

BIORELEVANTNÍ DISOLUČNÍ MEDIA SIMULUJÍCÍ PODMÍNKY TRÁVICÍHO TRAKTU

BARBORA VRANÍKOVÁ, ALEŠ FRANC, JAN GAJZDIOK a DAVID VETCHÝ

Ústav technologie léků, Farmaceutická fakulta, Veterinární a Farmaceutická Univerzita Brno, Palackého třída 1 – 3, 612 42 Brno

vranikovab@vfu.cz, franca@vfu.cz, gajdziokj@vfu.cz, vetchy@email.cz

Došlo 25.2.15, přepracováno 26.5.15, přijato 26.6.15.

Klíčová slova: biorelevantní disoluční media simulující trávicí trakt, momentální média, disoluční zkouška, gastrointestinální trakt, pufr, enzymy, pH

Obsah

1. Úvod
2. Fyziologické podmínky trávicího traktu
 - 2.1. Žaludek „nalačno“
 - 2.2. Žaludek „po jídle“
 - 2.3. Tenké střevo „nalačno“
 - 2.4. Tenké střevo „po jídle“
3. Lékopisná disoluční média
 - 3.1. Umělá žaludeční šťáva (SGF)
 - 3.2. Umělá střevní šťáva (SIF)
4. Biorelevantní disoluční média
 - 4.1. Umělá žaludeční šťáva simulující stav „nalačno“ (FaSSGF)
 - 4.2. Umělá střevní šťáva simulující stav „nalačno“ (FaSSIF)
 - 4.3. Umělá žaludeční šťáva simulující stav „po jídle“ (FeSSGF)
 - 4.4. Umělá střevní šťáva simulující stav „po jídle“ (FeSSIF)
 - 4.5. Bifázická disoluční metoda simulující absorpci biologickými membránami gastrointestinálního traktu
5. Závěr

1. Úvod

V současné době je stále nejoblíbenějším a nejrozšířenějším způsobem aplikace většiny systémově působících léčiv jejich perorální podání ve formě pevného léku, zejména tablety či tobolky. Předpokladem adekvátního terapeutického účinku je zde dostatečná biologická dostupnost léčiva. Ta je v organismu podmíněna jednak vlast-

nostmi samotného léku, zejména rychlostí rozpadu a rozpuštění a množstvím pro absorpci dostupného uvolněného léčiva, a dále prostupností léčiva biologickými membránami gastrointestinálního traktu (dále jen GIT), zejména žaludku a tenkého střeva¹. K posouzení množství a rychlosti uvolňování léčiva v podmínkách *in vitro* slouží tzv. zkouška disoluce. Lék se zde testuje v předepsané kapalině a předepsaném čase a výsledek zkoušky podává informace nejen o kinetice uvolňování účinné látky, ale také o rovnoměrnosti, resp. úplnosti uvolňování léčiva z jednotlivých dávkových jednotek a v některých případech i o prostupnosti biologickými membránami. Výsledkem je tzv. disoluční profil léčiva, který patří mezi základní charakteristiky lékové formy a je ovlivněn především použitými pomocnými látkami, výrobním procesem a konečnými parametry testované lékové formy.

Při návrhu disolučního testu je nutné brát v úvahu nejen parametry samotné disoluční metody (zejména rychlost míchání; tvar míchadla – košíčky, pádla a množství odběrových bodů v daném čase), ale i vlastnosti disolučního média (především jeho objem, teplotu, pH, viskozitu, iontovou sílu, přítomnost enzymů a povrchově aktivních látek). Zároveň je třeba posoudit i fyzikálně-chemické vlastnosti testovaného léčiva (především jeho rozpustnost ve vodě a v tucích a acidobazické vlastnosti – hodnotu disociační konstanty pK_a)^{2,3}. Původně byla disoluční zkouška prováděna s cílem kontrolovat kvalitu lékových forem, avšak dnes se při jejím použití klade důraz i na předvídání biologické dostupnosti léčiva. V tomto případě je třeba přiblížit disoluční podmínky co nejvíce fyziologickým hodnotám GIT. Z tohoto důvodu se pozornost v posledních letech zaměřuje na tzv. „biorelevantní disoluční média“, která svými vlastnostmi simulují podmínky zejména v žaludku a v tenkém střevě, kde dochází ke vstřebávání léčiv, a to jak „nalačno“ (tzn. půl hodiny před nebo nejméně 2 hodiny po jídle), tak po konzumaci potravy, tedy „po jídle“⁴. Při jejich použití u disolučního testování lze pak hovořit o tzv. „biorelevantní disoluční metodě“.

