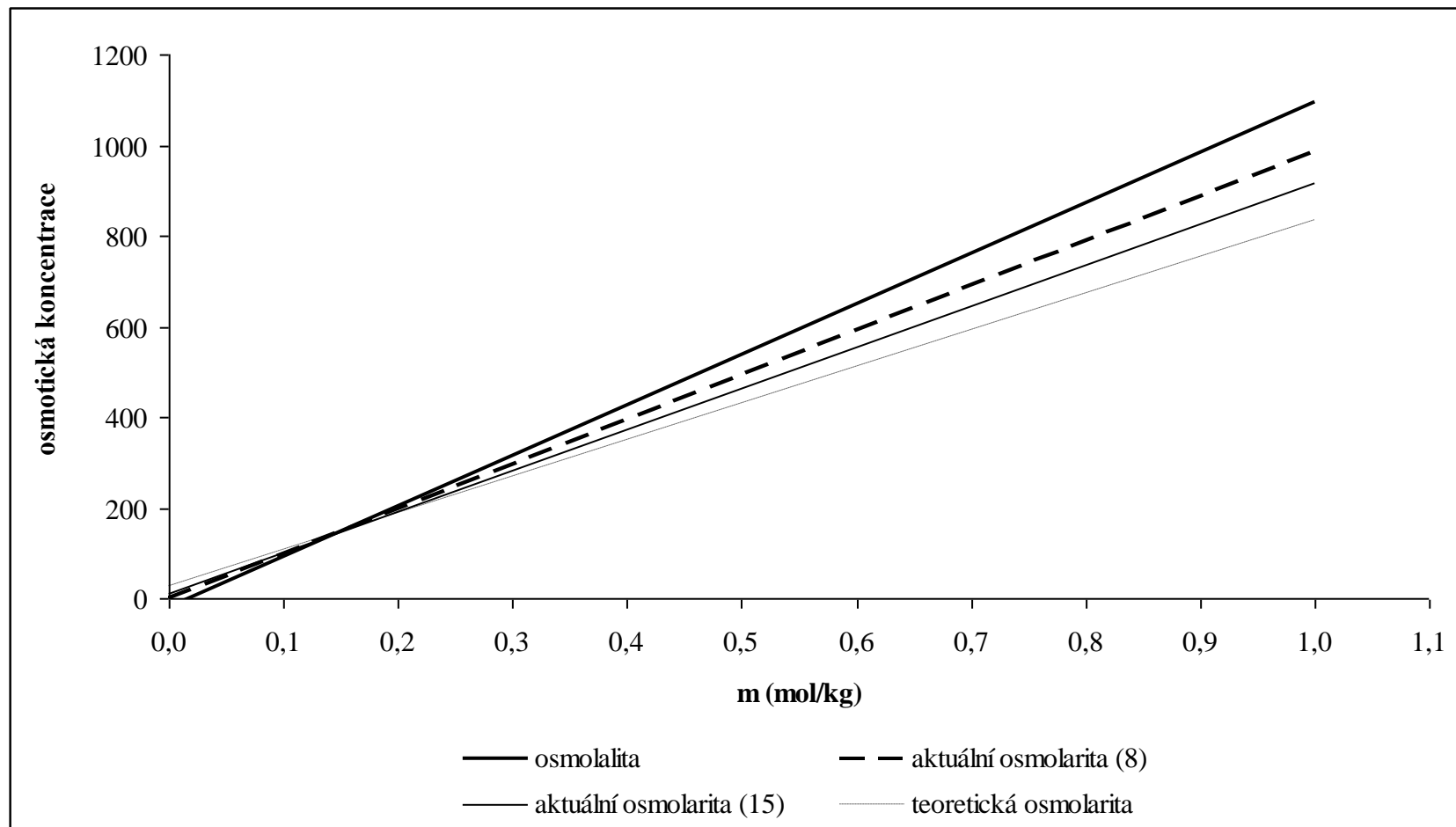
Obr. 6 - Závislost parciálního měrného objemu sorbitolu na molalitě vodného roztoku



