

Univerzita Karlova
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické technologie



Studium vlivu hydrofilních nosičů
na rozpustnost omezeně rozpustného léčiva

Study of influence of hydrophilic carriers on the solubility
of a poorly soluble drug

Diplomová práce

Eliška Veselá

Školitelka: doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.

Hradec Králové 2022

Prohlášení

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

V Hradci Králové dne.....

Podpis:

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala své školitelce paní doc. PharmDr. Zdeňce Šklubalové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, ochotu a trpělivost při vypracování této diplomové práce. Mé poděkování patří též mojí konzultantce Mgr. Janě Brokešové za její milý přístup a pomoc při realizaci experimentální části. V neposlední řadě děkuji své rodině za podporu v průběhu celého studia.

Tato práce vznikla za podpory Grantové Agentury Univerzity Karlovy (projekt č. 268120/2020) a Specifického vysokoškolského výzkumu SVV 260 547.

Obsah

1	Abstrakt.....	6
2	Abstract.....	7
3	Seznam zkratek.....	8
4	Zadání.....	10
5	Úvod.....	11
6	Teoretická část.....	12
6.1	Rozpustnost.....	12
6.2	Rozpouštění a rychlost rozpouštění.....	15
6.3	Ovlivnění rozpustnosti a rychlosti rozpouštění.....	17
6.3.1	Chemické modifikace.....	17
6.3.2	Fyzikální modifikace.....	19
6.3.3	Technologické postupy.....	20
6.4	Uspořádané mísení.....	24
6.4.1	Faktory ovlivňující homogenitu mísené směsi.....	24
6.5	Mletí.....	26
7	Experimentální část.....	29
7.1	Použité suroviny.....	29
7.2	Použité přístroje.....	29
7.3	Použité metody.....	30
7.3.1	Hodnocení velikosti částic.....	30
7.3.2	Příprava směsí.....	30
7.3.3	Disoluční testy.....	32
7.3.4	Zpracování výsledků.....	34
8	Výsledky.....	36
9	Diskuse.....	40
9.1	Granulometrické charakteristiky.....	40
9.2	Rychlost rozpouštění.....	43
9.2.1	Vliv mísení s nosičem.....	46
9.2.2	Vliv mletí s nosičem.....	48

10	Závěry	52
11	Použitá literatura	53

1 Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Farmaceutické technologie

Školitel: Doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Jana Brokešová

Posluchač: Eliška Veselá

Název diplomové práce: Studium vlivu hydrofilních nosičů na rozpustnost omezeně rozpustného léčiva

Cílem této práce bylo zvýšení rozpustnosti modelového špatně rozpustného léčiva meloxicamu (MLX) přípravou binárních interaktivních směsí s hydrofilními nosiči prostým mísením a společným mletím. Pro všechny připravené směsi byly vyhodnoceny granulometrické charakteristiky a provedeny disoluční testy za použití přístroje USP-4 s průtokovou celou pro prášky se systémem otevřené smyčky. Byla vyhodnocena rychlost rozpouštění r_{rel} (min^{-1}) a množství rozpuštěného léčiva m_{rel} (%). U většiny testovaných směsí, a to jak u směsí připravených mísením, tak i u směsí připravených komletím, byl v porovnání se samotným léčivem viditelný pozitivní efekt přidaného nosiče v podobě zvýšení rychlosti i množství rozpuštěného léčiva. Výjimkou byly směsi s hypromelosou, u kterých ke zlepšení sledovaných parametrů nedošlo.

2 Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of:	Department of Pharmaceutical Technology
Supervisor:	Doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.
Consultant:	Mgr. Jana Brokešová
Student:	Eliška Veselá
Title of Thesis:	Study of influence of hydrophilic carriers on the solubility of a poorly soluble drug

The aim of this thesis was to enhance the solubility of a poorly soluble model drug meloxicam (MLX) by preparing binary interactive mixtures with hydrophilic carriers by simple mixing and co-milling. The mixtures were characterized for granulometric properties. The dissolution studies were carried out using the USP-4 apparatus assembled with a flow-through powder cell in an open-loop system. The dissolution rate r_{rel} (min^{-1}) and the amount of released drug m_{rel} (%) were evaluated. The observable positive effect of carriers was registered in terms of increasing the dissolution rate and the amount of released drug for both mixed and co-milled mixtures comparing to the raw drug. Mixtures with hypromellose were the exception; the improvement of the monitored parameters was not detected.

3 Seznam zkratek

zkratka	jednotky	význam
[A ⁻]	mol/l	Molární koncentrace ionizované slabé kyseliny/její konjugované baze
[B]	mol/l	Molární koncentrace neionizované slabé zásady/její konjugované kyseliny
[BH ⁺]	mol/l	Molární koncentrace ionizované zásady
[HA]	mol/l	Molární koncentrace neionizované slabé kyseliny
A ₃₆₃		Absorbance při vlnové délce 363 nm
AA		Kyselina alginová
ACa		Alginát vápenatý
BCS		Biofarmaceutický klasifikační systém (<i>Biopharmaceutical Classification System</i>)
c	g/l, mg/l	Koncentrace
c _L	mol/l	Koncentrace rozpuštěné látky v objemu roztoku
CM		Komletá směs
CRKL		Karagenan
c _s	mol/l	Koncentrace nasyceného roztoku na fázovém rozhraní
ČL		Český lékopis
d	mm	Průměr průtokové cely
D	cm ² /s	Difuzní koeficient
dn		Množství rozpuštěné látky
dt	s	Časový interval
EMA		Evropská léková agentura (<i>European Medicines Agency</i>)
FDA		Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (<i>Food and Drug Administration</i>)
HLB		Hydrofilně-lipofilní rovnováha
HPMC		Hydroxypropylmethylcelulosa, hypromelosa
K _a		Disociační konstanta
K _{H,i}	kPa	Henryho konstanta
MCC		Mikrokystalická celulosa
m _{int}	mg	Množství léčiva uvolněného v jednotlivých intervalech
MLX		Meloxikam

m_{MLX}	mg	Množství meloxikamu ve vzorku
m_{rel}	%	Relativní množství uvolněného léčiva
m_{tot}	mg	Celkové množství uvolněného léčiva
p_i	kPa	Parciální tlak plynu nad roztokem
PM		Fyzikální směs
Q	l/s	Průtoková rychlost disolučního média
r	$mg \cdot l^{-1} \cdot s^{-1}$	Rychlost rozpouštění
r_{MAX}	min^{-1}	Maximální relativní rychlost rozpouštění
r_{rel}	min^{-1}	Relativní rychlost rozpouštění
S	cm^2	Plocha fázového rozhraní
SD		Směrodatná odchylka
SEDDS		Samoemulgující systémy (<i>Self-emulsifying drug delivery systems</i>)
SMEDDS		Samomikroemulgující systémy (<i>Self-microemulsification drug delivery systems</i>)
SNEDDS		Samonanoemulgující systémy (<i>Self-nanoemulsification drug delivery systems</i>)
SSA	m^2/kg	Specifický povrch (<i>Specific surface area</i>)
t	s	čas
v	mm	Výška průtokové cely
V_c	l	Objem průtokové cely
WHO		Světová zdravotnická organizace (<i>World Health Organization</i>)
x_{10}	μm	Velikost částic odpovídající 10 % kumulativní četnosti
x_{50}	μm	Medián velikosti částic
x_{90}	μm	Velikost částic odpovídající 90 % kumulativní četnosti
x_i		Molární zlomek plynu v roztoku
γ_{LG}	N/m	Povrchové napětí mezi kapalnou a plynnou fází
γ_{GS}	N/m	Povrchové napětí mezi plynnou a pevnou fází
γ_{LS}	N/m	Povrchové napětí mezi kapalnou a pevnou fází
δ	cm	Tloušťka difuzní vrstvy
ΔH		Změna entalpie
θ	°	Kontaktní úhel

4 Zadání

Diplomová práce se bude věnovat studiu vlivu hydrofilních nosičů na rychlost rozpouštění modelového léčiva meloxicamu.

V teoretické části bude pozornost věnována literární rešerši v oblasti zvyšování rozpustnosti technologickými postupy.

V praktické části budou připraveny mísené a komleté směsi léčiva a nosiče ve stanoveném poměru. Jako pomocné látky budou použity alginát vápenatý, kyselina alginová, mikrokrytalická celulóza, karagenan a hypromelosa.

V návaznosti na předchozí zkušenosti budou pro mletí použity specifické optimalizované podmínky odrážející chování vybraných pomocných látek při mletí. Rychlost rozpouštění léčiva bude hodnocena pomocí disolučního testu s využitím průtokové práškové cely.

5 Úvod

Perorální podání léčiv je v současnosti nejrozšířenější a nejběžnější způsob aplikace léčiv. Tento způsob podání má mnoho výhod – je snadné, neinvazivní, compliance pacienta je obvykle dobrá a produkce je efektivní. Většina současně používaných léčiv má však z důvodu špatné absorpce z gastrointestinálního traktu po perorálním podání nízkou biologickou dostupnost neboli z celkové podané dávky se do krevního oběhu dostane jen malé množství farmakologicky aktivního léčiva. Nejčastější příčinou je špatná rozpustnost a nízká gastrointestinální propustnost. Nízká biodostupnost podávaného léčiva vyžaduje navýšení dávky tak, aby léčivo dosáhlo v krvi terapeutické koncentrace. Takové zvyšování dávky může způsobit lokální toxicitu v gastrointestinálním traktu, což může vést k nižší compliance pacienta, a tedy i negativnímu dopadu léčby.¹ Nízká a pomalá absorpce je také problém u léčiv, u kterých požadujeme rychlý nástup účinku, např. u analgetik či antihistaminik.²

Rozpustnost léčiva je tak důležitým a zároveň limitujícím krokem perorálně podávaných léčiv. Zvýšení rozpustnosti povede ke zvýšení absorpce a zajištění dostatečné koncentrace léčiva v systémovém oběhu pro dosažení požadované farmakologické odpovědi. Z tohoto důvodu bylo vyvinuto množství různých metod, které pomáhají zlepšit rozpustnost léčiva.¹

Tato diplomová práce se zabývá zlepšením rozpustnosti modelového léčiva meloxicamu, nesteroidního antiflogistika, řazeného dle biofarmaceutického klasifikačního systému (BCS) do třídy II jako špatně rozpustné léčivo s využitím technologických metod mísení a mletí spolu s vybranými hydrofilními nosiči.

6 Teoretická část

Aby se léčivo po podání mohlo absorbovat a dostat se tak do krevního oběhu a projevit vlastní farmakologický efekt, musí být v místě absorpce dostupné ve formě vodného roztoku – tzn. nejprve se musí léčivo rozpustit.³ Malé množství rozpuštěného léčiva v gastrointestinální tekutině je tak limitujícím krokem pro biodostupnost perorálně podaného léčiva.⁴

6.1 Rozpustnost

Rozpustnost, nebo též míra rozpouštění, je schopnost rozpouštěné látky rozpustit se v čistém rozpouštědle, kdy se nastolí rovnováha mezi rozpuštěným a nerozpuštěným podílem pevné fáze.⁵ Kvalitativně lze rozpustnost popsat jako interakci rozpouštědla a rozpouštěných látek vedoucí k tvorbě homogenní molekulární disperze. Kvantitativně ji lze popsat jako maximální množství látky, které je za daných podmínek schopno pojmout čisté rozpouštědlo. Vyjadřuje tedy koncentraci nasyceného roztoku.⁶ Přidáním další látky do nasyceného roztoku nedosáhneme vyššího množství rozpouštěné látky, jelikož kapacita rozpouštědla je již vyčerpána a přebytek látky bude tvořit sediment. Obvykle se rozpustnost látky uvádí buď kvantitativně jako množství látky rozpouštěné v určitém objemu rozpouštědla (g/l, mg/ml) nebo jako látková koncentrace, molární (molarita) vyjadřující počet molů rozpouštěné látky v celkovém objemu směsi (mol/l, mol/m³) či molální (molalita) jako počet molů látky v hmotnosti rozpouštědla (mol/kg), případně lze rozpustnost vyjádřit jako hmotnostní procenta představující počet gramů látky ve 100 gramech rozpouštědla.^{5,6}

Český lékopis rozděluje látky dle rozpustnosti do sedmi kategorií uvedených v tabulce (1). Kategorie rozpustnosti jsou charakterizovány množstvím rozpouštědla v mililitrech potřebného pro rozpuštění jednoho gramu látky v teplotním rozmezí 15 °C až 25 °C. Dále lékopis uvádí termín „částečně rozpustný“, který popisuje situaci, kdy se ve směsi rozpustí pouze některé ze složek, a termín „mísitelný“ popisující kapalinu mísitelnou s daným rozpouštědlem v každém poměru.⁷

Tab. 1: Klasifikace rozpustností dle ČL ⁷

Popisný výraz	Přibližný objem rozpouštědla v mililitrech na gram rozpouštěné látky
Velmi snadno rozpustný	méně než 1
Snadno rozpustný	1 až 10
Dobře rozpustný	10 až 30
Mírně rozpustný	30 až 100
Těžce rozpustný	100 až 1000
Velmi těžce rozpustný	1000 až 10 000
Prakticky nerozpustný	více než 10 000

Lékopisné rozdělení látek z fyzikálně-chemického hlediska však není z farmakologického pohledu zcela použitelné, neboť nezohledňuje množství, které musíme využít pro terapeutický efekt, a proto podle toho nemůžeme odhadovat biodostupnost daného léčiva.⁸ Z tohoto důvodu byl vyvinut biofarmaceutický klasifikační systém (BCS, *Biopharmaceutical Classification System*), jehož cílem je předpovědět chování léčiv měřením jejich rozpustnosti ve vodě a jejich gastrointestinální propustnosti (permeability).⁹ Dle těchto dvou kritérií jsou léčiva rozdělena do čtyř tříd uvedených v tabulce (2).⁸

Tab. 2: Biofarmaceutický klasifikační systém léčiv (BCS)⁸

Třída	Rozpustnost	Permeabilita
I	vysoká	vysoká
II	nízká	vysoká
III	vysoká	nízká
IV	nízká	nízká

O vysoké permeabilitě hovoříme, pokud se po perorálním podání vstřebá alespoň 90 % léčiva ve srovnání s intravenózní aplikací.^{8,10} Jako vysoce rozpustné léčivo

klasifikujeme, pokud se jeho nejvyšší léčebná dávka rozpustí v 250 ml (nebo méně) vodného média s pH v rozmezí 1 – 7,5 při 37 ± 1 °C.¹ Dle novějších poznatků je preferováno spíše rozmezí pH 1,2 – 6,8. Pro určení rozpustnosti léčiva je nutné provést měření alespoň ve třech pufrech o různém pH – doporučené je provést měření při pH 1,2, 4,5 a 6,8.¹¹