2. Fyziologické podmínky GIT

2.1. Žaludek „nalačno“

Průměrné hodnoty pH v žaludku se zpravidla pohybují v rozmezí od 1,5 do 1,9, avšak díky výrazné interindividuální variabilitě mohou být u některých jedinců naměřeny hodnoty nižší než 1,0 nebo naopak vyšší, až kolem 5–6. Kyselost žaludeční šťávy je způsobena přítomností fyziologicky secernované kyseliny chlorovodíkové. Informace o koncentraci pepsinu v žaludku „nalačno“ se značně liší. Běžná žaludeční produkce pepsinu je okolo 0,8 mg ml⁻¹ (cit.⁵), avšak v literatuře je možné najít hodnoty v rozmezí

0,1–1,3 mg ml⁻¹ (cit.⁶). V žaludku „nalačno“ se nachází přibližně 25 ml tekutiny, kde celkové množství pepsinu činí okolo 20 mg. Polknutím léčiva a jeho zapitím doporučenou sklenicí vody (250 ml) se koncentrace pepsinu naředí na přibližně 0,08 mg ml⁻¹, což je desetina původní hodnoty. V žaludeční šťávě je dále obsažena žaludeční lipáza v základní koncentraci okolo 0,1 mg ml⁻¹. Tento enzym je aktivní v rozmezí pH mezi 3 až 6, a proto jeho přítomnost není pro disoluční zkoušku simulující žaludeční prostředí „nalačno“ nezbytná. Průměrná koncentrace žlučových solí, které se do žaludku dostanou díky refluxu z tenkého střeva, je přibližně 50–110 μM. Povrchové napětí žaludeční tekutiny se pohybuje v rozmezí 35–50 mN m⁻¹. Osmolarita šťáv se nachází okolo 200 mosm kg⁻¹. Nejčastěji zastoupené ionty jsou sodné (70 mM), draselné (15 mM) a chloridové (100 mM)^{5,7}.

2.2. Žaludek „po jídle“

Uvádí se, že pH v žaludku „po jídle“ je v rozmezí 3 až 7. Koncentrace pepsinu je obvykle vyšší než před jídlem a pohybuje se v hodnotách mezi 0,26–1,72 mg ml⁻¹, zatímco koncentrace žlučových solí je přibližně 0,06 mM. Povrchové napětí obsahu žaludku „po jídle“ je přibližně 30 mN m⁻¹ a jeho osmolarita odpovídá hodnotě kolem 559 mosm kg⁻¹ (po 30 min) a s časem klesá⁶. Hodnocením vlastností žaludeční šťávy „po jídle“ se zabývali Kalantzi a spol.⁸. Zjistili, že 30 min po dodání kapalné potravy v podobě přípravku Ensure[®] Plus, což je tekutá strava o výživné hodnotě 1,53 kcal ml⁻¹, je pH v žaludku přibližně 6,4 s nízkou interindividuální variabilitou. Časem pH klesá (po 210 min je pH okolo 2,7) a variabilita se zvětšuje⁸.

2.3. Tenké střevo „nalačno“

Tenké střevo se skládá ze tří částí (dvanáctníku, lačnicku a kyčelníku) a hodnota pH se v jednotlivých částech liší. V dvanáctníku se pohybuje v rozmezí 6–6,5 (cit.^{9,10}), v lačnicku okolo 6,8 (cit.¹⁰) a v kyčelníku pak dosahuje až hodnoty 7,4 (cit.¹¹). Do tenkého střeva se denně dostane okolo 1,0–1,5 dm³ pankreatických šťáv s obsahem trávicích enzymů, z nichž nejpodstatnější jsou amylasa, trypsin, chymotrypsin, karboxypeptidasa, lipasa, esterasa a ribonukleasa. Dále sem ze žlučníku doputuje 0,5–1 dm³ žluči obsahující žlučové soli v koncentraci přibližně 0,6 až 17 mM, které napomáhají emulgaci a absorpci zejména lipofilních látek^{6,10}. Koncentrace produktů lipolýzy (především monoglyceridů a volných mastných kyselin) se v tenkém střevě pohybuje v rozmezí 0–1,8 mg ml⁻¹ a fosfolipidů okolo 0,03–0,6 mM. Povrchové napětí střevní tekutiny je 28–46 mN m⁻¹ a osmolarita v rozmezí hodnot 124–278 mosm kg⁻¹ (cit.⁶).