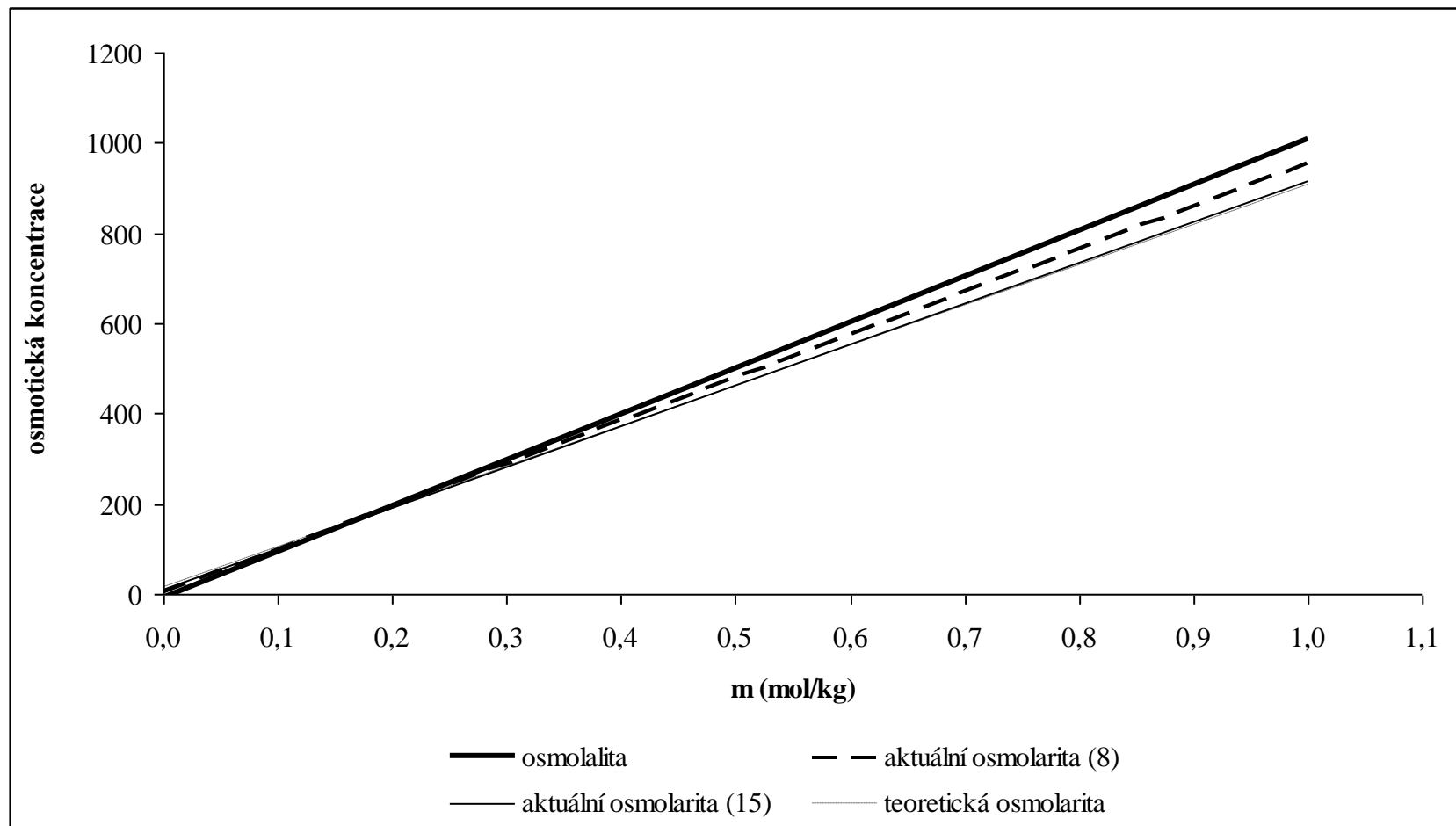
Obr. 7 - Porovnání odhadu osmolarity z měřené osmolality roztoků fruktosy