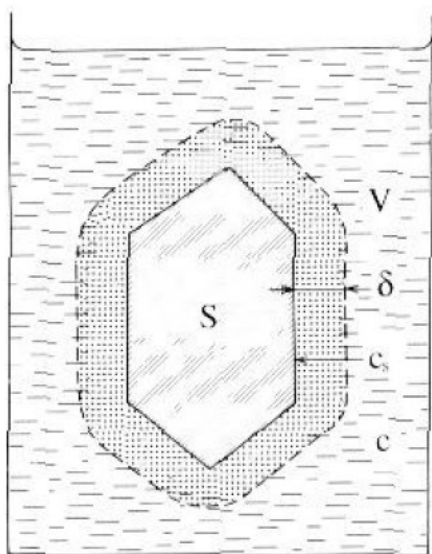
Dalším parametrem pro hodnocení je, jak rychle se léčivo rozpustí. Léčivo označujeme jako rychle rozpustné, pokud se v předepsaném přístroji během 30 minut rozpustí minimálně 85 % z celkového množství, a jako velmi rychle rozpustné, pokud se rozpustí alespoň 85 % v intervalu 15 minut.¹¹

V dnešní době velké množství léčivých látek využívaných ve farmakoterapii spadá do třídy BCS II (nízká rozpustnost, vysoká propustnost) nebo IV (nízká rozpustnost, nízká propustnost) a mají při perorálním podání nízkou biodostupnost způsobenou právě nízkou rozpustností ve vodě. Proto se snažíme u takových léčiv zvýšit jejich rozpustnost, a tudíž i biologickou dostupnost, různými chemickými modifikacemi či fyzikálními úpravami léčivé látky nebo různými technologickými postupy.¹²

Biofarmaceutický klasifikační systém lze využít nejen pro návrh formulace, ale je využíván i při regulačním procesu schvalování léčiv. Údaje BSC (rozpustnost, permeabilita) v kombinaci s údaji o rozpouštění léčiva představují tři hlavní faktory ovlivňující rychlost a rozsah absorpce perorálně podaných léčiv s okamžitým uvolňováním. Tohoto poznatku využily regulační agentury pro udělení výjimek určitým kategoriím léčiv, u nichž je možné při procesu schvalování upustit od testování farmakokinetické bioekvivalence *in vivo*. Americký Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA, *Food and Drug Administration*), Evropská léková agentura (EMA, *European Medicines Agency*) a Světová zdravotnická organizace (WHO, *World Health Organization*) udělily dle BCS výjimky při schvalování léčivých přípravků obsahujících léčiva ze třídy I v případě, že se léčivo zároveň rychle rozpouští.¹ WHO dále udělila tuto výjimku i slabě kyselým léčivům z BCS třídy II s rychlým rozpouštěním.¹³ EMA s WHO výjimku rozšířily i na léčiva ze třídy III, která se velmi rychle rozpouštějí.^{13,14}

6.2 Rozpouštění a rychlost rozpouštění

Rozpouštění můžeme popsat jako kinetický proces, při kterém dojde k rozptýlení rozpouštěné látky v rozpouštědle za vzniku homogenní disperze (roztoku). Během tohoto procesu může dojít k chemické reakci, při které původní látka reaguje s rozpouštědlem za vzniku jiných sloučenin nacházejících se v roztoku a původní látku není možné z roztoku zcela rekonstituovat nebo dojde k jednoduchému rozpouštění, kde k chemické reakci nedochází, struktura rozpouštěné látky je nezměněna, a v roztoku je tedy rozptýlena stejná látka jako původně rozpouštěná.^{5,16} Proces rozpouštění můžeme rozdělit do několika fází. Nejprve dochází ke smáčení jemných částic látky rozpouštědlem (rozpuštědlo se rozprostírá na povrch částic), tím je umožněno látce ponořit se do rozpouštědla (obalení celého povrchu rozpouštědlem a tvorba difuzní vrstvy), a nakonec dojde k difuzi molekul látky přes difuzní vrstvu do rozpouštědla.¹⁶ Proces rozpouštění je znázorněn na obrázku (1).



Obr. 1: Rozpouštění pevné částice¹⁷

Nezbytným krokem ovlivňující rychlost rozpouštění je **smáčení**. Smáčení ovlivňují přitažlivé síly mezi molekulami v kapalině (kohezní síly) a přitažlivé síly mezi kapalinou a pevnou fází (adhezní síly). Pomalé smáčení jednotlivých částic může bránit rychlému rozpouštění látky.

Míru smáčení lze charakterizovat **kontaktním úhlem**, který se vytvoří mezi kapkou kapaliny a povrchem. Kompletního smáčení částice je dosaženo tehdy, pokud je kontaktní úhel θ roven 0.¹⁶ V tomto případě se kapalina zcela rozprostírá na povrchu dané částice. Ostrý kontaktní úhel ($\theta < 90^\circ$) značí dobrou smáčivost a kapalina má tedy tendenci se rozprostírat na povrchu dané látky. Tupý kontaktní úhel ($\theta > 90^\circ$) ukazuje špatnou smáčivost a v tomto případě kapalina nemá tendenci vytvářet kontakt s pevnou látkou.

Chování látek v kontaktu s rozpouštědlem lze popsat pomocí **Youngovy rovnice** (1),

$$\gamma_{LG} \cos \theta = \gamma_{GS} - \gamma_{LS} \quad (1)$$

ve které jsou vyjádřeny vztahy mezi úhlem smáčení θ a povrchovým napětím mezi jednotlivými fázemi: γ_{LG} vyjadřuje povrchové napětí mezi kapalnou a plynnou fází, γ_{LS} mezi kapalnou a pevnou fází a γ_{GS} mezi plynnou a pevnou fází. Podle hodnoty povrchového napětí tak můžeme určit, jak snadno se bude látka smáčet, a nakonec i rozpouštět.¹⁷

Dalším důležitým krokem rozpouštění je **difuze**. Probíhá mezi oblastmi s rozdílnou koncentrací složek, kdy se každá složka pohybuje ve směru koncentračního spádu tak, aby koncentrace složek byla v roztoku na všech místech stejná. Fáze difuze je nejpomalejším krokem rozpouštění a ovlivňuje tak celkovou rychlost rozpouštění.¹⁷

Rozpouštění můžeme vyjádřit pomocí rychlosti rozpouštění. Tento kinetický proces charakterizuje **Noyes-Whitney rovnice** (2),

$$\frac{dn}{dt} = \frac{DS}{\delta} \cdot (c_S - c_L) \quad (2)$$

kde dn je množství látky, které se rozpustí v časovém intervalu vyjádřeném jako dt (s), D (cm^2/s) je difuzní koeficient rozpuštěné látky v daném rozpouštědle, S (cm^2) je celková plocha fázového rozhraní mezi rozpouštěnou látkou a roztokem, δ (cm) je tloušťka difuzní vrstvy, c_S (mol/l) je koncentrace nasyceného roztoku rozpuštěné látky na fázovém rozhraní a c_L (mol/l) je koncentrace rozpuštěné látky v celkovém objemu roztoku v daném časovém intervalu.¹⁶

Z rovnice (2) vyplývá, že rychlost rozpouštění můžeme ovlivnit zvětšením plochy fázového rozhraní S (např. rozdrobněním, zlepšením smáčení částic), zmenšením

tloušťky difuzní vrstvy δ mícháním roztoku nebo ovlivněním difuzního koeficientu látky D zvýšením teploty. Roli hraje i koncentrace rozpuštěné látky v médiu (c_L). Jakmile se bude koncentrace látky v roztoku (c_L) blížit koncentraci nasyceného roztoku (c_s), bude se rychlost rozpouštění snižovat. Rozdíl koncentrací lze ovlivnit mícháním nebo přívodem čistého rozpouštědla, jako např. v průtokové disoluční cele.¹⁷

6.3 Ovlivnění rozpustnosti a rychlosti rozpouštění

Faktorem ovlivňujícím rozpustnost je jednak povaha samotné rozpouštěné látky (velikost, tvar, povrch), její fyzikálně-chemické vlastnosti a fyzikální forma (polymorfismus, sůl), dále povaha rozpouštědla (polarita, pH, objem), vzájemné interakce mezi rozpouštědlem a rozpouštěnou látkou a v neposlední řadě podmínky, za kterých danou látku rozpouštíme (teplota, tlak).^{6,15} Při úpravě uvedených podmínek je možné zvýšit rozpustnost látky a dosáhnout tzv. supersaturace neboli přesyceného roztoku.⁵ K ovlivnění rozpustnosti a rychlosti rozpouštění špatně rozpustných léčiv se využívají chemické, fyzikální a technologické postupy.

6.3.1 Chemické modifikace

Rozpustnost jako vnitřní vlastnost látky lze upravit chemickou modifikací molekuly (např. zavedením hydrofilního substituentu do molekuly).^{6,16} Mezi chemické modifikace používané pro úpravu rozpustnosti léčivých látek patří příprava **solí**.⁸ Pro vytvoření rozpustnější soli je nutná přítomnost ionizovatelných skupin v molekule léčiva. Proto se do struktury léčiva přidávají kyselé či bazické funkční skupiny, které lze ionizovat.^{8,17} Vzniklá sůl jakožto iontová sloučenina se bude v polárních rozpouštědlech rozpouštět lépe než neiontová látka. Další chemické modifikace zahrnují přípravu hydrátů, glykosylovaných derivátů nebo tvorbu kokystalů. **Kokrystal** je molekulární komplex, kde léčivá látka mění svou rozpustnost a rychlost rozpouštění, ale zachovává si svou chemickou identitu. Velmi často využívanou možností, jak zlepšit rozpustnost léčiva, je vytvoření terapeuticky

neúčinného **proléčiva** s lepšími vlastnostmi než samotná účinná látka, které se v organismu opět přemění na aktivní léčivo.⁸ Případně lze využít i tvorbu **chelátů** s vhodnějšími vlastnostmi, než má původní látka.^{12,18}

Rozpustnost závisí nejen na vlastnostech rozpouštěné látky, ale také na vlastnostech použitého rozpouštědla jako je polarita a pH.¹⁵ Látky s podobným charakterem vzájemně interagují, což vede k solvataci, mísitelnosti či bobtnání.¹⁹ Obecně tedy můžeme říct, že v polárním rozpouštědle bude rozpustná řada polárních látek, a naopak nepolární látky se budou spíše rozpouštět v nepolárním rozpouštědle. Toto pravidlo je však zjednodušené a neplatí vždy.¹⁵

pH rozpouštědla ovlivňuje míru ionizace rozpouštěné látky (slabé kyseliny/zásady a jejich solí), a tím i její rozpustnost na základě disociační konstanty.¹⁵ pK_a vyjadřuje sílu kyseliny nebo zásady. Látka se lépe rozpouští, pokud je v ionizované formě.¹⁵ Vztah mezi pH, pK_a a množstvím ionizované a neionizované formy vyjadřuje **Hendersonova-Hasselbachova** rovnice. Rovnice (3) ukazuje vliv pH na ionizaci slabých kyselin a jejich solí, kde $[A^-]$ je koncentrace ionizované formy kyseliny/její konjugované zásady a $[HA]$ je koncentrace neionizované kyseliny.⁶

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (3)$$

Při nižších hodnotách pH bude v roztoku převládat neionizovaná (nedisociovaná) forma kyseliny HA, kdežto s rostoucím pH bude převládat rozpustnější ionizovaná forma A^- .¹⁷

Vliv pH na ionizaci slabých zásad a jejich solí zachycuje rovnice (4), kde $[B]$ je koncentrace její neionizované formy/její konjugované kyseliny a $[BH^+]$ je koncentrace ionizované zásady.⁶

$$pH = pK_a + \log \frac{[B]}{[BH^+]} \quad (4)$$

V kyselém prostředí (při nižších hodnotách pH) jsou slabé zásady převážně ionizované a v roztoku převládají kationty BH^+ představující rozpustnější formu zásady. S rostoucím pH začne v roztoku převládat méně rozpustná neionizovaná (nedisociovaná) forma zásady B.¹⁷

Z výše uvedených vztahů vyplývá, že látky s povahou slabých kyselin budou rozpustnější v alkalickém prostředí ($\text{pH} > \text{pK}_a$ slabé kyseliny), a naopak látky povahy slabých zásad budou rozpustnější v kyselém pH ($\text{pH} < \text{pK}_a$ slabé zásady).¹⁵

6.3.2 Fyzikální modifikace

Jak bylo naznačeno výše, rozpustnost ovlivňuje i fyzikální forma léčiva. Pokud je látka schopná krystalovat ve více krystalových strukturách (tzn. vykazuje **polymorfii**), tak se její polymorfy mohou lišit vlastnostmi jako je např. právě rozpustnost.⁸ Obecně platí, že termodynamicky méně stabilní formy (metastabilní krystalické modifikace, amorfni látky) přecházejí díky své větší molekulární mobilitě snáze do roztoku, a vykazují tedy vyšší rozpustnost než stabilnější krystalické modifikace.^{17,20} Problémem procesu amorfizace léčiva je nestabilita amorfni formy a její tendence přeměňovat se zpět na formu krystalickou vyplývající právě z neuspořádanosti vnitřní struktury.^{8,21} Stabilizaci amorfni formy lze dosáhnout zabudováním léčiva s vhodnou velikostí molekuly do porézního nosiče (nejčastěji polymeru) s vhodně zvolenou velikostí pórů.^{20,22} Ke stabilizaci a zabránění opětovné krystalizaci dochází díky specifickým interakcím léčivo-nosič (vodíkové můstky, van der Waalsovy síly, interakce dipól-dipól) a díky fyzikálnímu omezení, kdy je léčivo zadrženo v malých pórech nosiče.^{20,21,23}

Velikost, tvar a zejména **povrch** rozpouštěné látky ovlivňují interakce s rozpouštědlem. Velké molekuly mají malý povrch dostupný pro kontakt s rozpouštědlem. Zmenšením částice dojde ke zvětšení povrchu, který poskytuje větší plochu pro kontakt s rozpouštědlem a realizaci rozpouštění. Rozpustnost se tedy zvyšuje s klesající velikostí částic. Od určité velikosti už zmenšování částice není efektivní a nevede k lepší rozpustnosti, ale naopak kvůli přítomnosti elektrického náboje částice rozpustnost opět klesá.^{6,15} Velikost a tvar částic lze ovlivnit fyzikálními úpravami např. řízenou krystalizací nebo také technologickými postupy jako je lyofilizace, sprejové sušení, mikronizace a další (viz kapitola 6.3.3. Technologické postupy).⁸

Při rozpouštění je zapotřebí nejprve rozbít vazby mezi molekulami rozpouštěné látky. Tento děj je endotermní a je potřeba dodat do systému energii. V dalším kroku dochází k tvorbě vazeb mezi molekulami rozpouštěné látky a molekulami rozpouštědla (solvatace, obalení molekulami rozpouštědla), při kterém se energie uvolňuje (exotermní děj). Ovlivnění rozpustnosti změnou **teploty** závisí na tom, zda je rozpouštění dané látky děj endotermický či exotermický. V případě, že uvolněná tepelná energie je nižší než energie absorbovaná systémem, je daný proces endotermický ($\Delta H > 0$) a pro průběh je potřeba teplo do systému dodat. U takových procesů zvýšení teploty povede ke zvýšení rozpustnosti. Naopak u exotermických procesů ($\Delta H < 0$) je uvolněná tepelná energie vyšší než energie absorbovaná systémem. Znamená to, že teplo se zde uvolňuje a zvýšení teploty by v tomto případě vedlo ke snížení rozpustnosti.^{5,6} Přesycený roztok vzniklý změnou teploty je však nestabilní a má tendenci k vysrážení přebytku rozpouštěné látky z roztoku s cílem nastolit termodynamicky stabilnější systém (nasycený roztok).⁵