2.4. Tenké střevo „po jídle“

Hodnoty pH v tenkém střevě „po jídle“ se mohou v závislosti na čase pohybovat v rozmezí 3–7 se střední hodnotou okolo 5. Stejně jako v případě žaludku,

i v tenkém střevě dochází nejprve k nárůstu pH střevního obsahu a s postupem času jeho hodnota klesá. Koncentrace žlučových solí „po jídle“ je mezi 1,6–40 mM. Monoglyceridy a volné mastné kyseliny se zde nacházejí v množství 0,5 až 100 mg ml⁻¹ a fosfolipidy v koncentraci 0,8–3 mM. Povrchové napětí odpovídá hodnotám okolo 27 až 37 mN m⁻¹ a jeho osmolarita je v rozmezí 250–367 mosm kg⁻¹ (cit.⁶).

3. Lékopisná disoluční média

Lékopisná disoluční média byla navržena pro kontrolu kvality lékové formy a obvykle jsou nedostačující pro provedení *in vitro* – *in vivo* korelace u špatně rozpustných léčivých látek. Jejich složení totiž nebere v úvahu fyziologické podmínky v GIT. Klasická pádlová nebo košíčková metoda je dle Lékopisu¹² prováděna obvykle při teplotě 37,0 ± 0,5 °C za použití 500–1000 ml disolučního média. Disoluční média popsána v Evropském lékopise jsou založena pouze na bázi vodných tlumivých roztoků¹². Tato média jsou vhodná pro simulování pH v GIT v rozmezí 1,2 až 6,8, ale už nereflektují další aspekty, jako je např. osmolarita, iontová síla, viskozita a povrchové napětí, které mohou výrazně ovlivňovat průběh uvolňování léčiva z lékové formy a jeho následné rozpouštění¹³. Navíc tyto vodné tlumivé roztoky nemohou být použity k simulování podmínek v GIT po podání potravy, která může mít výrazný vliv na uvolňování především ve vodě špatně rozpustných účinných látek¹⁴.

3.1. Umělá žaludeční šťáva (SGF)

Umělá žaludeční šťáva (simulated gastric fluid, dále jen SGF) je lékopisným médiem, které je obvykle první volbou pro simulování podmínek v žaludku „nalačno“. Toto médium má pH 1,2, povrchové napětí blízké vodě (okolo 68 mN m⁻¹) a obsahuje 2 g chloridu sodného, 3,2 g práškového pepsinu a 80 ml 1M kyseliny chlorovodíkové doplněných vodou na 1000 ml roztoku¹². Hodnoty pH a povrchového napětí ovšem neodpovídají reálné fyziologické hodnotě. Proto Dressman a spol.¹⁵ a Galia a spol.¹⁶ navrhli přidat syntetické povrchové aktivní látky, jako je laurylsíran sodný nebo TritonX[®] 100 a přiblížit se tak fyziologickému povrchovému napětí. Tato média se však ukázala jako nevhodná, protože vykazovala vyšší rozpouštěcí kapacitu, než je tomu za fyziologických podmínek¹⁷.

3.2. Umělá střevní šťáva (SIF)

Evropský lékopis uvádí rovněž složení umělé střevní šťávy (simulated intestinal fluid, dále jen SIF), která se používá jako základní disoluční médium pro stanovení liberace v horní části tenkého střeva. Médium mělo původně pH 7,5, avšak na základě zkoumání fyziologického pH v GIT bylo zjištěno, že tyto hodnoty je možné naměřit až v koncové části kyčelníku. Jelikož uvolňování a absorp-

ce léčiv probíhá spíše v horních částech tenkého střeva, bylo pH v roce 1996 sníženo na 6,8 (cit.⁴). SIF obsahuje 6,8 g dihydrogenfosforečnanu draselného, 77 ml hydroxidu sodného 0,2 mol l⁻¹ a 10 g práškového pankreatinu na 1000 ml roztoku¹².

4. Biorelevantní disoluční média

Ve snaze maximálně napodobit výše popsané fyziologické podmínky GIT, především žaludku a tenkého střeva, byla počátkem tisíciletí navržena tzv. biorelevantní disoluční média. Ta kromě běžně používaných vodných tlumivých roztoků obsahují další složky, které se nacházejí v GIT. Možnost použití biorelevantních disolučních médií pro provedení disoluční zkoušky zmiňuje aktualizace Amerického lékopisu (USP) ze začátku roku 2014 (update <1092>)¹⁸. V Evropském lékopise a tím pádem i v českém, který článek o disoluci beze změny přejímá, však tato média zatím uvedena nejsou.