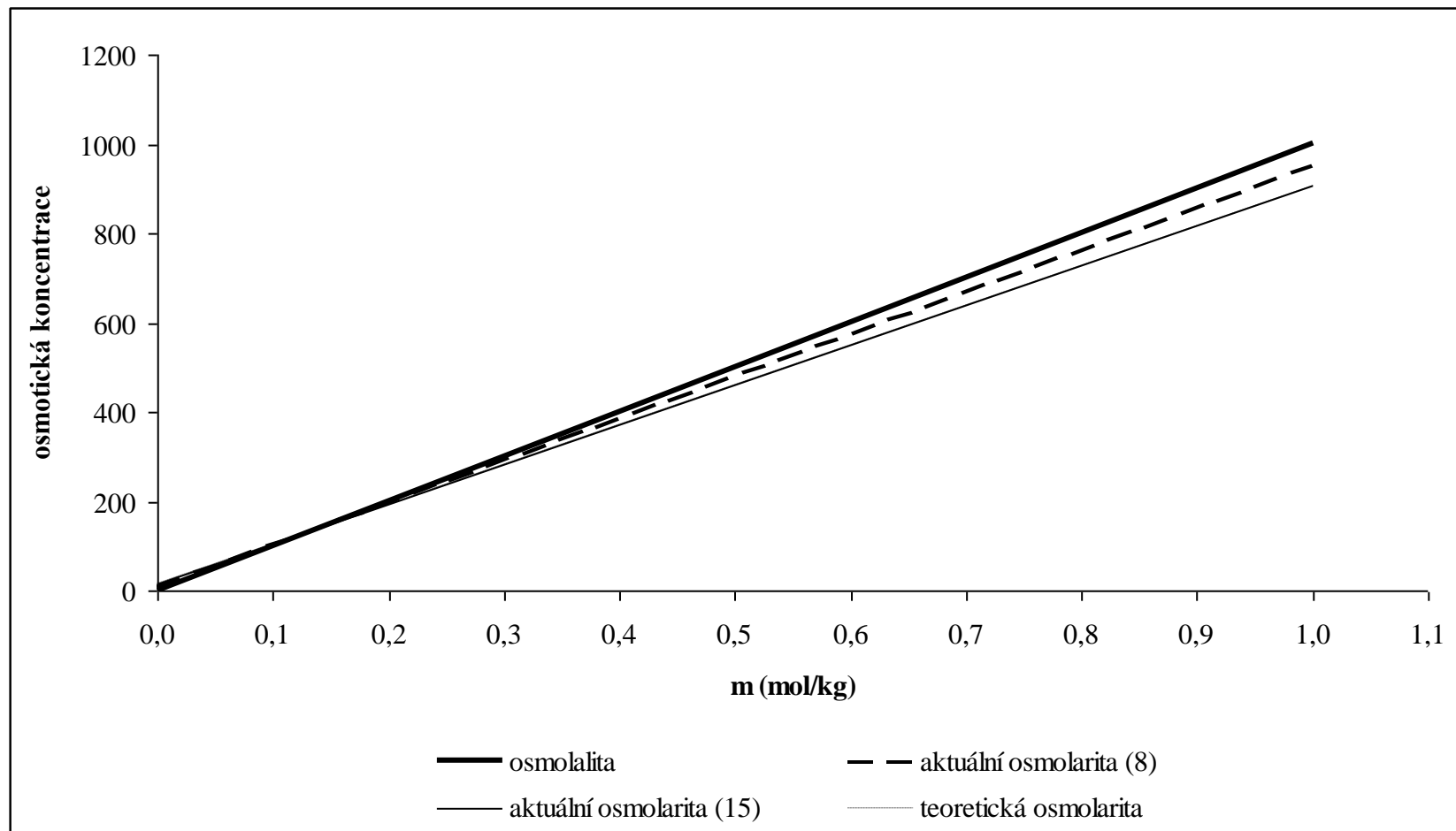
Obr. 8 - Porovnání odhadu osmolarity z měřené osmolality roztoků glukosy