Ovlivnění rozpustnosti změnou **tlaku** se týká pouze plynných látek (rozpustnost kapalin a pevných látek tlak neovlivňuje).¹⁵ Zvýšení rozpustnosti plynné látky je za dané teploty přímo úměrné zvýšení parciálního tlaku plynu nad roztokem, jak vyjadřuje **Henryho zákon** (rovnice (5)), kde x_i je molární zlomek složky i v roztoku, $K_{H,i}$ je Henryho konstanta pro daný plyn a rozpouštědlo a p_i je parciální tlak plynu nad roztokem.⁶

$$x_i = K_{H,i} \cdot p_i \quad (5)$$

Z fyzikálních modifikací se v praxi využívá zejména zmenšení velikosti částic a tvorba amorfni fáze.²⁴

6.3.3 Technologické postupy

Jednou z technologických možností, jak zlepšit rozpouštění špatně rozpustné látky, je zprostředkované rozpouštění. Principem této metody je usnadnit přechod pevné látky

do roztoku přidáním vhodné pomocné látky tzv. solubilizátoru. Jako solubilizátory jsou využívány zejména tenzidy, kosolventy a hydrotropní látky.¹⁸

Tenzidy jsou povrchově aktivní látky o vhodné hydrofilně-lipofilní rovnováze (HLB), které díky snížení mezipovrchového napětí mezi pevnou a kapalnou fází vedou k lepšímu smáčení částic dané látky, čímž usnadní její rozpouštění.¹² Navíc na povrchu částic vytvářejí film, který znesnadňuje agregaci částic, což také přispívá ke snazšímu rozpouštění. Tenzidy mohou vytvořit i micelární komplex, do kterého se látka začlení a dojde k tzv. **micelární solubilizaci**.¹⁸ Micela vznikne rozpuštěním tenzidů v koncentracích nad kritickou micelární koncentrací. Látka se v micelle orientuje podle své polaridy. V micelle, která slouží k solubilizaci hydrofobních látek ve vodném prostředí, jsou hydrofilní látky adsorbovány na povrch micely (hydrofilní hlava tenzidu) a hydrofobní látky se inkorporují do jádra micely tvořeného lipofilními řetězci tenzidu.¹² V reverzních micelách jsou látky orientovány opačně a slouží k solubilizaci hydrofilních látek v lipofilním prostředí.¹⁷ Amfifilní látky se v micelle orientují podle své polaridy shodně s tenzidy. Množství látky, které je schopna micela solubilizovat, je označeno jako maximální aditivní koncentrace.¹²

Zprostředkované rozpouštění lze provést i za použití **kosolventu**. Kosolvent je kapalina s nižším povrchovým napětím než voda. Ve své struktuře obsahuje funkční skupiny schopné tvořit vodíkové můstky (hydrofilní část), které zajišťují mísitelnost s vodou, a zároveň malé uhlovodíkové zbytky (hydrofobní oblast), které narušují vazby vody. V podstatě zajistí snížení polaridy vodného prostředí, čímž se usnadní rozpouštění méně polárního léčiva.²⁵ Jako kosolventy se využívají např. glycerol, ethanol, propylenglykol nebo kapalně makrogoly. Kosolventy způsobují pouze mírné zvýšení rozpustnosti léčiva, proto se často kombinují s povrchově aktivními látkami (tenzidy).^{12,18}

Další možností je vytvoření komplexů s vhodnou látkou, ze kterých se léčivo v těle opět uvolní.¹⁸ Nejčastěji využívanou metodou ve farmaceutickém průmyslu je tvorba komplexu léčiva s **cyklodextriny** (tzv. inkluzní komplexy).¹² Cyklodextriny jsou cyklické oligosacharidy, které tvoří lipofilní dutinu, do které se může inkorporovat hydrofobní léčivo pomocí nekovalentních interakcí (vodíkové, van der Waalsovy

vazby). Vnější povrch cyklodextrinu je hydrofilní.¹² Komplexy s cyklodextriny se nevyužívají jen pro zvýšení rozpustnosti a biologické dostupnosti léčiv, ale i pro zvýšení jejich stability, případně pro maskování chuti.¹⁰

U léčiv s charakterem slabých kyselin/zásad nebo jejich solí, kde je jejich rozpustnost závislá na hodnotě pH, lze pomocí pufovacích pomocných látek (pH modifikátorů) ve formulaci vytvořit mikrooblasti, ve kterých se zajistí optimální podmínky pro rozpuštění léčivé látky bez ohledu na okolní pH.¹⁸

S výhodou se využívá i přípravy **pevných disperzí**, kdy se špatně rozpustné léčivo disperguje v prostředí dobře rozpustné pomocné látky. Nejčastěji se používá dobře rozpustný polymer jako je např. hypromelosa (HPMC), kopolymery derivátů kyseliny akrylové, případně lze využít sacharidy či poloxamery. Vzniklá disperze je pak díky vlastnostem hydrofilního nosiče lépe rozpustná než samotné léčivo. Vzniklá disperze může být buď heterogenní (dispergovaná látka zůstává oddělena v tuhém stavu) nebo homogenní (dojde k tvorbě molekulární/iontové disperze). U heterogenní disperze dojde při kontaktu s vodou k rozpuštění struktury, čímž se usnadní přechod léčivé látky do roztoku. Pro zabránění rekrystalizace látky z roztoku je nutné zvolit pro tvorbu pevné disperze vhodný poměr účinné a pomocné látky.¹⁸

U vysoce lipofilních léčiv můžeme využít jejich schopnost snadno se rozpouštět v lipofilních rozpouštědlech a vytvořit lipofilní formulace jako jsou např. samoemulgující systémy, které zlepšují jejich rozpustnost v intestinálních tekutinách.¹

Samoemulgující systémy nebo též SEDDS (*self-emulsifying drug delivery systems*) jsou izotropní směsi solubilizovaného léčiva, olejů, tenzidů (povrchově aktivní látky), případně hydrofilních kosolventů a dalších emulgujících látek. Po promísění SEDDS s vodnou fází dojde k vytvoření jemné emulze typu olej ve vodě (o/v).²⁶ V závislosti na velikosti kapek vnitřní fáze (oleje) ve vzniklé emulzi můžeme rozlišit systémy samoemulgující SEDDS (250 nm – 5 μm), samomikroemulgující SMEDDS (100 – 250 nm) a samonanoemulgující SNEDDS (< 100 nm).¹ Kapky mají větší povrch, což přispívá k lepší absorpci léčiva. Problémem u SEDDS může být nižší stabilita systému, vyšší výrobní náklady či případné riziko inkompatibilit

mezi složkami ve finální lékové formě. Některé ze jmenovaných nevýhod mohou být odstraněny tvorbou pevných samoemulgujících systémů.²⁶

Liquid-solid systémy (LSS) jsou systémy kapalina v pevné fázi. Léčivo v podobě roztoku, suspenze, emulze či SEDDS (tzn. léčivo v kapalné fázi) se naváže na sorbent s vysokou porozitou, který je následně obalen materiálem s velmi vysokým měrným povrchem za vzniku suché nepřilnavé práškové směsi. Vzniklou směs je možné dále zpracovat lisováním do tablet, plněním do tobolek atp. Na zlepšení disolučního profilu LSS se podílí jednak zvýšení smáčivosti díky hydrofilnímu rozpouštědлу, snazší uvolňování léčiva umožněné rozprostřením na celém povrchu nosiče a zejména přítomnost léčiva v kapalné podobě, které se tedy již v gastrointestinálním traktu nemusí rozpouštět a může se okamžitě absorbovat do systému. Výhodou LSS je zajištění dobré stability, nízké výrobní náklady a jednoduchost zpracování.^{12,26}

Další možností je vytvoření **interaktivní nebo též uspořádané práškové směsi**, ve které je malé množství jemných (mikronizovaných) částic léčiva rovnoměrně adsorbováno na povrchu řádově větších částic hydrofilního excipientu (nosiče).^{18,27} Takové uspořádání částic ve směsi zajistí zvětšení styčného povrchu s kapalinou, a tím pádem vede ke zrychlení rozpouštění. Interaktivní směsi lze připravit suchým mísením, triboelektrifikací, mletím, adhezí, potahováním či za využití fluidizace.²⁸ Často využívanou metodou pro úpravu rozpustnosti špatně rozpustných léčiv je již dříve zmíněná **redukce velikosti a zvětšení povrchu** částic. Částice můžeme zmenšit za využití metody top-down (shora dolů) nebo bottom-up (zdola nahoru) případně jejich kombinací. Top-down zahrnuje redukcii velikosti částic za využití vysokoenergetických přístupů jako jsou vysokotlaká homogenizace a mlecí techniky.²⁹ Metoda bottom-up zahrnuje emulgaci nebo techniky, při kterých se částice vysrážejí nebo krystalizují z přesyceného roztoku léčiva. Výhodou metody bottom-up je ve srovnání s metodou top-down nízká spotřeba energie a produkce částic s úzkou distribucí velikosti.^{27,29}

K redukcii velikosti částic se využívá i metoda **sprejového sušení**. Roztok/suspenze léčiva v kapalině se nastříkuje do expanzní nádoby za zvýšené teploty a suší se

proudem vzduchu či inertního plynu. Výhodou metody je ovlivnění hned několika fyzikálních parametrů. Dojde nejen k mikronizaci, ale zároveň docílíme i sférického tvaru částic. Využitím této metody tak můžeme získat částice požadované velikosti, tvaru a hustoty.¹²

6.4 Uspořádané mísení

Uspořádaného mísení nebo též interaktivního mísení se využívá pro zvýšení rychlosti rozpouštění špatně rozpustných léčiv. Mísení obecně zvyšuje soudržnost mezi částicemi, z čehož plyne riziko vzniku aglomerátů během mísení, které snižují homogenitu směsi.³⁰ Při uspořádaném mísení se riziko vzniku aglomerátů snižuje, což přispívá k dosažení homogennější směsi, než je směs vzniklá náhodným (neinteraktivním) mísením. V uspořádané směsi na rozdíl od náhodné směsi převládají elektrické síly nad gravitačními, a proto je v uspořádané směsi i nižší pravděpodobnost segregace.²⁸ Mísení léčiva s nosičem je vždy kombinací náhodného a uspořádaného mísení a můžeme ho rozdělit do čtyř fází. V první fázi dojde k promíchání aglomerátů jemných částic léčiva s částicemi nosiče (náhodné mísení). V druhé fázi rozbijí smykové síly vlivem mechanických kolizí při míchání aglomeráty léčiva. Ve třetí fázi se následně jemné částice léčiva vlivem adhezních sil (např. van der Waalsovy síly) rovnoměrně rozprostřou na povrch hrubších nosných částic.^{31,32} V poslední čtvrté fázi pak dochází k výměně a redistribuci jemných částic mezi částicemi nosiče. Pro vytvoření stabilní uspořádané směsi je nutné, aby během mísení adhezní síly mezi částicemi léčiva a nosiče překonaly vnitřní soudržnost (kohezní síly) jemných částic léčiva. Ke zvýšení adheze můžeme pro mísení využít nosič s drsným povrchem nebo do směsi přidat další pomocnou látku.²⁸

6.4.1 Faktory ovlivňující homogenitu mísené směsi

Kvalita promísení je závislá na konzistenci směsi, koncentraci složek ve směsi (poměr mezi léčivem a nosičem), velikosti, tvaru, povrchu, krystalinitě a hustotě mísených částic, na zvolených podmínkách mísení (rychlost, doba mísení)

a vlhkosti.^{17,33} Pro vznik homogenní směsi je důležité zvolit správné podmínky mísení. **Rychlost a doba mísení** ovlivňuje míru deaglomerace částic.³⁴ Deaglomerace jemných částic je nejpomalejší proces, a tedy i krok, který omezuje rychlost mísení směsi. Doba mísení je tak ovlivněna velikostí aglomerátů. Při mísení větších aglomerátů je potřeba delší doba pro deaglomeraci částic, a tedy i delší doba mísení.³² Stejně tak při vyšších rychlostech mísení bylo dosaženo lepší deaglomerace.³⁴

Stabilitu mísené směsi ovlivňuje i **koncentrace složek ve směsi** neboli poměr mezi množstvím léčiva a nosiče ve směsi. Ve směsi by mělo být takové množství léčiva, které vytvoří pouze jednovrstevné pokrytí povrchu nosiče. Příliš vysoká koncentrace jemných částic léčiva může způsobit přesycení nosiče, jelikož na částicích nosiče není k dispozici dostatečný počet míst k adsorpci veškerého množství léčiva. Přebytek léčiva (volné částice nenávané na nosič) má tendenci vytvářet aglomeráty a zvyšuje riziko segregace směsi. Vysoký podíl léčiva může vést i k vícevrstevné adsorpci a na nosiči se tak vytvoří hydrofobní vrstva léčiva. Oba zmíněné jevy snižují homogenitu směsi a mají negativní vliv na rychlost rozpouštění.³⁵

Široká distribuce velikosti mísených částic či rozdílná hustota a tvar přispívá k segregaci směsi či tvorbě aglomerátů. Při výrazných rozdílech ve **velikosti částic** mohou větší částice mezi sebou vytvářet dutiny, kterými propadnou malé částice a dojde tak k segregaci. Pro snížení rizika segregace a vytvoření homogenní směsi by tak neměla být velikostní distribuce příliš široká.³⁰ Velikost částic ovlivňuje i tvorbu uspořádané směsi. Adsorpce na povrch nosiče jsou schopny částice menší než 50 μm . Naopak nosič by měl mít větší velikost částic (50 – 100 μm)²⁸

Rozdílná **hustota částic** vede k segregaci práškové směsi. Částice s vyšší hustotou klesají ve směsi vlivem gravitační síly dolů, zatímco lehčí částice zůstávají nahoře.³⁰

Na mísení má vliv i **tvar částic**. Pravidelné částice sférického nebo téměř sférického tvaru mají velmi dobré tokové vlastnosti. Díky tomu se mísí snáze než částice nepravidelného tvaru a riziko segregace je u takových směsí malé. Nepravidelné částice tvoří kvůli vysokému povrchovému tření stabilní směsi velmi těžce,

ale ve chvíli, kdy ji vytvoří, je riziko segregace vzniklé směsi nižší, protože částice se vzájemně prolínají a tvoří tak stabilní uspořádanou směs.^{28,30}

Míru adheze částic léčiva na nosič ovlivňuje **povrch částice** nosiče. Jemné částice dobře ulpívají na částicích s hrubším povrchem. Je to zapříčiněno tím, že nerovný povrch má silnější adhezní místa pro částice léčiva, tudíž je jejich odstranění otěrem z povrchu nosiče v průběhu mísení obtížnější.²⁸

Dalším faktorem, který může ovlivnit adhezi, je **krystalinita**. Amorfizace léčiva zvyšuje afinitu k nosiči.²⁸