Tabulka I
Složení FaSSGF (cit.⁷)

Složení	FaSSGF
Pepsin, mg ml ⁻¹	0,1
Taurocholát sodný, μM	80,0
Lecitin, μM	20,0
Chlorid sodný, mM	34,2
Povrchové napětí, mN m ⁻¹	42,6
Osmolarita, mosm kg ⁻¹	120,7 ± 2,5
pH	1,6

Tabulka II
Složení FaSSIF dle různých autorů

Složení	Galia ²²	Sunsen ²³	Marques ²⁴	Jantratid ²¹
Taurocholát sodný / žlučové soli, mM	3,0	6,3	3,0	3,0
Lecitin, mM	0,75	1,25	0,75	0,2
KH ₂ PO ₄ , mM	28,7	29,0	–	–
KCl, g/1000 ml	7,7	–	–	–
NaOH, mM	–	–	4,4	34,8
NaCl, mM	–	–	–	68,6
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O, g/1000 ml	–	–	1,977	–
Kyselina maleinová, mM	–	–	–	19,12
pH	6,5	6,8	6,5	6,5
Osmolarita, mosm kg ⁻¹	270,0 ± 10,0	–	~ 270,0	180,0 ± 10,0

4.1. Umělá žaludeční šťáva simulující stav „nalačno“ (FaSSGF)

V roce 2005 Vertzoni a spol.⁷ navrhli složení tzv. umělé žaludeční šťávy simulující stav „nalačno“ (fasted state simulated gastric fluids, dále jen FaSSGF) (tab. I). Ke snížení povrchového napětí byly v tomto médiu použity fyziologické soli žlučových kyselin, speciálně taurocholát sodný, avšak Aburub a spol.¹⁹ později navrhli jejich záměnu za syntetický laurylsíran sodný. Tím ovšem, stejně jako u SGF, byla výrazně zvýšena rozpouštěcí kapacita média.

Pro provedení biorelevantní disoluční zkoušky je v tomto případě vhodné upravit i objem média. Sekrece tekutin v žaludku „nalačno“ je obvykle nízká (okolo 25–30 ml). Vezme-li se v úvahu, že léčivý přípravek má být po podání zapit 250 ml vody, je rozumným objemem pro testování 200–300 ml (cit.⁴). Toto množství média se však nehodí pro klasickou pádlovou, či košíčkovou metodu kvůli špatné reprodukovatelnosti celé zkoušky. Pro objemy menší než 300 ml je proto doporučováno použít tzv. „mini-pádlovou metodu“²⁰, která nabízí dobrou reprodukovatelnost disoluční zkoušky i při použití nižších objemů média.

4.2. Umělá střevní šťáva simulující stav „nalačno“ (FaSSIF)

Složení a vlastnosti umělé střevní šťávy simulující stav „nalačno“ (fasted state simulated intestinal fluids, dále je FaSSIF) byly navrženy na základě množství žlučových solí a koncentrace lecitinu a pH v lidském GIT. Její tlumivá kapacita byla ověřena na psech²¹. Kromě běžného fosforečnanového tlumivého roztoku, který upravuje pH na hodnoty naměřené ve střední části dvanáctníku a na začátku kyčelníku, obsahuje FaSSIF také žlučové soli a fosfolipidy (lecitin), které usnadňují smáčení pevných látek a tvorbou micel zvyšují rozpustnost lipofilních léčiv⁴.

Jako zástupce žlučových solí byl, stejně jako v případě FaSSGF, použit taurocholát sodný, protože kyse-

lina cholová je jednou z převládajících žlučových kyselin v lidské žluči. Navíc taurocholát má nízkou hodnotu pK_a , čímž se snižuje riziko vysrážení léčiva nebo změny velikosti micel, ve kterých je léčivo solubilizováno. Změny velikosti micel jsou zde způsobeny drobnými odchylkami v pH, typickými pro proximální část tenkého střeva (pH 4 až 7)⁴. V závislosti na výsledcích novějších studií fyziologických podmínek v GIT, navrhli Jantratid a spol.²¹ vylepšené složení FaSSIF označované jako FaSSIF verze 2. Změny se týkají především snížení koncentrace lecitinu a snížení osmolarity změnou druhu použitého tlumivého roztoku. Hodnota pH zůstala stejná, ale namísto dihydrogenfosforečnanu sodného byla použita kyselina maleinová. Příklady složení používaných umělých střevních šťáv simulujících stav nalačno jsou uvedeny v tab. II.

Doporučený objem média pro disoluční zkoušku je v případě FaSSIF ≤ 500 ml. To odpovídá objemu tekutiny v tenkém střevě po podání 250 ml vody, což je přibližně 300–500 ml, kde lze již použít běžné lékopisné zařízení⁴.

Příkladem vhodnosti použití FaSSIF jako disolučního média může být výrazná změna v disolučním profilu špatně rozpustného antidiabetika glibenklamidu v SIF (dle USP 28). V biorelevantním médiu (FaSSIF – složení uvedeno v tab. II dle Galia a spol.²²) pak došlo během 90 min k uvolnění více než dvojnásobného množství léčiva ($\sim 60\%$) v porovnání s původním médiem ($\sim 27\%$)¹³.