Obr. 9 - Porovnání odhadu osmolarity z měřené osmolality roztoků laktosy



Obr. 10 - Porovnání odhadu osmolarity z měřené osmolality roztoků mannitolu



Obr. 11 - Porovnání odhadu osmolarity z měřené osmolality roztoků sorbitolu

5. Diskuse

Znalost osmotického tlaku je nezbytná v souvislosti s biologickými procesy, při nichž dochází k difuzi látek nebo transportu vody přes membrány. U parenterálních přípravků se osmotický efekt látek rozpuštěných ve vodě vyjadřuje jako osmotická koncentrace - osmolarita c_{osm} v osmolech na litr (osmol/l). Osmolaritu však nelze změřit. Teoretickou (ideální) hodnotu lze odvodit z látkové koncentrace látky v roztoku (mol/l) a počtu částic, které látka při rozpouštění vytváří (molekuly, ionty). Na základě snížení teploty tuhnutí roztoku vzhledem k vodě (kryoskopie) umožňují osmometry měření osmotické koncentrace vyjádřené jako osmolalita m_{osm} vyjádřené v osmol/kg. Problematika převodu měřené osmolality na aktuální osmolaritu, která je z důvodu objemového dávkování roztoků pacientům praktičtější, je aktuální i pro současný nesoulad mezi americkou a evropskou lékopisnou normativou.

Osmotický tlak, jako jedna z koligativních vlastností, je přímo úměrný koncentraci vodného roztoku. Příprava vodných roztoků rozpouštěním látky je ovlivněna jednak teplotou laboratoře a jednak změnami teploty doprovázejícími proces rozpouštění. Důsledkem jsou změny objemu, které mohou ovlivnit molární koncentraci roztoku (mol/l). Proto byla v této diplomové práci zvolena příprava vodných roztoků, jejichž molární koncentrace (mol/kg) byla vztažena k hmotnosti vody jako rozpouštědla.

K přípravě roztoků byly použity monosacharidy lékopisné kvality (s výjimkou fruktosy). Pro zjištění obsahu vlhkosti byl vzorek suroviny sušen do konstantní hmotnosti nejprve při 70°C a poté (s výjimkou glukosy) při teplotě 90°C. Poté byly vzorky uchovávány při laboratorní teplotě 25±0,5°C a relativní vlhkosti vzduchu 65±5% ke zjištění rovnovážného obsahu vlhkosti. Výsledky jsou shrnuty v tabulkách 6 - 7. Žádná z látek nevykazovala obsah vlhkosti vyšší než 0,11% před sušením a ani výrazné hygroskopické vlastnosti. Maximální nárůst obsahu vlhkosti při uchovávání za laboratorních podmínek byl 0,18%.

Rozpuštěním navážky látky v 1,0 kg čištěné vody byly připraveny roztoky monosacharidů (glukosy, fruktosy, laktosy, mannitolu a sorbitolu) v odstupňované molalitě v rozmezí 0,1 - 1,0 mol/kg. Složení roztoků a jejich vlastnosti jsou uvedeny v tabulkách 8 - 12.

Vzhledem k objemovým změnám vyplývajícím z procesu rozpouštění a vlivu teploty, je výhodnější příprava roztoků o známé molalitě. Převod molality na molaritu je možný po zjištění hustoty roztoku.

V této diplomové práci byly pyknometricky při $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ stanoveny relativní hustoty h_r vodných roztoků sacharidů. Pomocí hustoty vody při stejné teplotě (0,9971 kg/l) byly s využitím rovnice (10) vyjádřeny aktuální hustoty roztoků h (kg/l). Průměrné hodnoty pěti měření jsou pro všechny roztoky studovaných látek shrnuty v tabulkách 8 - 12.

Po vyjádření hmotnosti roztoku M (kg) podle rovnice (9) jako součtu hmotnosti vody a rozpuštěné látky byly pomocí rovnice (11) určeny objemy roztoků V_r (l) a následně molarita roztoků c (mol/l) podle rovnice (12). Výsledky jsou uvedené v tabulkách 8 - 12. Pro studované roztoky monosacharidů je vztah mezi molalitou a molaritou roztoku vyjádřen regresními rovnicemi, které jsou shrnuty v tabulce 13 a jsou charakterizovány koeficienty korelace v rozmezí 0,9983 - 0,9996. Odchyly mezi látkovými koncentracemi jsou výraznější při stoupající koncentraci roztoků.