6.5 Mletí

Mletí je konvenční metoda zmenšování velikosti částic. Tato technologická modifikace se běžně využívá pro úpravu rozpustnosti, rychlosti rozpouštění, a tím ke zvýšení biodostupnosti špatně rozpustných léčiv, a to zejména léčiv BCS třídy II.¹⁰ Mletí obvykle nezpůsobuje změny v chemické povaze léčiva, ale přispívá ke zlepšení rozpouštění zvětšením povrchu částic léčiva a jejich lepším smáčením disolučním médiem, případně tvorbou amorfní fáze. Hlavním principem ovlivnění rozpouštění za využití mlecích technik je zmenšení velikosti částic za současného zvětšení specifického povrchu částic (SSA).²⁴ Větší povrch poskytuje větší plochu pro kontakt s rozpouštědlem. Navíc dojde ke zmenšení difuzní vrstvy okolo rozpouštějících se částic a ovlivnění kinetiky procesu rozpouštění dle rovnice (2).^{10,24} Léčivo můžeme mlít v suchém stavu (tzv. suché mletí), suspendované v kapalném médiu (tzv. mokré mletí) nebo zmrazené či mleté za přítomnosti kapalného dusíku (tzv. kryogenní mletí).²⁴ Při mletí dochází k rozměňování částic v mlecím zařízení za vzniku mikročástic v rozmezí velikostí 1 – 10 μm (suché mletí) až nanočástic s velikostí menší než 1 μm (mokré mletí) za využití otěru, tlaku, tření, stříhu či nárazu.^{17,24}

Obecnými **nevýhodami** mletí je riziko vzniku elektrostatického náboje podporujícího vznik aglomerátů či agregátů v mleté směsi (zejména u metody suchého mletí), špatně ovlivnitelný mnohdy heterogenní tvar a velikost nově

vzniklých částic a s tím související i možná nerovnoměrná široká velikostní distribuce.²⁴ Další nevýhodou jsou i vysoké energetické nároky a kvůli rostoucí teplotě uvnitř mlecí nádoby během mletí vlivem kinetické energie mlecích kuliček i hrozba tepelné degradace nepřilíš termostabilních léčiv. Teplota v mlecí nádobě roste zejména při vysokých rychlostech otáčení a dlouhém mletí.¹⁰

Mechanické mletí způsobuje značné fyzické namáhání mletého léčiva a po dosažení kritické minimální hodnoty velikosti částic dochází v krystalické mřížce ke vzniku defektů. Jejich kumulace může vést k vytvoření amorfních vrstev kolem krystalického jádra, případně až k úplné amorfizaci léčiva. Tento jev může být žádoucí i nežádoucí. Mechanochemicky přeměněné léčivo (tzv. mletím aktivované) je termodynamicky nestabilní, což přispívá k tvorbě energeticky výhodnějších aglomerátů. Amorfizace léčiva se obecně zvyšuje s rostoucím časem mletí.²⁴

Vzniklé jemné částice mají díky své vysoké povrchové energii tendenci tvořit aglomeráty/agregáty, což vede ke snížení efektu mletí (zvětšení částic) a negativnímu vlivu na rychlost rozpouštění (znesnadnění přístupu média k jednotlivým částicím).¹⁷

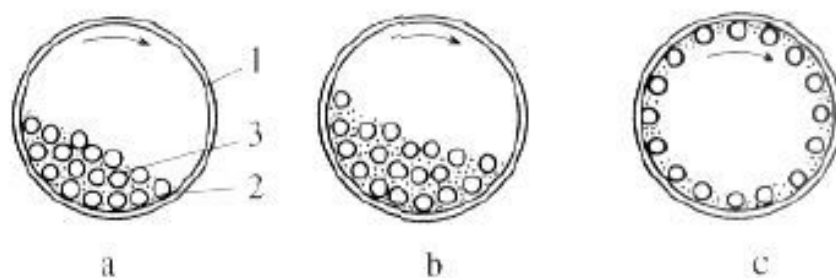
Pro zmírnění pravděpodobnosti agregace či aglomerace částic po mletí se k léčivu přidávají stabilizátory (nebo tzv. aktivátory mletí). Nejčastěji se jedná o lineární polymery či povrchově aktivní látky, které přispívají k deaglomeraci směsi tím, že se adsorbují na povrch léčiva a vytvoří kolem částice buď fyzickou bariéru (sterická stabilizace) nebo iontovou bariéru (elektrostatická stabilizace), která snižuje zdánlivý náboj léčiva. Kromě stabilizátorů můžeme k léčivu přidat nosič (obvykle hydrofilní) ve vhodném poměru, který hydrofilizuje hydrofobní povrch léčiva, čímž zlepšuje smáčivost a usnadňuje rozpouštění.

Pro dosažení optimálních výsledků je nutný výběr vhodného typu mlecího zařízení a vhodně zvolené mlecí podmínky.²⁴

Kulový mlýn

Kulový mlýn je mlecí zařízení sestávající se z obvykle válcové mlecí nádoby naplněné mlecími kuličkami z různého materiálu (keramika, nerezová ocel, křemen...), která rotuje kolem vodorovné osy při určité rychlosti a unáší mlecí

kuličky.^{10,24} Využívá se k mletí prášků a lze použít i pro společné mletí s hydrofilními excipienty za účelem potahování povrchu léčiva. Zmenšení částic probíhá díky nárazům mlecích koulí na melivo a oěru meliva mezi koulemi vzájemně a mezi koulemi a vnitřním povrchem mlecí nádoby.¹⁷ Míra zmenšení částic závisí na zvolené rychlosti otáčení, době mletí, zaplnění nádoby a velikosti mlecích koulí. Při vysokých otáčkách (obrázek (2 – c)) nad kritickou rychlostí mletí se mlecí kuličky vlivem odstředivé síly přichytí ke stěnám mlecí nádoby, čímž se sníží počet nárazů mlecích koulí na melivo, a tím pádem se sníží i výsledný efekt mletí.²⁴ Naopak příliš nízké otáčky (obrázek (2 – a)) neumožní pád (náraz) koulí na melivo a projeví se pouze valivé tření, které sníží výsledný efekt mletí.³⁶ Nejúčinnější rychlost otáčení je přibližně při dvou třetinách kritické rychlosti otáčení (obrázek (2– b)).



a - pomalá rotace bubnu, b - optimální počet otáček, c - příliš velký počet otáček;
1 - buben, 2 - koule, 3 - melivo

Obr. 2: Kulový mlýn ^{upraveno podle 17}

S rostoucí dobou mletí dochází k většímu zmenšení částic, zároveň se zvyšuje i amorfizace léčiva.²⁴ Mlecí nádoba musí být zaplněna tak, aby se melivo i mlecí koule mohly volně pohybovat. Ideální zaplnění mlecí nádoby je z 25 – 50 %.³⁶ Nadměrné množství mlecích kuliček opět neumožňuje efektivní mletí za využití nárazu a oděru, naopak malé množství kuliček může způsobit abrazivní poškození mlecí nádoby.²⁴

7 Experimentální část

7.1 Použité suroviny

- Meloxicam – Cadila Healthcare Ltd., India
- Karagenan (směs lambda + kappa) – SIGMA Life Science, USA
- Alginát vápenatý – SIGMA – Aldrich, Čína
- Kyselina alginová – SIGMA – Aldrich, Japonsko
- MCC Avicel 200 – FMC Biopolymer, Velká Británie
- HPMC Benecel K15M Pharm CR – Ashland, USA
- Hydroxid sodný – Penta s.r.o., Česká republika
- Dihydrogenfosforečnan draselný – Dr. Kulich Pharma, s.r.o., Hradec Králové, Česká republika
- Čištěná voda – Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Česká republika

7.2 Použité přístroje

- Analytické váhy (BOECO, BBI 32, Německo), d = 0,1 mg, max 110 g
- Analytické váhy (GmbH & Co. KG, Goettingen, Německo), d = 0,1 mg, max 220 g
- Magnetická míchačka (Heidolph, Německo)
- Digitální pH-metr HANNA HI 221 (Hanna Instruments, USA)
- Ultrazvuková lázeň Sonorex Super RK 106 (Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Německo)
- Vodní lázeň TW20 (Julabo GmbH, Německo)
- Disoluční přístroj s průtokovou celou SOTAX CE-1 (SOTAX, Švýcarsko)
- Pístová pumpa CY 1-50 (SOTAX, Švýcarsko)
- Vodní lázeň s cirkulací TW - 2,03 (Elmi Ltd, Lotyšsko)
- Spektrofotometr SPECORD 205 (Analytik Jena AG, Německo)
- Planetární kulový mlýn (Retsch GmbH, PM 100, Německo)
- 3D mísič Turbula (Willy A. Bachofen AG Maschinenfabrik, Švýcarsko)
- Mastersizer 3000 (Malvern AERO S, Velká Británie)

7.3 Použité metody

Experimentální část byla provedena za následujících laboratorních podmínek: teplota 22 ± 1 °C a relativní vlhkost vzduchu 26 ± 5 %.

7.3.1 Hodnocení velikosti částic

Distribuci velikosti částic jsem u fyzikálních i komletých směsí MLX s jednotlivými pomocnými látkami (ACa, MCC, CRKL, AA, HPMC) hodnotila pomocí laserového difraktometru Mastersizer 3000 suchou metodou. Nejprve jsem v počítačovém programu zvolila podmínky měření. Dávkování vzorku jsem nastavila na 50 %, pro refrakční index jsem zvolila hodnotu 1,72 a pro tlak vzduchu hodnotu 2 bar. Typ částic jsem nastavila jako nesférický. Do přístroje jsem následně vložila malé množství vzorku a spustila měření. Pro každý vzorek jsem provedla dvě měření. Z naměřených dat jsem si pak pro každou směs zaznamenala objemovou četnost částic (%), velikosti částic x_{10} , x_{50} , x_{90} (μm) odpovídající 10 %, 50 % a 90 % kumulativní četnosti, span (šířka distribuce velikosti částic) a specifický povrch (SSA, m^2/kg).

7.3.2 Příprava směsí

Pro přípravu směsi jsem použila léčivo MLX a vždy jednu z uvedených pomocných látek: ACa, MCC, CRKL, AA, HPMC. Všechny směsi obsahovaly jeden díl MLX a osm dílů dané pomocné látky.

Celkově jsem připravila deset směsí, které jsou kódovány podle metody přípravy a použité pomocné látky. Směsi připravené mísením (fyzikální směsi) jsou označeny kódem PM a směsi připravené mletím (komleté směsi) jsou označeny kódem CM (tabulka (3)).

Tab. 3: Použité směsi

Směsi připravené mísením	Směsi připravené mletím
MLX-ACa 1-8 PM	MLX-ACa 1-8 CM
MLX-MCC 1-8 PM	MLX-MCC 1-8 CM
MLX-CRKL 1-8 PM	MLX-CRKL 1-8 CM
MLX-AA 1-8 PM	MLX-AA 1-8 CM
MLX-HPMC 1-8 PM	MLX-HPMC 1-8 CM

Vysvětlivka: např. MLX-AA 1-8 PM znamená směs obsahující jeden díl meloxikamu a osm dílů kyseliny alginové připravená mísením – analogicky i ostatní kódy směsí

Mísení

Jednotlivé složky směsí jsem nejprve přesítovala přes síto s velikostí ok 500 μm . Poté jsem si suroviny navážila na analytické váze do plastové lodičky. Jednotlivé směsi byly připravovány v poměru 1:8 o celkové hmotnosti směsi 15 g, množství MLX v každé směsi bylo 1,67 g. Navážené suroviny jsem přesypala do skleněné nádoby s plastovým víčkem o objemu 130 ml tak, aby léčivo bylo vždy umístěno mezi dvěma vrstvami pomocné látky. Takto připravenou směs jsem vložila do mísícího koše mísiče Turbula a pomocí gumových pásek jsem nádobu přichytila. Všechny směsi jsem mísila po dobu 5 minut při rychlosti 34 rpm.

Mletí

Nejprve jsem od každé fyzikální směsi odebrala část směsi, kterou jsem přesítovala přes síto s velikostí ok 500 μm , a na analytických vahách od každé směsi navážila 2 g.

Do nerezové mlecí nádoby Retsch o objemu 25 ml jsem vložila 100 nerezových mlecích kuliček o průměru 5 mm. Na mlecí kuličky jsem nasypala navážené množství směsi, nádobu uzavřela víčkem a vložila do planetárního kulového mlýna Retsch, kde jsem ji důkladně upevnila. Poté jsem pro jednotlivé směsi nastavila příslušnou rychlost otáček a čas podle uvedené tabulky (4).³⁷

Tab. 4: Experimentální podmínky mletí směsí

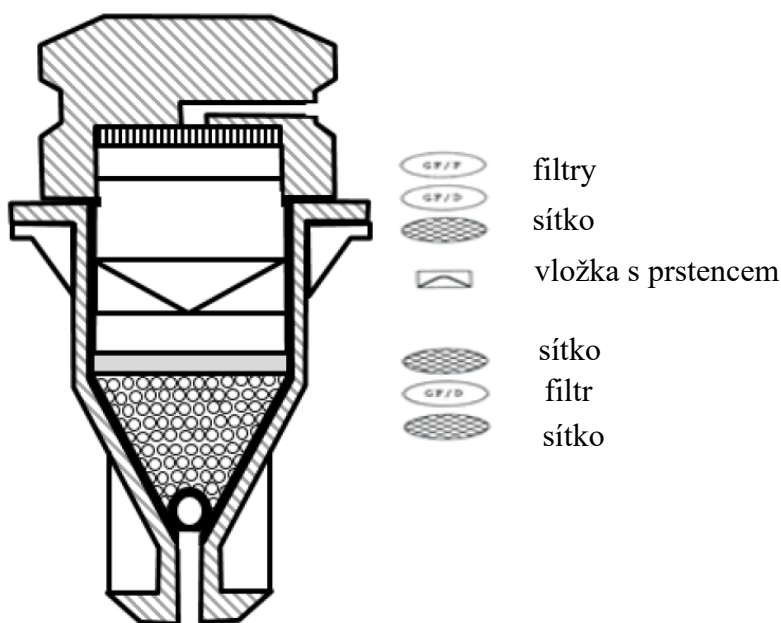
vzorek	rychlost otáček (rpm)	doba mletí (min)
MLX-ACa 1-8 CM	250	26
MLX-MCC 1-8 CM	310	36
MLX-CRKL 1-8 CM	145	29
MLX-AA 1-8 CM	218	27
MLX-HPMC 1-8 CM	186	27

Po umletí jsem směs vysypala z mlecí nádoby na síto s velikostí ok 500 μm a přesítovala.

7.3.3 Disoluční testy

Z každé připravené směsi jsem odebrala část, kterou jsem prosela přes síto s velikostí ok 500 μm a následně na analytických vahách navážila vždy tři vzorky, každý o hmotnosti 45 mg (tzn. každý vzorek obsahoval 5 mg MLX).

Do špičky průtokové cely pro prášky jsem vložila větší rubínovou kuličku s průměrem 5 mm a doplnila malými skleněnými kuličkami s průměrem přibližně 1 mm. Následně jsem do spodní části cely umístila dvě sítko a mezi ně jeden filtr. Pak jsem do cely navážila vzorek, na který jsem položila vložku s prstencem. Do horní části cely jsem umístila sítko a filtr/y (obrázek (3)).