4.3. Umělá žaludeční šťáva simulující stav „po jídle“ (FeSSGF)

Ve stavu „po jídle“ je složení žaludečního obsahu vysoce závislé na složení potravy. Původně proto byla jako biorelevantní médium pro simulování podmínek v žaludku „po jídle“ zvažována homogenizovaná strava, podávaná v průběhu klinických studií, která se skládá z 500–600 kcal tuků, přibližně 150 kcal proteinů a 250 kcal sacharidů. Avšak kvůli problematickému hodnocení obsahu léčiva byla nahrazena plnotučným mlékem, nebo přípravkem Ensure® Plus. Ten má, stejně jako plnotučné mléko, pH (přibližně 6,5) a další fyzikálně-chemické

vlastnosti podobné standardnímu jídlu doporučenému americkou FDA pro stanovování biologické dostupnosti a bioekvivalence²¹. Obě média však mají i své nevýhody, jako je např. nepřítomnost pepsinu, nedostačující stabilita mléka při teplotě 37 °C, a proto se začalo používat již tepelně ošetřené mléko. Nicméně variabilita a složení mléka (výrobce, roční období) trvá⁴. Hlavním problémem při napodobování fyziologických podmínek v žaludku „po jídle“ je však změna složení jeho obsahu v průběhu procesu trávení a průběžného vyprazdňování žaludku. K napodobení této skutečnosti se nabízí přidávat do tepelně upraveného mléka (popř. do Ensure® Plus) kyselý roztok pepsinu.

Dalším přístupem může být použití několika tzv. „momentálních (snapshot) médií“ (tzn. více médií s rozdílným složením), z nich každé odpovídá určitému časovému období po podání jídla²¹. „Momentální média“ se obvykle skládají ze tří fází – brzké, střední a pozdní, jejichž složení je uvedeno v tab. III. První z médií má pH 6,4 a neobsahuje acetátový tlumivý roztok, druhé médium odpovídá složení umělé žaludeční šťávy simulující stav po jídle (fed state simulated gastric fluids, dále jen FeSSGF) navržené Jantratidem a spol.²¹. Poslední disoluční médium má pH 3 a obsahuje mléko a acetátový tlumivý roztok v poměru 1:3.

Příkladem použití FeSSGF může být studie Shono a spol. Hodnocení rozpustnosti nesteroidního antiflogistika celekoxibu ukázalo, že je více rozpustný v FeSSGF (okolo 0,12 mg ml⁻¹) v porovnání s SGF nebo FaSSGF (méně než 0,003 mg ml⁻¹)²⁵.

4.4. Umělá střevní šťáva simulující stav po jídle (FeSSIF)

Rovněž uvolňování léčiva v tenkém střevě může být ovlivněno příjmem potravy. Hodnota pH střevní šťávy se snižuje v důsledku přítomnosti tráveniny. Dále dochází k navýšení její tlumivé kapacity a osmolarity. Ve snaze přiblížit se fyziologickým podmínkám bylo navrženo složení umělé střevní šťávy simulující stav „po jídle“ (fed

Tabulka III

Složení „momentálních (snapshot) médií“ pro simulaci stavu v žaludku „po jídle“²¹

Složení	Brzká fáze	FeSSGF (střední fáze)	Pozdní fáze
Kyselina octová, mM	–	17,12	–
Octan sodný, mM	–	29,75	–
Mléko/pufr	1:0	1:1	1:3
Chlorid sodný, mM	148	237,02	122,6
Dihydrogenfosforečnan sodný, mM	–	–	32,0
Kyselina orthofosforečná, mM	–	–	5,5
HCl/NaOH	q.s. pH 6,4	q.s. pH 5,0	q.s. pH 3,0
Osmolarita, mosm kg ⁻¹	559,0	400,0	300,0
pH	6,4	5,0	3,0

Tabulka IV

Složení umělé žaludeční šťávy simulující stav nalačno dle různých autorů

Složení	Galia ²²	Sunsen ²³	Marques ²⁴	Jantratid ²¹
Taurocholát sodný / žlučové soli, mM	15,0	18,8	15,0	10,0
Lecitin, mM	3,75	3,75	3,75	2,0
Kyselina octová, g/1000 ml	8,65	–	8,65	–
KCl, g/1000 ml	15,2	–	–	–
NaOH, mM	–	–	101,00	81,65
NaCl, mM	–	–	203,1	125,5
Kyselina maleinová, mM	–	–	–	55,02
Trizma [®] maleate, mM	–	12,0	–	–
Volné mastné kyseliny, mM	–	30	–	0,8
Monoglyceridy, mM	–	4	–	5
H ₂ O, ml	ad 1000,0	–	ad 1000,0	–
pH	5,0	5,5 ± 0,4	5,0	5,8
Osmolarita, mosm kg ⁻¹	635,0 ± 10	–	~ 670,0	390,0 ± 10,0