Množství osmoticky aktivních částic ve vodném roztoku vyjadřuje osmotická koncentrace infuzních přípravků, která je součástí označení infuzního přípravku. Počet osmoticky aktivních částic, které při rozpuštění vznikají, závisí na chování látek. Pro neelektrolyty (např. monosacharidy) je počet částic roven 1, neboť látky se rozpadají na molekuly. Přestože z praktického hlediska je vyjádření osmolarity (osmol/l) výhodné, nelze osmolaritu měřit. Osmometry, pracující obvykle na principu měření snížení teploty tuhnutí, umožňují získání skutečné osmotické aktivity roztoků, vyjádřené jako osmolalita v mosmol/kg.

Zpracováním literární rešerše bylo zjištěno, že problematika převodu osmolality na osmolaritu není harmonizovaná. Data shrnutá v tabulkách 15 - 20

umožňují komentář k použitým postupům. Přestože pro praktické situace používání ředěných infuzních roztoků jsou odchylky v hodnotách osmolality a osmolarity obvykle považovány za nevýznamné¹³, je známo, že v řadě případů, především při stoupající koncentraci roztoků, zanedbatelné nejsou.

Za předpokladu, že při rozpuštění neelektrolytů vzniká jen jedna osmoticky aktivní částice, lze vyjádřenou molaritu roztoků (mol/l) považovat za číselně shodnou s teoretickou osmolaritou c_{osm} podle vztahu (7)¹⁸. K tomuto převodu tedy není nutné měření osmolality roztoku. Teoretickou osmolaritu uvádí pro infuzní roztoky např. Český lékopis 2005⁴. Pro roztoky studovaných látek byla po vyjádření molární koncentrace určena teoretická osmolarita a porovnána s naměřenou osmolalitou. Průměrné odchylky teoretické osmolarity od osmolality pro jednotlivé látky jsou uvedeny v tabulce 21.

Na základě úvahy, že poměr mezi molalitou roztoku a jeho molaritou je roven poměru mezi osmolalitou roztoku a jeho osmolaritou, lze aktuální osmolaritu odhadnout podle rovnice (13).¹⁶ Výsledky prezentované v tabulkách 15 - 19 a na obrázcích 7 - 11 ukazují, že tento převod zpřesnil odhad osmolarity v porovnání s předcházejícím způsobem (tabulka 21).

Převod osmolality na aktuální osmolaritu podle USP vyžaduje určení parciálního měrného objemu rozpuštěné látky, který vyjadřuje změnu objemu roztoku při rozpuštění 1 g látky. Pro všechny studované monosacharidy byly s využitím rovnice (14) vyjádřeny parciální měrné objemy V_{gram} (ml/g). Hodnoty jsou uvedeny v tabulkách 8 – 12 a průměrná hodnota pro každou látku je shrnuta v tabulce 14. Závislost parciálního měrného objemu na molalitě roztoku ukazují obrázky 2 - 6, ve kterých je přímkou vyznačen také průměrný parciální měrný objem. Z obrázků je patrné, že přestože je parciální měrný objem obvykle deklarován jako konstanta příslušné látky, jsou jeho aktuální hodnoty závislé na koncentraci roztoku. Z vybraných studovaných látek přitom nejmenší kolísání v závislosti na molalitě vykazovaly cukerné alkoholy sorbitol a mannitol. Prakticky u všech látek studovaných v diplomové práci byla zaznamenána větší odchylka od průměrného parciálního měrného

objemu pro 0,1 molální (mol/kg), případně i pro 0,2 molální roztoky (laktosa, mannitol). Z fyzikálně chemického pohledu lze takový silně zředěný roztok považovat za roztok s nekonečným zředěním, ve kterém je obsah rozpuštěných částic natolik malý, že se částice navzájem neovlivňují a jejich objem (a tedy i parciální měrný objem vztažený k 1 gramu látky) je vzhledem k objemu částic rozpouštědla (vody) nepatrný.⁹