Obr. 3: Schéma průtokové cely pro prášky³⁸

Během celého experimentu jsem používala filtry ze skleněných vláken značky Whatman – konkrétně filtry typu GF/F s velikostí pórů 0,7 μm a filtry typu GF/D s velikostí pórů 2,7 μm . Konkrétní volba typu filtrů v průtokové cele se vždy odvíjela dle chování jednotlivých směsí během disolučních testů. Na správně sestavenou průtokovou celu jsem následně nasadila filtrační komoru, celý přístroj uchytila do disolučního stojanu a spojovací hadičkou připojila k pístové pumpě. Pumpa čerpala disoluční médium do průtokové cely rychlostí 22 ml/min. Jako disoluční médium jsem použila fosforečnanový pufr o pH 6,8 vytemperovaný ve vodní lázni na teplotu $37,0 \pm 0,5$ °C. Pufr byl připraven postupným přidáváním roztoku hydroxidu sodného do roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného až do požadovaného pH 6,8.³⁹ Disoluční přístroj byl po dobu průběhu disoluce umístěn ve vodní lázni vytemperované na $37 \pm 0,5$ °C tak, aby byla celá cela ponořena ve vodě.

Disoluční test probíhal 15 minut. Jednotlivé vzorky jsem odebírala ručně v prvních třech minutách nejprve v intervalu po 20 vteřinách, a poté v intervalu po 60 vteřinách až do patnácté minuty.

Odebrané vzorky jsem vyhodnotila pomocí spektrofotometru Specord 205 při vlnové délce 363 nm proti slepému vzorku (fosfátový pufr) vždy ve třech opakováních. Pokud byla naměřená absorbance vzorku větší než 1,2, bylo potřeba vzorek naředit přidáním fosforečnanového pufru. Ředění pak bylo zohledněno ve výpočtu.

7.3.4 Zpracování výsledků

Z naměřené absorbance (A_{363}) jsem z kalibrační rovnice⁴⁰ (6) ($R^2 = 0,9989$) u každého ze vzorků nejprve vypočítala koncentraci c (g/l), kde y vyjadřuje absorbanci vzorku.

$$y = 49,113x + 0,076 \quad (6)$$

Dále jsem u každého vzorku vypočítala následující parametry:

- množství léčiva uvolněného v jednotlivých intervalech m_{int} (mg)

$$m_{int} = c \cdot Q \cdot t \quad (7)$$

c ... koncentrace (mg/l)

Q ... průtoková rychlost disolučního média (l/s)

t ... délka intervalu odebírání vzorku (s)

- celkové množství uvolněného léčiva m_{tot} (mg)

$$m_{tot} = \sum m_{int} \quad (8)$$

- relativní množství uvolněného léčiva m_{rel} (%)

$$m_{rel} = \frac{m_{tot}}{m_{MLX}} \cdot 100 \quad (9)$$

m_{MLX} ... množství meloxicamu ve vzorku (mg) = 5 mg

- rychlost rozpouštění r ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)

$$r = \frac{c \cdot Q}{V_c} \quad (10)$$

c ... koncentrace (mg/l)

Q ... průtoková rychlost disolučního média (l/s)

V_c ... objem průtokové cely (l)

Objem průtokové cely V_c (l) jsem vypočítala z průměru průtokové cely $d = 12$ mm a výšky $v = 32$ mm.

- relativní rychlost rozpouštění r_{rel} (min^{-1})

$$r_{rel} = \frac{c \cdot Q}{m_{MLX}} \quad (11)$$

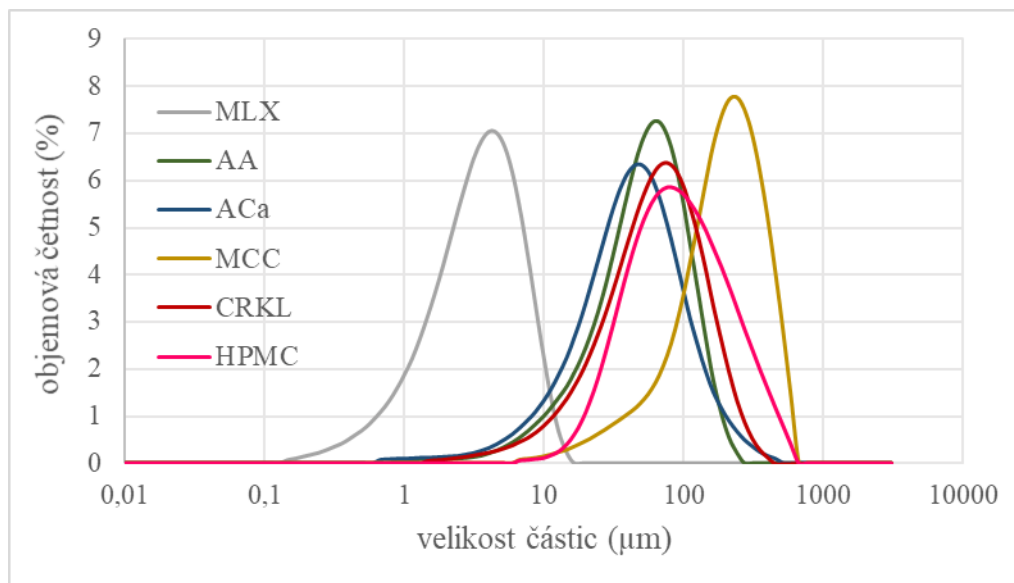
c ... koncentrace (mg/l)

Q ... průtoková rychlost disolučního média (l/s)

m_{MLX} ... množství meloxicamu ve vzorku (mg) = 5 mg

Výsledky jsem zpracovala v počítačovém programu Microsoft Excel.

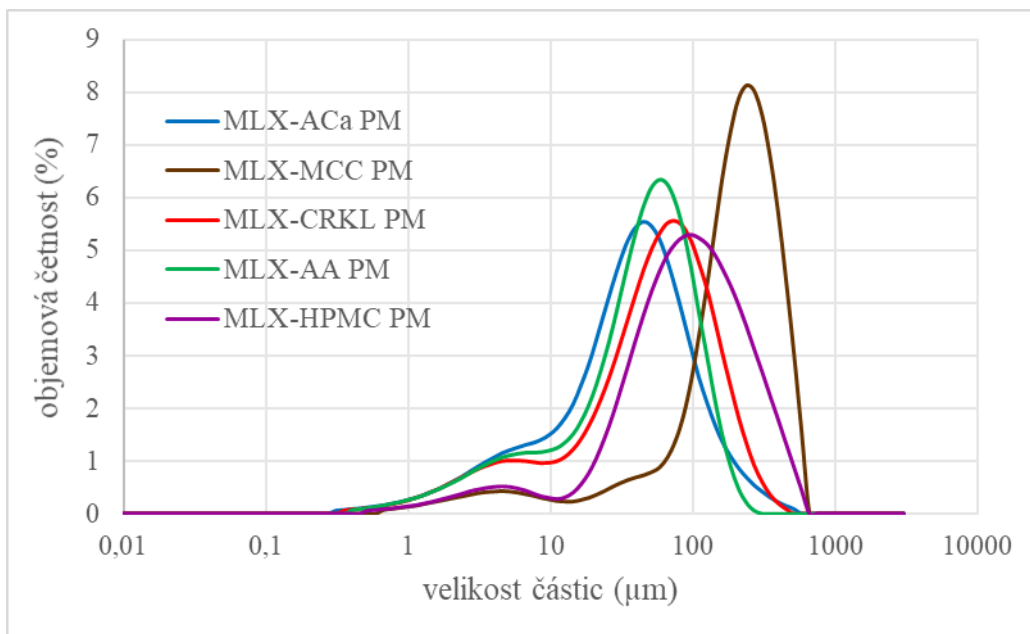
8 Výsledky



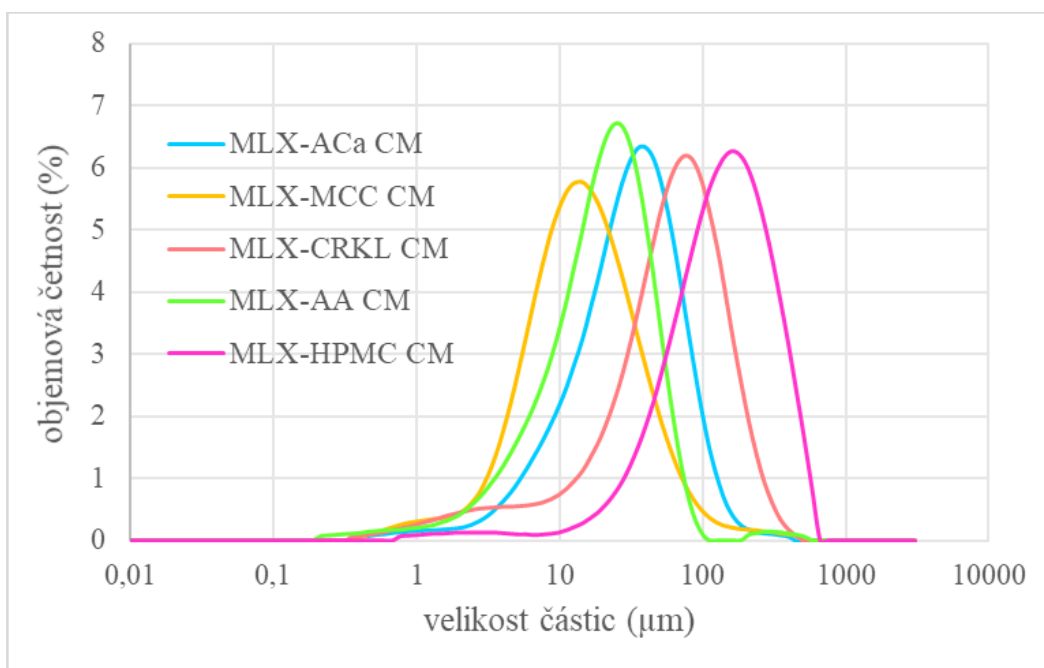
Obr. 4: Objemová distribuce velikosti částic jednotlivých substancí

Tab. 5: Granulometrické charakteristiky směsí (mísené PM, kompletní CM)

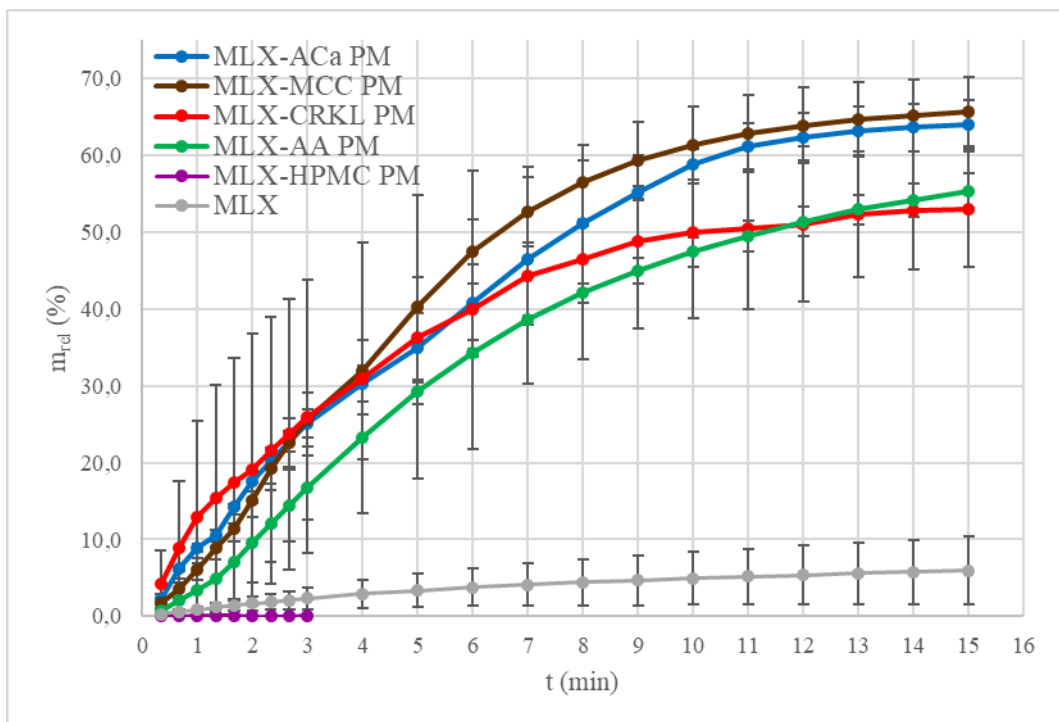
vzorek	x ₁₀ (μm)	x ₅₀ (μm)	x ₉₀ (μm)	span	SSA (m ² /kg)
MLX-ACa 1-8 PM	5,3	40,0	124,0	2,96	510,3
MLX-MCC 1-8 PM	40,4	223,0	446,0	1,82	169,1
MLX-CRKL 1-8 PM	5,8	59,8	169,0	2,73	437,2
MLX-AA 1-8 PM	5,7	48,4	120,0	2,35	456,0
MLX-HPMC 1-8 PM	22,2	97,3	303,0	2,88	237,6
MLX-ACa 1-8 CM	8,6	33,4	85,0	2,29	399,1
MLX-MCC 1-8 CM	4,7	15,1	48,8	2,91	695,8
MLX-CRKL 1-8 CM	10,1	66,2	172,0	2,44	385,8
MLX-AA 1-8 CM	5,5	21,6	51,0	2,11	660,3
MLX-HPMC 1-8 CM	43,6	149,0	374,0	2,22	116,0



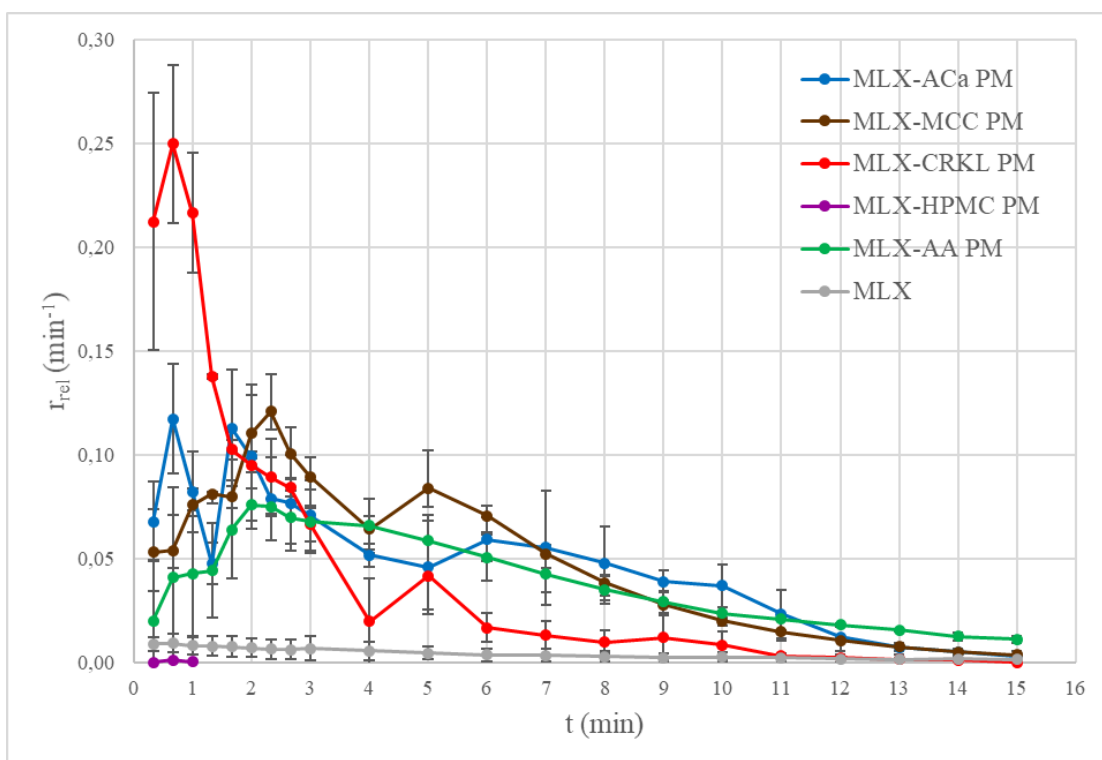
Obr. 5: Objemová distribuce velikosti částic fyzikálních směsí