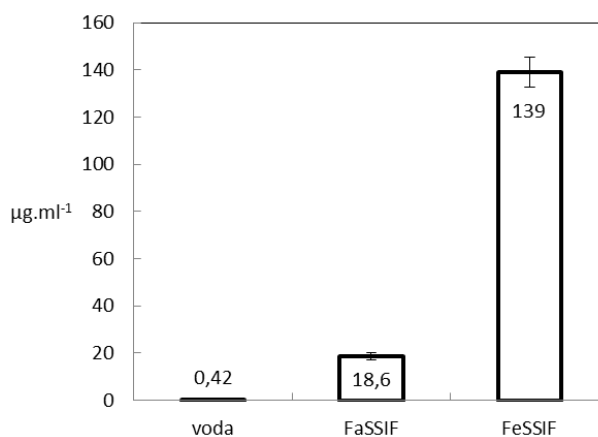
state simulated intestinal fluids, dále jen FeSSIF). FeSSIF obsahuje acetátový tlumivý roztok, který umožňuje navýšit tlumivou kapacitu a osmolaritu, a přitom zachovat nižší hodnoty pH, vystihující reálné fyziologické podmínky v tenkém střevě. Stejně jako FaSSIF obsahuje taurocholát sodný a lecitin, avšak ve vyšší koncentraci, která lépe odpovídá zvýšené sekreci žluči. Vhodný objem média je zde 1 dm³, což odpovídá reálnému objemu střevního obsahu⁴.

Stejně jako v případě FaSSIF navrhli Jantratid a spol.²¹ inovované složení FeSSIF označované jako FeSSIF verze 2. V médiu byla navýšena hodnota pH, snížena koncentrace lecitinu a taurocholátu sodného, dále byl přidán glycerol monooleát a oleát sodný (zástupci produktů lipolýzy, které v původní verzi chyběly) a jako tlumivý roztok byl stejně jako u FaSSIF verze 2 použit maleinový tlumivý roztok. Příklady složení používaných umělých FeSSIF jsou uvedeny v tab. IV.

Rozpustnost „nalačno“ a „po jídle“ může být, především v případě ve vodě špatně rozpustných léčivých látek, odlišná. Příkladem může být např. léčivo danazol, jehož rozpustnost je v FeSSIF vyšší než ve FaSSIF nebo ve vodě (obr. 1)²³. Stejný jev byl pozorován také u celecoxibu, kde jeho rozpustnost ve FeSSIF a FeSSIF verze 2 byla vyšší než ve FaSSIF, FaSSIF verze 2 i SIF. Poměr mezi rozpustností ve FaSSIF a FeSSIF byl roven 2,4, zatímco u FaSSIF verze 2 a FeSSIF verze 2 byl poměr rozpustnosti až 8,9 (cit.²⁵).

Pro napodobení fyziologických změn po podání potravy v závislosti na čase je ideální použít několik „momentálních médií“, která simulují změny v pH a složení střevní tekutiny v průběhu trávení (tab. V)²¹.

Novinkou na světovém trhu jsou práškové verze látek pro přípravu biorelevantních disolučních médií (FaSSGF, FaSSIF, FaSSIF verze 2, FeSSIF a FeSSIF verze 2). Jejich použití výrazně usnadňuje přípravu finálního biorelevant-



Obr. 1. Porovnání rozpustnosti danazolu ve vodě, FaSSIF a FeSSIF (dle cit.²³)

ního média. Pomocí kalkulačky uveřejněné na stránce výrobce, je možné snadno zjistit potřebné množství práškového biorelevantního disolučního média, které se pouze rozpustí v požadovaném tlumivém roztoku za vzniku kapalného disolučního média připraveného pro provedení biorelevantní disoluční zkoušky²⁶.

4.5. Bifázická disoluční metoda simulující absorpci biologickými membránami gastrointestinálního traktu

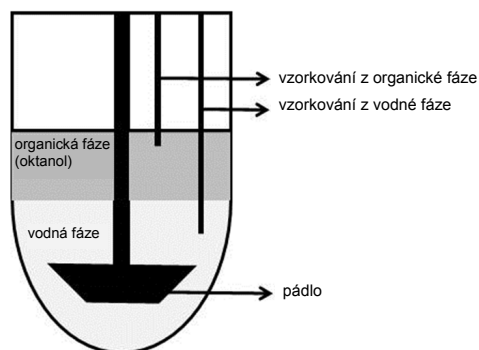
Jakkoliv biorelevantní metody přispěly ke zvýšení vypovídající hodnoty chování léčiv v trávicích šťávách, přesto obvykle neberou v úvahu vstřebávání biologickými