S využitím rovnice (8) byly odvozeny hodnoty aktuální osmolarity všech vodných roztoků studovaných neelektrolytů. Hodnoty jsou uvedeny v tabulkách 15 - 19. Porovnáním průměrných odchylek hodnot od měřené osmolality (tabulka 21) a obrázkové prezentace (obr. 7 - 11) je zřejmé, že takto získané odhady osmolarity jsou mnohem bližší měřené osmolalitě než předchozí odhady. V případě 0,1 molálních (mol/kg) roztoků byly hodnoty v rámci zaokrouhlení stejné a odchylky prakticky nevýznamné až do cca $m = 0,3$ mol/kg. Proto jsou v běžné praxi rozdíly mezi osmolalitou a osmolaritou pro zředěné roztoky zanedbávány.¹³ Za zředěné lze v této souvislosti považovat hypotonické a případně izotonické roztoky, např. isotonický roztok glukosy má molalitu $m = 0,277$ mol/kg. Se stoupající koncentrací látky se odhady osmolarity od měřené osmolality více odchylovaly. Např. pro jednomolální roztok glukosy je rozdíl mezi teoretickou osmolaritou a osmolalitou 14,6%, odhad aktuální osmolarity podle rovnice (13) se liší od měřené osmolality o 10,3%, zatímco podle rovnice (8) je rozdíl 5,2%. Vztahy mezi měřenou osmolalitou a odhadem osmolarity popisují regresní rovnice uvedené v tabulce 20 charakterizované koeficientem korelace v rozmezí 0,9960 - 0,9999. Závislosti jsou pro jednotlivé látky také ilustrovány pomocí obrázků 7 - 11.

V tabulce 21 jsou shrnuty průměrné procentuální odchylky odhadů teoretické a aktuální osmolarity od měřené osmolality. Na základě uvedených výsledků je možné uzavřít, že k odhadu aktuální osmolarity z měřené osmolality lze doporučit postup deklarovaný v USP 31 s využitím parciálního měrného objemu rozpuštěné látky podle rovnice (8).

6. Závěr

Diplomová práce shrnuje poznatky z technologické problematiky formulace parenterálních přípravků a jejich osmotické koncentrace.

Pyknometricky byly zjištěny relativní hustoty vodných roztoků pěti vybraných monosacharidů (fruktosy, glukosy, laktosy, mannitolu a sorbitolu) v koncentraci 0,1 - 1,0 mol/kg a vyjádřeny jejich aktuální hustoty s využitím hustoty vody při teplotě měření. Za předpokladu znalosti hustoty vodných roztoků byly pro studované látky vyjádřeny rovnice lineární regrese k převodu molality roztoků v rozmezí 0,1 - 1,0 mol/kg na molaritu (mol/l). Závislosti byly charakterizovány koeficienty korelace v rozmezí 0,9983 - 0,9996.

Byla změřena osmolalita (mosmol/kg) vodných roztoků monosacharidů pomocí osmometru. Byly vyjádřeny změny objemu roztoku studovaných monosacharidů vyvolané rozpuštěním 1 g látky v 1 kg čištěné vody.

S využitím tří různých metod byly odhadnuty hodnoty teoretické a aktuální osmolarity. Nejvýraznější odchylka mezi experimentálními hodnotami a odhady byla zaznamenána u teoretické osmolarity. K převodu měřené osmolality na aktuální osmolaritu roztoků lze doporučit postup podle USP 31 s využitím parciálního měrného objemu rozpuštěné látky.

7. Souhrn

Teoretická část diplomové práce shrnuje poznatky o formulaci parenterálních přípravků a lékopisné informace o problematice osmolality a osmolarity roztoků.

V experimentální části jsou pro vybrané vodné roztoky používaných neelektrolytů (fruktosy, glukosy, laktosy, mannitolu a sorbitolu) v odstupňované molalitě v rozmezí 0,1 - 1,0 mol/kg shrnuty výsledky pyknometrického měření hustoty a měření osmolality osmometrem. Jsou vyjádřeny změny objemu roztoku při rozpouštění sledovaných látek ve vztahu ke koncentraci vodných roztoků. Jsou komentovány metody odhadu teoretické a aktuální osmolarity z měřené osmolality.