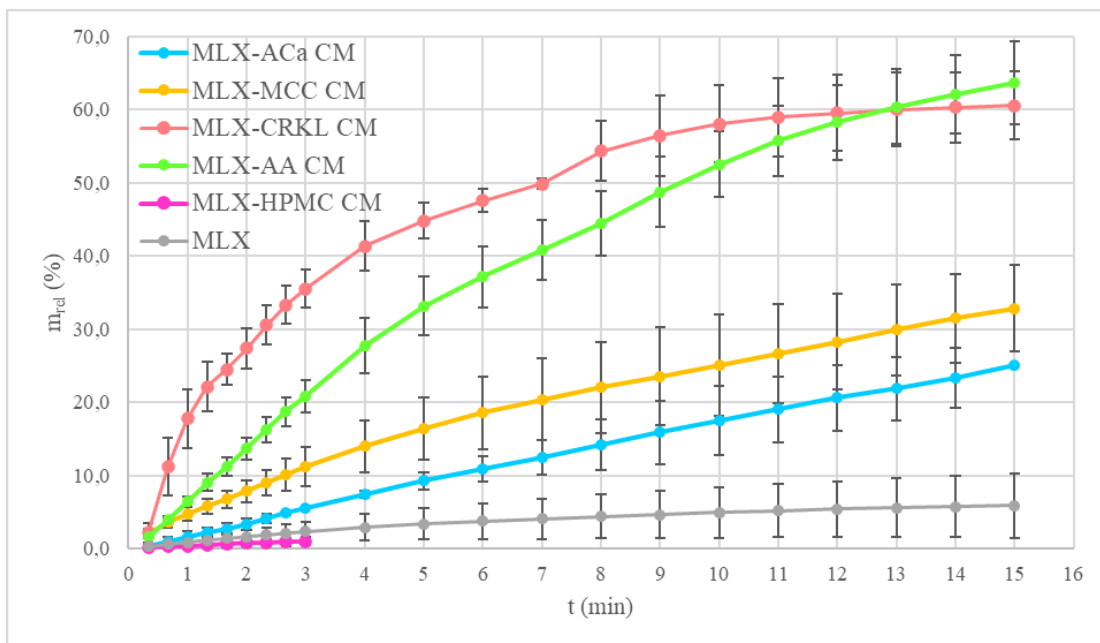
Obr. 6: Objemová distribuce velikosti částic komletých směsí



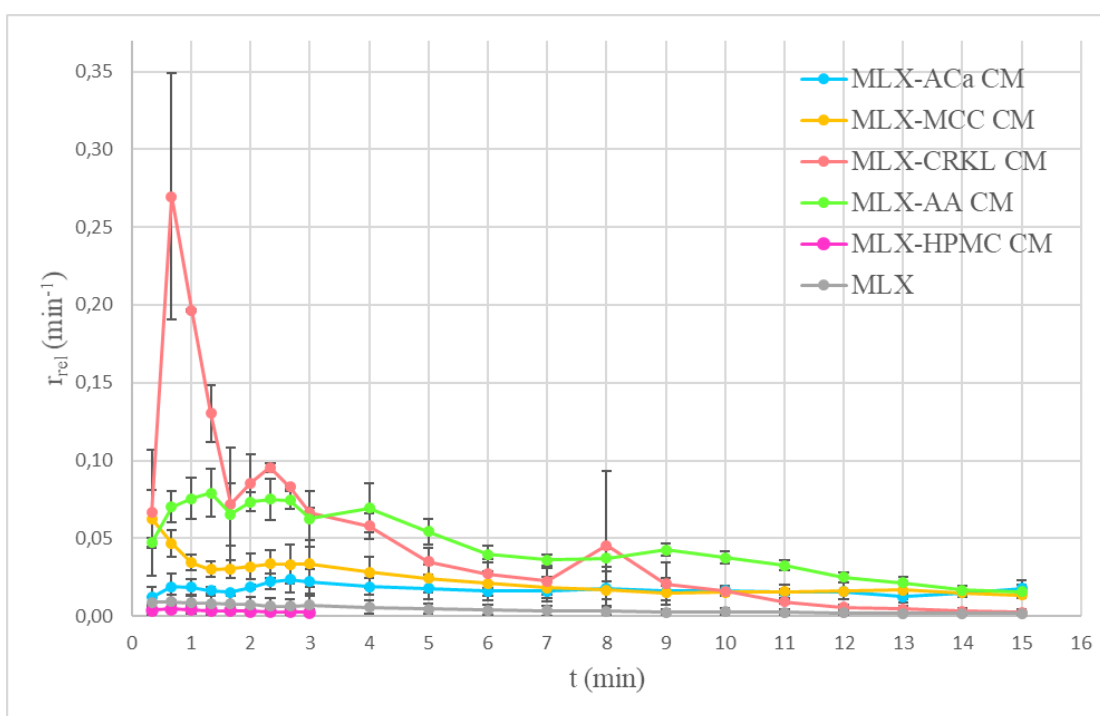
Obr. 7: Vliv nosiče na relativní množství MLX uvolněného z fyzikálních směsí



Obr. 8: Vliv nosiče na relativní rychlost rozpouštění MLX z fyzikálních směsí



Obr. 9: Vliv nosiče na relativní množství MLX uvolněného z kompletních směsí



Obr. 10: Vliv nosiče na relativní rychlost rozpouštění MLX z kompletních směsí

9 Diskuse

Mletí je technologický postup často využívaný pro zvýšení rozpustnosti špatně rozpustných léčiv. Při mletí dochází ke zmenšení velikosti částic, zvětšení jejich povrchu, a tím ke vzrůstu rychlosti rozpouštění.⁴² To vede následně ke zlepšení absorpce léčiva a ke zvýšení jeho biologické dostupnosti.¹²

Jako stabilizátory mleté směsi se často používají pomocné látky (nosiče). Obecně se jedná o hydrofilní látky, které při společném mletí (komletí) snižují riziko vzniku agregátů vznikajících velmi jemných částic léčiva.⁴ Navíc tyto excipienty mohou hydrofilizovat hydrofobní léčivo a přispívají tak ke zlepšení jeho smáčení a rozpustnosti.²⁵ Při vhodně zvolených podmínkách lze při komletí dosáhnout vzniku interaktivní směsi, u níž jsou jemné částice léčiva rozprostřeny na povrchu částice nosiče, a tím zvýšit rozpustnost, jak bylo nedávno prokázáno pro směs chitosanu s léčivem (MLX).^{18,2}

V této práci jsem studovala možnost zvýšení rychlosti rozpouštění MLX, které je podle BCS (*Biopharmaceutical Classification System*) řazené do kategorie II, tj. léčivo s nízkou rozpustností a vysokou permeabilitou.⁴ Pro přípravu binárních směsí s modelovým léčivem jsem použila pět pomocných látek: alginát vápenatý (ACa), mikrokrytalická celulóza (MCC), karagenan (CRKL), kyselina alginová (AA), hypromelosa (hydroxypropylmethylcelulóza, HPMC). Účinnost společného mletí (směsi s kódem CM) s těmito nosiči byla porovnána se směsí ve stejném složení, ale získanou prostým mísením (směsi s kódem PM).

9.1 Granulometrické charakteristiky

Velikost a tvar částic jsou parametry, které ovlivňují míru kontaktu s disolučním médiem, a hrají tedy důležitou roli při rozpouštění.⁶ Léčivo a pomocné látky byly nejdříve granulometricky charakterizovány pomocí laserové difrakce. Na obrázku (4) a v tabulce (5) jsou uvedeny výsledky hodnocení objemové distribuce velikosti částic jednotlivých látek a shrnuty granulometrické charakteristiky x_{10} , x_{50} , x_{90} , span a SSA připravených binárních mísených (PM) a mletých (CM) směsí.

Mikronizované částice MLX, jejichž medián velikosti x_{50} je 3,7 μm , mají poměrně úzkou distribuci velikosti charakterizovanou hodnotou span 1,9 a velký specifický povrch SSA 2726,0 m^2/kg . Z použitých pomocných látek má největší částice s relativně úzkou distribucí MCC ($x_{50} = 209,0 \mu\text{m}$, span = 1,8). Naopak nejširší distribuce a menší velikost částic byla pozorována u HPMC ($x_{50} = 94,7 \mu\text{m}$, span = 2,7). Větší částice pomocné látky jsou pro přípravu interaktivních směsí obecně doporučeny pro dosažení větší homogenity směsi.^{18,27} Malé částice nosiče mají slabší deaglomerační sílu na rozrušení kohezivních sil mezi částicemi mikronizovaného léčiva a nezajistí tak vznik homogenní interaktivní směsi.³³

Pro zajištění homogenity je také nutné určit správný poměr mezi částicemi léčiva a částicemi pomocné látky (nosiče).³³ V tomto experimentu byl pro přípravu všech testovaných směsí zvolen poměr 1:8 (jeden díl léčiva a osm dílů pomocné látky) na základě předchozích experimentů, kde tento poměr mezi množstvím léčiva (MLX) a testovaného nosiče vedl k nejlepším výsledkům při hodnocení rychlosti rozpouštění MLX.^{2,40}

Obrázek (5) zachycuje objemovou distribuci velikosti částic fyzikálních směsí (PM) MLX s jednotlivými pomocnými látkami. U většiny směsí připravených mísením rozeznáme dva píky odpovídající velikosti částic MLX a dané pomocné látky. Během mísení pronikají částice jedné látky mezi částice látky druhé a změna velikosti částic se zde primárně neočekává.⁴ Mísení však může přispět k rozrušení aglomerátů mikronizovaného léčiva a redistribuci částic léčiva na povrch nosiče.³⁴

Mletí obecně slouží k redukci velikosti částic a zvětšení jejich povrchu.^{41,42} Mezi hlavní faktory ovlivňující efektivitu mletí v kulovém mlýnu patří rychlost otáček, doba mletí a velikost koulí.³⁶ Při příliš nízkých či vysokých rychlostech otáčení dochází k minimálnímu zmenšení velikosti částic a tím je efekt mletí snížen.²⁵ V preliminárním experimentu s využitím statistického plánu (DoE, design of experiments)³⁷ byly tyto faktory studovány pro různé pomocné látky. Pro každou pomocnou látku tak mohly být vybrány optimální podmínky mletí, jejichž kombinace jsou uvedeny v tabulce (4). Je nutné podotknout, že statistický plán byl

použit pouze pro nosiče a použití směsi pomocné látky s léčivem může mít odlišný průběh.

V použité kombinaci velikosti mlecích kuliček (5 mm), času mletí (26–36 min) a rychlosti otáček mlýnu (145–310 rpm) jsem nepozorovala při mletí žádné problémy u směsí MLX-HPMC 1-8 CM a MLX-CRKL 1-8 CM. Naopak u směsí MLX-ACa 1-8 CM, MLX-MCC 1-8 CM a MLX-AA 1-8 CM došlo během mletí k nalepení směsi na stěny mlecí nádoby nebo na mlecí kuličky (obrázek (11)).



MLX-ACa 1-8 CM

MLX-MCC 1-8 CM

MLX-AA 1-8 CM

Obr.11: Ilustrace chování směsí

Jak je ilustrováno na obrázku (6), značný pokles ve velikosti částic byl zaznamenán u směsi MLX-MCC 1-8 CM ($x_{50} = 15,1 \mu\text{m}$) oproti směsi MLX-MCC 1-8 PM ($x_{50} = 223,0 \mu\text{m}$). U kompletních směsí došlo ke zúžení distribuce velikosti částic (pokles span). Výjimkou je směs MLX-MCC 1-8 CM, u níž došlo naopak k rozšíření distribuce velikosti částic (span 2,9). Tento jev by mohl být způsoben nedostatečnou dobou mletí směsi, případně vznikem aglomerátů látky, které byly při laserové difrakci nerozrušeny a přístrojem detekovány jako větší částice.

U kompletní směsi MLX-AA 1-8 CM lze na obrázku (6) pozorovat druhý malý pík (světle zelená křivka). Tento jev je vyvolán tím, že v průběhu suchého mletí vznikají mezi částicemi interakce přispívající ke vzniku aglomerátů.⁴¹ U směsí MLX-CRKL 1-8 CM ($x_{50} = 66,2 \mu\text{m}$) a MLX-HPMC 1-8 CM ($x_{50} = 149,0 \mu\text{m}$) se po mletí oproti fyzikálním směsím s týmiž pomocnými látkami (MLX-CRKL 1-8 CM $x_{50} = 59,8 \mu\text{m}$; MLX-HPMC 1-8 CM $x_{50} = 97,3 \mu\text{m}$) zvýšil podíl větších částic, současně je ale na distribuční křivce patrná i přítomnost malých částic. To může znamenat, že ne všechny částice léčiva jsou adherovány na povrchu nosiče a zůstávají ve směsi. U obou jmenovaných směsí se sice mírně zúžila distribuce velikosti částic (MLX-CRKL 1-8 CM span = 2,4; MLX-HPMC 1-8 CM span = 2,2),

ale v tabulce (5) vidíme, že všechny sledované rozměry (x_{10} , x_{50} , x_{90}) se zvětšily, zejména pro směs s hypromelosou.

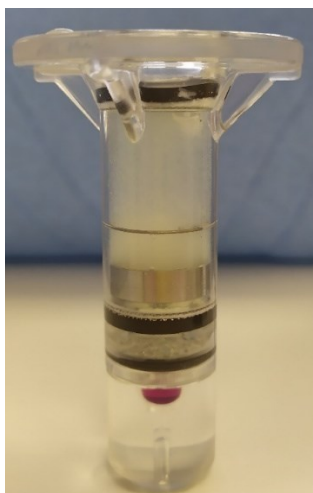
9.2 Rychlost rozpouštění

Cílem experimentu bylo studovat vliv vybraných pomocných látek na rychlost rozpouštění špatně rozpustného léčiva MLX. Připravené směsi jsem hodnotila pomocí disolučního testu. Pro jejich provedení jsem použila průtokovou celu pro prášky, do které jsem pro každé měření umístila 45 mg zkoušené směsi obsahující stejné množství MLX. Pro hodnocení jsem použila otevřený systém, což znamená, že do průtokové cely proudilo po celou dobu průběhu disolučního testu čerstvé disoluční médium ($37 \pm 0,5$ °C, rychlostí 22 ml/min) s nulovou koncentrací léčivé látky (MLX). Tento režim je s výhodou využíván právě u špatně rozpustných léčiv, jelikož umožňuje udržení sink podmínek, čímž se předchází změnám v koncentračním gradientu, které by průběh disolučního testu ovlivnily. Nevýhodou otevřeného systému je velká spotřeba disolučního média, což může být značně finančně náročné, zejména při použití drahých médií.³⁸

Každý disoluční test probíhal po dobu 15 minut. Abych lépe zachytila změny rychlosti rozpouštění MLX v časných fázích, odebírala jsem vzorky rozpuštěného léčiva nejprve v intervalech po 20 vteřinách a po uplynutí prvních tří minut testu v intervalech po 60 vteřinách.