Tabulka V

Složení „momentálních (snapshot) médií“ simulujících stav ve střevech „po jídle“²¹

Složení	Brzká FeSSIF	Střední FeSSIF	Pozdní FeSSIF
Taurocholát sodný, mM	10,0	7,5	4,5
Lecitin, mM	3,0	2,0	0,5
NaOH, mM	52,5	65,3	72,0
NaCl, mM	145,2	122,8	51,0
Kyselina maleinová, mM	28,6	44,0	58,09
Volné mastné kyseliny, mM	40,0	30,0	0,8
Monoglyceridy, mM	6,5	5,0	1,0
pH	6,5	5,8	5,4
Osmolarita, mosm kg ⁻¹	400 ± 10	390 ± 10	240 ± 10

membránami gastrointestinálního traktu. Tuto skutečnost se snažil postihnout Levy²⁷, který navrhl tzv. bifázický disoluční systém, který se skládá ze vzájemně nemísitelné spodní vodné a vrchní organické fáze. Těto metody bylo později s výhodou použito při testování disolucí špatně rozpustných léčiv²⁸. Po rozpuštění léčivé látky ve vodné fázi zde dochází k prostupu do horní organické fáze. Tím zároveň klesá koncentrace léčiva ve spodní, vodné fázi, a umožní se tak zde rozpouštění jeho dalšího podílu. Nakonec dojde k ustavení rovnováhy na základě rozdělovacího koeficientu. Koncentrace v organické fázi pak může být mnohem vyšší, než ve fázi vodné. Nejčastěji se používá systému typu voda – oktanol (obr. 2), a to zejména kvůli vhodným fyzikálně-chemickým vlastnostem oktanolu. Ten zde napodobuje membránové lipidy, přes které v organismu dochází k absorpci některých účinných látek²⁹. Proto se rozdělovacího koeficientu voda/oktanol již dlouho využívá k triviálnímu odhadu biologické dostupnosti léčiv „*in vitro*“, který poskytuje první informaci o tom, s jakou efektivitou bude léčivo prostupovat biologickými membránami ve stěně trávicího traktu³⁰.



Obr. 2. Schématické znázornění bifázického disolučního systému

Muselík a spol.³¹ tuto metodu navrhli pro odhad absorpce solí silných zásad a slabých kyselin. Princip spočívá v tom, že každé léčivo napřed prochází žaludkem, kde vlivem kyseliny chlorovodíkové tyto soli často přecházejí na nerozpustnou kyselou formu, která se v žaludku obtížně rozpouští. Jako modelové léčivo byla použita sodná sůl warfarinu. Pokud se jako vodné médium použije SGF, pak sodná sůl warfarinu přejde na méně rozpustnou protonovanou formu warfarinu, která okamžitě přechází do oktanolové fáze. Výsledkem je disoluční křivka v oktanolu, jejíž profil rámcově odpovídá průběhu plazmatické koncentrace warfarinu v čase po jednorázovém perorálním podání³¹. Ve spojení s biorelevantními médii tyto metody mohou komplexněji přiblížit liberaci i absorpci léčiv v organismu. Dnes existují i speciální automatizované systémy pro testování disolucí ve dvofázových médiích³².

5. Závěr

Od zavedení disoluční zkoušky, jako jednoho z parametrů hodnotících kvalitu lékové formy, prošla disoluční média značným vývojem od destilované vody, přes vodné tlumivé roztoky, umělé žaludeční a střevní šťávy až k biorelevantním formám. Biorelevantní disoluční média simulují fyziologické parametry (např. pH, osmolarita, povrchové napětí, tlumivé kapacity, přítomnost enzymů, apod.) gastrointestinálních tekutin „nalačno“ i „po jídle“. Díky vhodně zvolené *in vitro* biorelevantní disoluční zkoušce je možné určit chování léčiva *in vivo* (resp. lékové formy) v jednotlivých úsecích GIT „nalačno“ nebo „po jídle“ a omezit tak množství nákladných *in vivo* testů.

LITERATURA

1. <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070237.pdf>, staženo 19. ledna 2015.
2. Arzamastsev A. P., Sadchikova N. P., Luttseva T. Y.: Pharm. Chem. J. 37, 37 (2003).