Summary

In the theoretical part of theses, the problematic of formulation of parenteral products is summarized. The pharmacopoeial information about osmolality and osmolarity of solutions is also presented.

In the experimental part, there are summarized results of pycnometric measurement of density and measurement of osmolality by osmometer for chosen aqueous solutions of used nonelectrolytes (fructose, glucose, lactose, mannitol and sorbitol) in graduated molality within the range of 0,1 - 1,0 mol/kg. There changes in volume of solution relating to the dissolution of investigated substances in relation to concentration of aqueous solutions were expressed. Methods of the determination of the theoretical and actual osmolarity from the measured osmolality were reported.

8. Literatura

- ¹ Komárek, P., Rabišková, M. (Eds.): Technologie léků. 3. vydání, Galén, Praha, 2006, 399 S
- ² Winfield, A. J., Richards, R. M. E. (Eds.): Pharmaceutical practice. 2nd Ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, 1998, 573 S
- ³ Avis, K. E., Lachman, L., Lieberman, H. A. (Eds.): Pharmaceutical dosage forms, parenteral medications. Vol. 1., 2nd. Ed., Marcel Dekker Inc., New York, 1992, 466 S
- ⁴ Český lékopis 2005, Grada, Praha, 2005, 3264 S
- ⁵ Akers, M. J., Larrimore, D. S., Guazzo D. M. (Eds.): Parenteral quality control sterility, pyrogen, particulate and package integrity testing. 3rd Ed., Marcel Decker Inc., New York, 2003, 389 S
- ⁶ Schück, O.: Poruchy metabolismu vody a elektrolytů v klinické praxi. Grada Publishing, Praha, 2000, 224 S
- ⁷ Lund, W. (Ed.): British pharmaceutical codex. 12th Ed., Pharmaceutical Press, 1994, 93-119
- ⁸ Florence, A. T., Attwood, D.: Physiochemical Principles of Pharmacy. 4th Ed., Pharmaceutical Press, 2006, Graysland, 492 S
- ⁹ Moore, W. J.: Physical chemistry. 4th Ed., Prentice-Hall, New Jersey, 1972, 974 S
- ¹⁰ AISLP
- ¹¹ Československý lékopis 4, 4. vydání, Avicenum, 1987, Praha, 110-111
- ¹² Bauer, K. H., Frömming, K. H., Führer, C.: Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie. 7. Aufl., Wissenschaftlichen Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 2002, 486 S
- ¹³ Cambell, I.: Osmolarity and partitioning of fluids. Surgery (Oxford), 22, 2004, 48c-48e
- ¹⁴ Gasparič, J.: Vybrané kapitoly z fyzikální chemie pro posluchače farmacie 1. díl. Karolinum, Praha, 1997, 243 S

-
- ¹⁵ Shah, J. C.: Tonicity. In Swarbrick, J. (Ed): Encyclopedia of pharmaceutical technology. 3rd Ed., Informa Healthcare, New York, 2007, 3768-3781
- ¹⁶ Reich, I., Poon, C. Y., Sugita, E. T.: Tonicity, Osmoticity, osmolality and osmolarity. In Gennaro, A. R. (Ed.): Remington: The science and practice of pharmacy, 20th Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 2000, 246-262
- ¹⁷ Gupta, P. K.: Solutions and phase equilibria. In Gennaro, A. R. (Ed.): Remington: The science and practice of pharmacy. 20th Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 2000, 208-226
- ¹⁸ The US Pharmacopoeia 31, NF 25, US Pharmacopoeial Convention, Inc., Rockville, 2006
- ¹⁹ Allen, L. V., Popovich, N. G., Ansel, H. C.: Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems. 8th Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 453-457
- ²⁰ <http://www1.lf1.cuni.cz/~kocna/biochem/text2.htm> Kazda, A.: Klinická biochemie vnitřního prostředí, k 11.7.2007
- ²¹ Leuenberger, H., Lanz, M., Eichhorst, O. (Eds): Martin: Physikalische Pharmazie. 4. Aufl., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 2002, 785 S
- ²² Kotlík, B. a kol: Matematické, fyzikální a chemické tabulky. Fragment, Praha, 2007, 164