Pro správný průběh disolučního testu je nutné použít v průtokové cele vyhovující filtry. Důležité je zvolit u filtru vhodnou velikost pórů tak, aby póry nepropustily nerozpuštěné částice a zároveň nezvyšovaly odpor proudícímu médiu a tím tlak uvnitř cely, který by následně ovlivnil disoluční proces.³⁸ Během experimentu jsem používala filtry ze skleněných vláken. Ve spodní části cely byl mezi sítky umístěn jeden filtr a v horní části cely na sítku byly umístěny dva filtry na sobě. Nejprve jsem všechny směsi testovala za použití filtrů s velikostí pórů 0,7 μm (typ GF/F), jelikož se osvědčily již v předchozích experimentech.^{2,40}

Během tohoto experimentu však u směsí MLX-ACa 1-8 CM, MLX-CRKL 1-8 PM, MLX-CRKL 1-8 CM nastaly potíže. Filtry se opakovaně ucpávaly, v důsledku čehož pak disoluční médium vytékalo z cely (obrázek (13), (14)). U směsi MLX-ACa 1-8 CM mohly být příčinou ucpání filtrů malé částice nerozpuštěného léčiva, případně tvorba gelu (obrázek (12)).⁴³



Obr. 12: Směs MLX-ACa 1-8 CM po disolučním testu

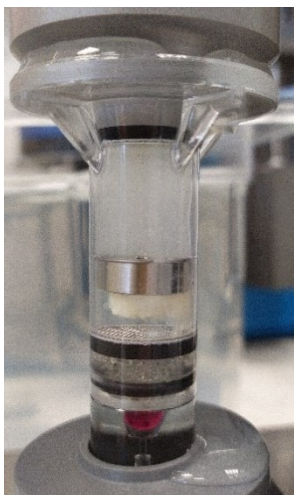
U směsí s karagenanem (MLX-CRKL 1-8 PM a MLX-CRKL 1-8 CM) jsem pozorovala tvorbu gelu, který zvyšoval viskozitu tekutiny a filtr zablokoval (obrázek (13), (14)).



Disoluční test – vytékání média

Vzniklý gel

Obr. 13: Ilustrace chování směsi MLX-CRKL 1-8 PM



Disoluční test – vytékání média

Vzniklý gel

Obr. 14: Ilustrace chování směsi MLX-CRKL 1-8 CM

Obecně může mít na míru gelace vliv použitý typ karagenanu. Pro experiment byla použita směs karagenanu kappa a lambda. Typ kappa je silně gelující v přítomnosti draselných iontů.^{43,44} Vzniklý gel je navíc při pH použitého disolučního média (fosforečnanový pufr o pH 6,8) stabilní. Typ lambda díky své odlišné chemické struktuře tvoří gel omezeně. S draselnými ionty tento typ karagenanu gel nevytváří a je více rozpustný.⁴⁴ Zde by bylo nutné další zkoumání, zda změna typu karagenanu zajistí bezproblémový průběh disolučních testů.

Kvůli vzniklým technickým potížím bylo nutné pro zajištění správného průběhu disolučních testů najít jinou kombinaci filtrů. U směsi MLX-CRKL 1-8 PM bylo nezbytné použít filtry GF/D s velikostí pórů 2,7 μm , pro směsi MLX-ACa 1-8 CM a MLX-CRKL 1-8 CM jsem použila kombinaci filtru GF/D s velikostí pórů 2,7 μm a GF/F s velikostí pórů 0,7 μm . S ohledem na technické potíže byla pozorována zvýšená variabilita výsledků, a i přes několik opakování měření byla u některých směsí získána kompletní data pouze pro dvě namísto tří měření.

Z absorbance odebraných vzorků jsem pomocí kalibrační rovnice (6) vypočítala koncentraci uvolněného léčiva c (mg/l), dále dle rovnice (7) množství uvolněného léčiva v jednotlivých intervalech m_{int} (mg), dle rovnice (8) celkové množství uvolněného léčiva m_{tot} (mg) a dle rovnice (9) relativní množství uvolněného léčiva

m_{rel} (%). Nakonec jsem vyjádřila rychlost rozpouštění r ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) podle rovnice (10) a relativní rychlost rozpouštění MLX r_{rel} (min^{-1}) podle rovnice (11).

Obrázek (7) a obrázek (9) zachycují relativní množství uvolněného léčiva m_{rel} (%) v čase 15 minut od počátku testu, tj. kontaktu média se vzorkem. Je patrná velmi nízká rozpustnost vzorku MLX, během 15 minut se rozpustilo pouze necelých 6 % z celkového množství léčiva. Špatné rozpouštění mikronizovaného MLX způsobují silné kohezivní síly mezi jednotlivými částicemi léčiva vedoucí ke vzniku aglomerátů, které se špatně smáčejí a neposkytují dostatečný povrch pro kontakt s médiem.²

9.2.1 Vliv mísení s nosičem

Jak ukazuje obrázek (7), došlo u směsí připravených mísením (PM) vlivem přidavku pomocné látky ke zvýšení relativního množství m_{rel} (%) uvolněného (rozpuštěného) MLX v porovnání s čistým MLX pro všechny fyzikální směsi s výjimkou směsi s přidavkem hypromelosity (MLX-HPMC 1-8 PM). Nejvyšší množství léčiva (65 %) se během 15 minut rozpustilo ze směsi MLX-MCC 1-8 PM a ze směsi MLX-ACa 1-8 PM (64 %). Zlepšení rozpustnosti lze pozorovat i u směsi MLX-AA 1-8 PM (55 %). Směs MLX-CRKL 1-8 PM také vykazuje zlepšení rozpustnosti. V prvních třech minutách se z této směsi uvolnilo nejvíce léčiva ze všech testovaných směsí a celkově se ze směsi v čase 15 minut uvolnilo 53 % léčiva. U této směsi je však nutné připomenout potíže s ucpáváním filtrů během měření. Kvůli technickým potížím byly do výsledků zahrnuty hodnoty pouze ze dvou měření po výměně filtru k ilustraci efektu CRKL.

Zcela jiná situace nastala u směsi MLX-HPMC 1-8 PM, kde se léčivo ze směsi uvolňovalo pouze ve velmi malém množství a po třech minutách nebyla ve vzorku pozorována detekovatelná koncentrace léčiva. Příčinou mohlo být nabobtnání HPMC a vytvoření gelové vrstvy okolo částic léčiva (obrázek (15)), která znemožnila kontakt s disolučním médiem a neumožnila tak další rozpouštění léčiva. Proto byly do grafu zahrnuty výsledky pouze jednoho měření. Z literatury je známo,

že hydrofilní polymer hypromelosa je velmi často používán při modifikaci uvolňování léčiv s cílem jeho prodloužení.⁴⁵ Výsledky jsou tedy v souladu s literaturou.



Obr. 15: Nabobtnalá směs MLX-HPMC 1-8 PM po disolučním testu

Kromě relativního množství uvolněného léčiva je důležité posoudit také rychlost rozpouštění. Relativní rychlost rozpouštění samotného MLX je po celou dobu disolučního testu velmi nízká ($r_{rel} \leq 0,01 \text{ min}^{-1}$). Porovnání vlivu nosičů ve fyzikální směsi na r_{rel} (min^{-1}) MLX zachycuje obrázek (8). Vidíme, že ke zvýšení rychlosti rozpouštění došlo u směsi se všemi pomocnými látkami s výjimkou směsi s HPMC. Přitom nejvyšší efekt na relativní rychlost rozpouštění byl zaznamenán u směsi MLX-CRKL 1-8 PM ($r_{MAX} = 0,25 \text{ min}^{-1}$). Svého maxima dosáhla již v první minutě od kontaktu disolučního média se vzorkem, a následně začala rychlost poměrně rychle klesat. Tento pokles byl zřejmě způsoben již dříve zmíněnou tvorbou gelu, který znesnadňoval rozpouštění léčiva. Naopak u směsi MLX-MCC 1-8 PM se rychlost pozvolna zvyšovala a maxima dosáhla mezi druhou a třetí minutou ($r_{MAX} = 0,12 \text{ min}^{-1}$). Pozvolný nárůst rychlosti rozpouštění vidíme i u směsi MLX-AA 1-8 PM, která svého maxima dosáhla okolo druhé minuty ($r_{MAX} = 0,08 \text{ min}^{-1}$) s následným pozvolným poklesem. Výkyvy v relativní rychlosti rozpouštění u směsi MLX-ACa 1-8 PM během prvních dvou minut nejsou zcela jasné. Mohou mít příčinu v zablokování filtrů částicemi nosiče nebo nerozpuštěného léčiva, i když tyto problémy byly více pozorovány u mletých směsí. Maximální rychlost $r_{MAX} = 0,12 \text{ min}^{-1}$ byla dosažena během první minuty, a poté se rychlost začala snižovat. Jak již bylo zmíněno, pro směs MLX-HPMC 1-8 PM nemohl být vliv vyjádřen, neboť hodnoty byly pod mezí detekce.

9.2.2 Vliv mletí s nosičem

Relativní množství rozpuštěného MLX z jeho směsí připravených společným mletím s pomocnými látkami (CM) v porovnání s rozpuštěným množstvím čistého MLX zachycuje obrázek (9). S výjimkou směsi s HPMC se opět celkové množství uvolněného MLX ze směsí zvýšilo. Za 15 minut se rozpustilo nejvíce léčiva (cca 64 %) ze směsi MLX-AA 1-8 CM a ze směsi MLX-CRKL 1-8 CM (cca 60 %). U této kompletní směsi však stejně jako u fyzikální směsi s CRKL došlo v průběhu měření k technickým problémům a původní filtry musely být nahrazeny jinými s většími póry. Na obrázku (9) jsou proto zobrazeny výsledky pouze dvou opakování pokusu. Při porovnání chování směsí s AA a CRKL s podobným celkovým m_{rel} (%), si můžeme povšimnout rozdílného průběhu uvolňování léčiva v prvních třech minutách. Zatímco u směsi MLX-CRKL 1-8 CM bylo rozpuštěné množství léčiva vyšší, u směsi MLX-AA 1-8 CM je rozpouštění spíše pozvolné. Přibližně po 13 minutách se dosáhlo srovnatelného m_{rel} (%).

Směsi MLX-MCC 1-8 CM a MLX-ACa 1-8 CM také vykazují zlepšení rozpouštění MLX, efekt je ale nižší než pro mísené vzorky. Ačkoliv se u směsi MLX-MCC 1-8 CM po mletí velikost částic snížila ($x_{50} = 15,1 \mu\text{m}$) a zvětšil se specifický povrch (SSA), za 15 minut se uvolnilo celkově necelých 33 %. Fyzikální směs MLX-MCC 1-8 PM tak měla lepší efekt (65 %). U směsi MLX-ACa 1-8 CM se po mletí specifický povrch (SSA) snížil pravděpodobně díky vzniku aglomerátů a bylo uvolněno 25 % z celkového množství léčiva ve vzorku. Z obrázku (9) je však patrný lineární průběh děje pro obě pomocné látky. Chování je typické pro excipienty vhodné k prodlouženému uvolňování.⁴⁵ Pro alginát vápenatý (ACa) bylo možné relativní množství uvolňování v čase charakterizovat rovnicí lineární regrese (12) s koeficientem determinace $R^2 = 0,9978$,

$$m_{rel} = 0,0282 t + 0,2482 \quad (12)$$

kde t je čas v minutách. Podobná závislost s $R^2 = 0,9792$ (rovnice (13)) je pozorovatelná pro mikrokrystalickou celulosu (MCC).

$$m_{rel} = 0,0343 t + 4,0536 \quad (13)$$

U směsi MLX-ACa 1-8 CM je opět nutné zmínit, že bylo nutné změnit filtry kvůli problémům s jejich ucpáváním a na obrázku (9) jsou zobrazeny výsledky pouze dvou opakování pokusu.

Stejně jako pro směs MLX-HPMC 1-8 PM ani u MLX-HPMC 1-8 CM nebylo pozorováno zvýšení rozpuštěného množství léčiva. V odebraných vzorcích byla koncentrace léčiva velmi nízká a od třetí minuty již nebyla detekovatelná. Příčinou bylo pravděpodobně vytvoření gelové vrstvy okolo částic léčiva (obrázek (16)) stejně jako v případě fyzikální směsi (PM).



Obr. 16: Zgelovatělá směs MLX-HPMC 1-8 CM

Při celkovém shrnutí výsledků je možné konstatovat, že s výjimkou HPMC vykazují všechny kompletní směsi MLX se studovanými nosiči vyšší rychlost rozpouštění než čistý MLX. V souladu s předchozím komentářem, je na obrázku (10) porovnávaným relativní rychlosti rozpouštění testovaných kompletních směsí, viditelný výrazný efekt u směsi MLX-CRKL 1-8 CM. Svého maxima dosáhla rychlost rozpouštění MLX v první minutě ($r_{MAX} = 0,27 \text{ min}^{-1}$), a pak se velmi rychle snížila. Tento efekt je typicky způsoben prvním kontaktem léčiva s médiem a může ukazovat na dobrý nosičový efekt CRKL. S ohledem na určité technické potíže by však bylo nezbytné disoluční metodu v budoucnu optimalizovat. Pozvolnější nárůst rychlosti je vidět u směsi MLX-AA 1-8 CM s maximem ($r_{MAX} = 0,08 \text{ min}^{-1}$) přibližně v první minutě.

Směsi MLX-ACa 1-8 CM a MLX-MCC 1-8 CM rychlost rozpouštění výrazně nezvýšily, což je v souladu s vlivem na relativní množství uvolněného MLX popsáním výše. U obou směsí bylo pozorováno pomalé postupné rozpouštění charakterizované nízkou relativní rychlostí rozpouštění ($r_{rel} = 0,02 \text{ min}^{-1}$ pro MLX-

ACa 1-8 CM a $r_{rel} < 0,03 \text{ min}^{-1}$ pro MLX-MCC 1-8 CM), která byla od cca páté minuty testu prakticky konstantní.

Rychlost rozpouštění nemohla, stejně jako u fyzikální směsi (PM), být pro směs MLX-HPMC 1-8 CM prakticky hodnocena. Nabobtnání HPMC a vytvoření gelové bariéry kolem částic léčiva jeho rozpouštění znemožnilo.⁴

Výsledky práce ukázaly, že použité technologické postupy (mísení a mletí s vhodným excipientem) zajišťují vyšší rychlost rozpouštění MLX. To potvrzuje význam komise a komletí léčivých látek s vhodným nosičem, který rozvolňuje shluky a přispívá k rychlému smáčení částic a následně ke zrychlenému uvolnění léčiva díky rychlejšímu rozpuštění.²

U mísených směsí (směsi s kódem PM) je klesající efekt nosičů na množství uvolněného léčiva m_{rel} v pořadí MCC (65 %) > ACa (64 %) > AA (55 %) > CRKL (53 %) a u směsí připravených mletím (směsi s kódem CM) AA (63 %) > CRKL (60 %) > MCC (33 %) > ACa (25 %). Lepší výsledky jsou evidentní u směsí získaných prostým mísením. Ze všech testovaných směsí se nejvíce MLX uvolnilo z fyzikálních směsí MLX-MCC 1-8 PM (65 %) a MLX-ACa 1-8 PM (64 %). Pozitivní vliv mletí se projevil u směsi MLX-AA 1-8 CM, kdy zmenšení velikosti částic ($x_{50} = 48,4 \text{ } \mu\text{m}$) vedlo k lepšímu smáčení částic disolučním médiem a vyššímu efektu ($m_{rel} = 63 \%$) oproti fyzikální směsi ($x_{50} = 21,6 \text{ } \mu\text{m}$; $m_{rel} = 55 \%$).