3. Dvořáčková K., Bautzová T., Rabišková M.: Chem. Listy 105, 50 (2011).
4. Klein S.: AAPS J. 12, 397 (2010).
5. Lindahl A., Ungell A. L., Knutson L., Lennernäs H.: Pharm. Res. 14, 497 (1997).
6. Mudie D. M., Amidon G. L., Amidon G. E.: Mol. Pharmaceutics. 7, 1388 (2010).
7. Vertzoni M., Dressman J., Butler J., Hempenstall J., Reppas C.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 60, 413 (2005).
8. Kalantzi L., Goumas K., Kalioras V., Abrahamsson B., Dressman J. B., Reppas C.: Pharm. Res. 23, 165 (2006).
9. Dressman J. B., Berardi R. R., Dermentzoglou L. C., Russell T. L., Schmaltz S. P., Barnett J. L., Jarvenpää K. M.: Pharm. Res. 7, 756 (1990).
10. Zhou D., Qiu Y.: J. Validation Technol. 2009, 62.
11. Fallingborg J.: Dan. Med. Bull. 46, 183 (1999).
12. <http://online6.edqm.eu/ep801/>, staženo 20. ledna 2015.
13. Wei H., Löbenberg R.: Eur. J. Pharm. Sci. 29, 45 (2006).
14. Melander A.: Clin. Pharmacokinet. 3, 337 (1978).
15. Dressman J. B., Amidon G. L., Reppas C., Shah V. P.: Pharm. Res. 15, 11 (1998).
16. Galia E., Horton J., Dressman J. B.: Pharm. Res. 16, 1871 (1999).
17. Vertzoni M., Pastelli E., Psachoulas D., Kalantzi D., Reppas C.: Pharm. Res. 24, 909 (2007).
18. http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/gc_1092.pdf, staženo 2. února 2015.
19. Aburub A., Risley D. S., Mishra D.: Int. J. Pharm. 347, 16 (2008).
20. Klein S., Shah V. P.: AAPS PharmSciTech. 9, 1179 (2008).
21. Jantratid E., Jassen N., Reppas C., Dressman J. B.: Pharm. Res. 25, 1663 (2008).
22. Galia E., Nicolaidis E., Hörter D., Löbenberg R., Reppas C., Dressman J. B.: Pharm. Res. 15, 698 (1998).
23. Sunesen V. H., Pedersen B. L., Kristensen H. G., Müllertz A.: Eur. J. Pharm. 24, 305 (2005).
24. Marques M.: Dissolution Technol. 11, 16 (2004).
25. Shono Y., Jantratid E., Janssen N., Kesisoglou F., Mao Y., Vertzoni M., Reppas C., Dressman J. B.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 73, 107 (2009).
26. <http://biorelevant.com/fassif-fessif-fassgf-dissolution-media/fasted-fed-state-simulated-intestinal-gastric-fluid/how-to-make/>, staženo 2. února 2015.
27. Levy G.: American Pharmaceutical Association, 113th Annual Meeting, Dallas, April 25-29, 1966, Papers Presented Before the Industrial Pharmacy Section (bez editora), str. 233.
28. Shi Y., Gao P., Gong Y., Ping H.: Mol. Pharmaceutics 7, 1458 (2010).
29. Phillips D. J., Pygall S. R., Cooper V. B., Mann J. C.: Dissolution Technol. 19, 25 (2012).
30. Qui Y., Chen Y., Zhang G. G. Z., Liu L., Porter W.: Developing Solid Oral Dosage Forms. Academic Press, New York 2009.
31. Muselík J., Franc A., Goněk R., Vetchý D., Majerčíková D., Ďurovcová V.: 1st European Conference on Pharmaceutics - Drug Delivery, Reims Congress Centre, France, 13–14 April 2015.
32. <http://www.sirius-analytical.com/products/inform>, staženo 10. února 2015.

B. Vraníková, A. Franc, J. Gajdziok, and D. Vetchý (Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno): **Biorelevant Dissolution Media Simulating Conditions in Gastrointestinal Tract**

Dissolution test is used for *in vitro* evaluation of the speed and extent of the drug release from the tested medicinal form. The traditional dissolution test is often unsuitable for the prediction of the complex drug behavior under *in vivo* conditions. Biorelevant dissolution media simulate *in vivo* conditions in the gastrointestinal tract (pH, surface tension, osmolality, buffer capacity, presence of enzymes, etc.), in both the fasting and the fed state. For example, pH of the fasted-state simulated gastric fluid is increased to 1.6 and its maximum recommended volume is 300 mL. Medium also contains bile salt (sodium taurocholate) as the surface active agent. pH of the fasted-state simulated intestinal fluids is decreased to 6.8, and, in addition to sodium taurocholate, this biorelevant medium contains phospholipids (lecithin) which facilitate the wetting of the solids and increase the solubility of lipophilic drugs by micelles formation. The biphasic dissolution medium, which consists of aqueous (classical or biorelevant dissolution medium) and an organic phase (octanol), could be used to simulate drug transfer through biological membranes.