Ze získaných výsledků nelze jednoznačně konstatovat, že se u testovaných směsí po mletí a zmenšení velikosti částic a zvětšení jejich specifického povrchu (SSA) vždy zlepšila rychlost rozpouštění léčiva (MLX-MCC 1-8 PM: $x_{50} = 223,0 \text{ } \mu\text{m}$; $m_{rel} = 65 \%$; MLX-MCC 1-8 CM: $x_{50} = 15,1 \text{ } \mu\text{m}$; $m_{rel} = 32 \%$). Stejně tak nelze jednoznačně říci, že u testovaných směsí, u kterých došlo po mletí ke zvětšení částic kvůli vzniku aglomerátů, došlo ke zhoršení rozpustnosti léčiva (MLX-CRKL 1-8 PM: $x_{50} = 59,8 \text{ } \mu\text{m}$; $m_{rel} = 53 \%$; MLX-CRKL 1-8 CM: $x_{50} = 66,2 \text{ } \mu\text{m}$; $m_{rel} = 60 \%$). Příčinou by mohlo být to, že optimalizace podmínek mletí pomocí statistického plánu byla použita pouze pro nosiče bez přítomnosti MLX. Použití směsi pomocné látky s léčivem může mít odlišný průběh. Navíc byl použit pouze jeden poměr mezi

lčivem a pomocnou látkou (1-8), který se osvědčil dříve pro chitosan.^{2,40} Pro zde studované látky však nemusí být vhodný.

Ze studovaných pomocných látek nevykazují zvýšení relativního uvolněného množství MLX m_{rel} ani relativní rychlosti rozpouštění r_{rel} směsi s přidavkem hypromelosity (MLX-HPMC 1-8 PM, MLX-HPMC 1-8 CM).

10 Závěry

Na základě výsledků experimentální části této diplomové práce hodnotící vliv pomocných látek na množství a rychlost rozpouštění léčiva můžeme vyvodit následující závěry:

1. Z použitých pomocných látek byly největší částice s relativně úzkou distribucí detekovány pro MCC ($x_{50} = 209,0 \mu\text{m}$; span = 1,8). Naopak nejširší distribuce a menší velikost částic byla pozorována u HPMC ($x_{50} = 94,7 \mu\text{m}$; span = 2,7).
2. Oba použité technologické postupy mísení i společné mletí s vybranými pomocnými látkami v poměru 1-8 zvýšily relativní uvolněné množství a relativní rychlost rozpouštění MLX v porovnání s čistým MLX. Výjimkou jsou směsi s HPMC.
3. Nejlepších výsledků bylo dosaženo u směsí získaných prostým mísením.
 - a. Nejvyšší množství rozpuštěného léčiva bylo ze všech testovaných směsí detekováno u směsi MLX-MCC 1-8 PM (65 %) a MLX-ACa 1-8 PM (64 %).
 - b. Nejvyšší dosažená rychlost ze všech testovaných směsí byla zaznamenána u směsi MLX-CRKL 1-8 PM.
4. Pozitivní vliv mletí byl patrný u směsi MLX-AA 1-8 CM, u které došlo vlivem mletí ke zmenšení velikosti částic, což vedlo k lepšímu smáčení částic disolučním médiem a vyššímu efektu oproti fyzikální směsi.
5. Ze studovaných pomocných látek nevykazují směsi s přidavkem hypromelosity žádný pozitivní efekt na zvýšení relativního uvolněného množství ani na relativní rychlost rozpouštění MLX.

11 Použitá literatura

- ¹ KAWABATA Y., WADA K., NAKATANI M., YAMADA S., ONOUE S.: Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification systém: Basic approaches and partical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, 420, s. 1-10. ISSN 0378-5173.
- ² BROKEŠOVÁ J., SLÁMOVÁ M., ZÁMOSTNÝ P., KUENTZ M., KOKTAN J., KREJČÍK L., VRANÍKOVÁ B., SVAČINOVÁ P., ŠKLUBALOVÁ Z.: Mechanistic study of dissolution enhancement by interactive mixtures of chitosan with meloxicam as model. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2022, 169. ISSN 0928-0987.
- ³ KHAN D. A., SINGH L.: Various techniques of bioavaibility enhancement: A review. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 2016, 6 (3), s. 34-41. ISSN 2250-1177.
- ⁴ ZAINI E., WITARSAH A., AGUSTIN R.: Enhancement of dissolution rate of Meloxicam by co-grinding technique using Hydroxypropyl methylcellulose. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2014, 6 (11), s. 263-267. ISSN 0975-7384.
- ⁵ SMITH B.T.: *Remington Education: Physical Pharmacy*. London: Pharmaceutical Press, 2015, 192 s. ISBN 978 0 85711 106 7.
- ⁶ SINKO P. J.: *Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences: physical, chemical, biopharmaceutical principles in the pharmaceutical sciences*. Baltimore, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business. 2011, 1230 s. ISBN 978 0 7817 9766 5.
- ⁷ ČESKÝ LÉKOPIS 2017. 2017, Praha: Grada Publishing, a. s., 4904 s., ISBN 978-80-271-0500-7. Kapitola 1.4. Lékopisné články (monografie), s. 68.
- ⁸ OKÁČOVÁ L., VETCHÝ D., FRANC A., RABIŠKOVÁ M., KRATOCHVÍL B.: Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek jejich modifikací. *Chemické listy*, 2010, 104 (1), s. 21-26. ISSN 1213-7103.

-
- ⁹ BATCHELOR H. (Ed.): *Biopharmaceutics: From fundamentals to Industrial Practice*. 2022, Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 298 s., ISBN 9781119678366. BATCHELOR H., FLANAGAN T.: *Biopharmaceutic Classification System*. s. 135-146.
- ¹⁰ KHADKA P. et al.: Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2014, 9, s. 304-316. ISSN 1818-0876.
- ¹¹ CHAVDA H. V., PATEL C. N., ANAND I. S.: Biopharmaceutics Classification System. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 2010, 1, s. 62-69. ISSN 0976-2779
- ¹² VRANÍKOVÁ B., GAJZIOK J.: Metody používané ve farmaceutické technologii ke zvyšování biologické dostupnosti špatně rozpustných léčiv po perorálním podání. *Česká a Slovenská Farmacie*, 2015, 64, s. 159-172. ISSN 1803-6597.
- ¹³ WHO: Annex 7, Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability, WHO expert committee on specifications for pharmaceutical preparations, WHO technical report series 937, 2006, k 3.4. 2022. Dostupné z:
http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43443/WHO_TRS_937_eng.pdf;jsessionid=7255FA6CC96270E226FD30CD62EFDC5F?sequence=1
- ¹⁴ EMA: Guideline on the investigation of bioequivalence, 2010, k 3.4. 2022, Dostupné z: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf
- ¹⁵ BEHERA A. L., SAHOO S. K., PATIL S. V.: Enhancement of solubility: A pharmaceutical overview. *Der Pharmacia Lettre*, 2010, 2 (2), s. 310-318. ISSN 0974-248X.
- ¹⁶ ATTWOOD D., FLORENCE A.T.: *Physical Pharmacy*. London: Pharmaceutical Press, 2008, 182 s., ISBN 978 0 85369 725 1.
- ¹⁷ KOMÁREK P., RABIŠKOVÁ M. et al.: *Technologie léků*. London: Pharmaceutical Press. 2015, 192 s. ISBN 978 0 85711 106 7.

-
- ¹⁸ OKÁČOVÁ L., VETCHÝ D., FRANC A., RABIŠKOVÁ M.: Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek technologickými postupy usnadňujícími jejich rozpouštění. *Chemické listy*, 2011, 105 (1), s. 34-40. ISSN 1213-7103.
- ¹⁹ HANSEN C. M: *Hansen solubility parameters: a user's handbook*. Vydání 2., 2007, Boca Raton: CRC Press, 519 s. ISBN: 9780429127526.
- ²⁰ VRANÍKOVÁ B., NIEDERQUELL A., ŠKLUBALOVÁ Z., KUENTZ M.: Relevance of the theoretical critical pore radius in mesoporous silica for fast crystallizing drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 2020, 591, s. 1-11. ISSN 0378-5173.
- ²¹ KRATOCHVÍL B., KOUPILOVÁ I.: Farmaceutické amorfnní hydráty. *Chemické listy*, 2011, 105 (1), s. 3-7. ISSN 1213-7103.
- ²² RENGARAJAN G. T., ENKE D., STEINHART M., BEINER M.: Stabilization of the amorphous state of pharmaceuticals in nanopores. *Journal of Materials Chemistry*, 2008, 18, s. 2537-2539. ISSN 0959-9428.
- ²³ SUN D. D., LEE P. I.: Crosslinked hydrogels – a promising class of insoluble solid molecular dispersion carriers for enhancing the delivery of poorly soluble drugs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2014, 4 (1), s. 26-36. ISSN 2211-3835.
- ²⁴ ŠKOLÁKOVÁ T., ZÁMOSTNÝ P.: Techniky mletí a společného mletí jako přístupy ke zvýšení rychlosti rozpouštění špatně rozpustných léčiv. *Chemické listy*, 2020, 114 (9), s. 591-601, ISSN 1213-7103.
- ²⁵ MILLARD J. W., ALVAREZ-NÚÑEZ F. A, YALKOWSKY S. H.: Solubilization by cosolvents – Establishing useful constants for the log-linear model. *International Journal of Pharmaceutics*, 2002, 245, s. 153-166. ISSN 0378-5173.
- ²⁶ VRANÍKOVÁ B., FRANC A., GAJDZIOK J.: Inovativní lékové formy pro těžce rozpustná léčiva. *Remedia*, 2014, 4, s. 312-314, ISSN 2336-3541.
- ²⁷ MARINKO N., ZÁMOSTNÝ P.: Meloxicam carrier systems having enhanced release and aqueous wettability prepared using micro-suspensions in different liquid media. *AAPS PharmSciTech*, 2020, 21 (5), s. 1-10. ISSN 1530-9932.
- ²⁸ SAHARAN S. A., KUKKAR V., KATARIA M., KHARB V., CHOUDHURY P. K.: Ordered mixing: mechanism, process and applications in pharmaceutical

formulations. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2008, 3 (6), s. 240-259. ISSN 1818-0876.

²⁹ AL-KASSAS R., BANSAL M., SHAW J.: Nanosizing techniques for improving bioavailability of drugs. *Journal of Controlled Release*, 2017, 260, s. 202-212. ISSN 0168-3659.

³⁰ VENABLES H., WELLS J.: Powder Mixing. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2001, 27 (7), s. 599-612. ISSN 1520-5762.

³¹ SUNDELL-BREDENBERG S., NYSTRÖM C.: The possibility of achieving an interactive mixture with high dose homogeneity containing an extremely low proportion of a micronised drug. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2001, 12, s. 285-295. ISSN 0928-0987.

³² NGUYEN D., RASMUSON A., BJÖRN I. N., THALBERG K.: Mechanistic time scales in adhesive mixing investigated by dry particle sizing. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015, 69, s. 19-25. ISSN 0928-0987.

³³ MIHRANYAN A., FRENNING G., FRANSEN N., WELCH K., STRØMME M.: Order and disorder in powder mixtures: Spatial distribution functions as tools to assess powder homogeneity. *Particle & Particle Systems Characterization*, 2008, 25, s. 397-405. ISSN 1521-4117.

³⁴ KALE K., HAPGOOD K., STEWART P.: Drug agglomeration and dissolution – What is the influence of powder mixing?. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2009, 72, s. 156-164. ISSN 0939-6411.

³⁵ WESTBERG M., NYSTRÖM C.: Physicochemical aspects of drug release XVII. The effect of drug surface area coverage to carrier materials on drug dissolution from ordered mixtures. *International Journal of Pharmaceutics*, 1993, 90 (1), s. 1-17. ISSN 0378-5173.

³⁶ LOH Z. H., SAMANTA A. K., HENG P. W. S.: Overview of milling techniques for improving the solubility of poorly water-soluble drugs. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 2015, 10, s. 255-274. ISSN 1818-0876.

-
- ³⁷ KAZEMI ARASH: Particle size reduction of pharmaceutical carriers: study of factors influencing milling efficiency. Charles University, Tor Vergara University of Rome, Diploma Thesis, 2021, 50 s.
- ³⁸ JIRÁSKOVÁ J., ONDŘEJÍČEK P., WOLASCHKA T., ŘEHULA M., RABIŠKOVÁ M.: Aplikační možnosti disoluční metody s průtokovou celou. *Chemické listy*, 2015, 109 (1), s. 34-40. ISSN 1213-7103.
- ³⁹ ČESKÝ LÉKOPIS 2017. 2017, Praha: Grada Publishing, a. s., 4904 s., ISBN 978-80-271-0500-7. Kapitola 5.17.1. Doporučení pro zkoušku disoluce, s. 839.
- ⁴⁰ BUNES SUTHER A.: Study of the influence of hydrophilic carriers on the dissolution rate of a BCS II drug. Charles University. Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Diploma Thesis, 2021, 72 s.
- ⁴¹ SLÁMOVÁ M., PRAUSOVÁ K., EPIKARDISOVÁ J., BROKEŠOVÁ J., KUENTZ M., PATERA J., ZÁMOSTNÝ P.: Effect of co-milling on dissolution rate of poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 2021, 597. ISSN 0378-5173.
- ⁴² KÜRTI L., KUKOVECZ Á., KOZMA G., AMBRUS R., DELI M., SZABÓ-RÉVÉSZ P.: Study of the parameters influencing the co-grinding process for the production of meloxicam nanoparticles. *Powder Technology*, 2011, 212, s. 210-217. ISSN 0032-5910.
- ⁴³ ROWE R. C., SHESKEY P. J., QUINN M. E.: *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6. vydání, 2009. Londýn; Washington DC: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 888 s., ISBN 978 0 85369 792 3 (UK); 978 1 58212 135 2 (USA). SINGH KK: Carrageenan. s. 122-126.
- ⁴⁴ SEDLÁKOVÁ M., RABIŠKOVÁ M., SPILKOVÁ J.: Přírodní polymery pro formulaci hydrofilních matricových tablet. *Česká a Slovenská Farmacie*, 2006, 55 (1), s. 4-11. ISSN 1803-6597.
- ⁴⁵ RABIŠKOVÁ M., FRIČOVÁ V.: Perorální formy s řízeným uvolňováním léčiv. *Praktické lékařství*, 2008, 4 (4), s. 186-190. ISSN 1803-5329.