

**VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO**

**FARMACEUTICKÁ FAKULTA**

Ústav technologie léků

***IN VITRO-IN VIVO KORELACE***

Diplomová práce

Brno 2012

Marie Kopecká

Vedoucí diplomové práce:

Doc. PharmDr. et Mgr. David Vetchý, Ph.D.

Ústav technologie léků

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení: **Marie KOPECKÁ**  
Osobní číslo: **F07036**  
Studijní program: **M5206 farmacie**  
Studijní obor: **farmacie**

Název tématu: **In vitro - in vivo korelace**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Literární rešerše
2. Studium literatury zaměřené na danou problematiku
3. Zpracování získaných výsledků a jejich hodnocení
4. Sepsání elaborátu a odevzdání

Seznam vhodné literatury:

D.Vetchý a kolektiv. **Stabilní studie, Bioekvivalenční studie, proces registrace a právní ochrana léčivých přípravků. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2008. 172 s.**  
Český lékopis 2009 a jeho doplňky. Praha: Grada.  
České a zahraniční vědecké a odborné časopisy a monografie.  
Elektronické informační zdroje.

Vedoucí diplomové práce: **Doc. PharmDr. David Vetchý, Ph.D.**  
Ústav technologie léků

Datum zadání diplomové práce: **30. března 2010**

Termín odevzdání diplomové práce: **20. dubna 2012**

*Marie Kopecká*  
.....  
Diplomant

*M. Kopecká*  
.....  
Přednosta ústavu

*David Vetchý*  
.....  
Děkan

V Brně dne 30. března 2010

VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ  
UNIVERZITA BRNO  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA  
DĚKANÁT  
612 42 Brno, Palackého 1/3 2

## **Abstrakt**

Pro vývoj bezpečného a účinného léčiva je důležité dobře porozumět chování lékových forem *in vitro* a *in vivo*. Jedním z cílů farmaceutického výzkumu je určit korelaci dat uvolňování léčiva *in vitro* různých léčivých přípravků s profily léčiva *in vivo*. Diplomová práce shrnuje informace a poznatky o *in vitro-in vivo* korelaci (IVIVC). Definuje IVIVC, zabývá se možnostmi jejího stanovení, validací a použitím. IVIVC pomáhá při výběru disolučních přístrojů a nastavení parametrů disolučních zkoušek. Na základě stanovení IVIVC je možné zažádat o vynechání bioekvivalenčních studií (biowaiver) a tím snížit náklady na vývoj léčiv. Další část diplomové práce uvádí přehled studií zabývajících se IVIVC. Studie léčiv jsou rozděleny podle Biofarmaceutického klasifikačního systému (BCS) do čtyř tříd. Nejvíce studií o IVIVC se týká léčiv zařazených do 1. a 2. třídy BCS.

**Klíčová slova:** *In vitro-in vivo* korelace, disoluce, Biofarmaceutický klasifikační systém, biowaiver, bioekvivalenční studie

## **Abstract**

In order to develop safe and effective drugs, it is important a good understanding of the *in vitro* and *in vivo* performance of the dosage forms. One of the goals of pharmaceutical research is correlating *in vitro* drug release information of various drug formulations to the *in vivo* drug profiles. The diploma thesis summarises information and findings about *in vitro-in vivo* correlation (IVIVC). The diploma thesis describes definitions of IVIVC, possibility of development, validation and application of IVIVC. It helps with the selection of the dissolution apparatus and parameters of the method. If IVIVC is established, it is possible to request for a waiver of an *in vivo* bioequivalence study (biowaiver) and thus cut costs of the drug development. There is a survey of the IVIVC studies in next part of the diploma thesis. These drug studies are divided according the Biopharmaceutical Classification System (BCS) into four classes. Most IVIVC studies are about Class 1 and Class 2 drugs.

**Keywords:** *In vitro-in vivo* correlation, dissolution, Biopharmaceutical classification system, biowaiver, bioequivalence study

**Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně s uvedením použité literatury.

.....

Podpis

## **Poděkování**

Ráda bych na tomto místě poděkovala vedoucímu své diplomové práce  
Doc. PharmDr. et Mgr. Davidu Vetchému, Ph.D. za vstřícný přístup, ochotu, cenné podněty,  
rady a připomínky.

## Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>10</b>
<b>2 Cíl práce .....</b>	<b>12</b>
<b>3 Definice IVIVC .....</b>	<b>13</b>
<b>4 Úrovně IVIVC .....</b>	<b>13</b>
4.1 Korelace na úrovni A .....	13
4.2 Korelace na úrovni B .....	14
4.3 Korelace na úrovni C .....	14
4.4 Vícenásobná korelace na úrovni C .....	15
4.5 Korelace na úrovni D .....	15
4.6 Volba úrovně korelace .....	15
<b>5 Stanovení IVIVC .....</b>	<b>15</b>
5.1 Studium .....	16
5.2 Vytvoření modelu IVIVC na úrovni A .....	16
5.2.1 Jednostupňový model .....	17
5.2.2 Dvoustupňový model .....	17
5.3 Validace IVIVC .....	19
5.3.1 Interní odhad .....	20
5.3.2 Externí odhad .....	20
<b>6 Důležité faktory pro stanovení IVIVC .....</b>	<b>20</b>
6.1 Biofarmaceutický klasifikační systém .....	21
6.2 Disoluce <i>in vitro</i> .....	24
6.2.1 Doporučené disoluční podmínky .....	25
6.2.2 Disoluční média .....	26
6.2.2.1 Média simulující obsah žaludku .....	27
6.2.2.2 Média simulující obsah tenkého střeva .....	28
6.2.2.3 Média simulující obsah tračníku .....	28
6.3 Absorpce <i>in vivo</i> .....	29
6.4 Metabolické faktory .....	29
6.5 Ztráta léčiva v trávicím traktu .....	30
6.6 Stereochemie .....	30
<b>7 Příčiny špatné korelace .....</b>	<b>30</b>
<b>8 Použití IVIVC .....</b>	<b>30</b>
8.1 IVIVC a různé systémy podání .....	30

8.1.1	Enterosolventní lékové formy .....	30
8.1.2	Parenterální lékové formy s prodlouženým uvolňováním .....	31
8.1.3	Bukální tablety .....	31
8.1.4	Transdermální podání.....	31
8.1.5	Čípky .....	31
8.1.6	Nosní podání .....	31
8.1.7	Rektální podání .....	32
8.1.8	Parenterální podání.....	32
8.2	Řízení výroby.....	32
8.3	Specifikace disoluční zkoušky.....	32
8.4	Počáteční stádium vývoje léčiva a jeho optimalizace.....	33
8.5	Vynechání bioekvivalenční studie .....	33
<b>9</b>	<b>Studie léčiv zabývající se IVIVC .....</b>	<b>34</b>
9.1	Studie léčiv zařazených do 1. třídy BCS .....	35
9.1.1	Tablety.....	35
9.1.1.1	Kaptopril .....	35
9.1.1.2	Diltiazem-hydrochlorid.....	35
9.1.1.3	Natrium-divalproát .....	37
9.1.1.4	Levofloxacin .....	38
9.1.1.5	Metoprolol-tartarát.....	38
9.1.1.6	Paracetamol.....	41
9.1.1.7	Pramipexol-dihydrochlorid monohydrát .....	44
9.1.1.8	Salbutamol-sulfát.....	45
9.1.1.9	Theofylin.....	46
9.1.2	Tobolky .....	47
9.1.2.1	Diltiazem-hydrochlorid.....	47
9.1.2.2	Levosimendan.....	48
9.1.2.3	Metoprolol-tartarát.....	49
9.1.3	Bukální tablety .....	51
9.1.3.1	Isosorbid-dinitrát.....	51
9.1.4	Mikročástice .....	52
9.1.4.1	Tramadol-hydrochlorid.....	52
9.1.5	Osmotická pumpa.....	53
9.1.5.1	Tramadol-hydrochlorid.....	53

9.2	Studie léčiv zařazených do 2. třídy BCS .....	53
9.2.1	Tablety.....	54
9.2.1.1	Aceklofenak.....	54
9.2.1.2	Amiodaron-hydrochlorid .....	54
9.2.1.3	Aripiprazol.....	55
9.2.1.4	Cilostazol .....	56
9.2.1.5	Ciprofloxacin .....	57
9.2.1.6	Dipyridamol.....	58
9.2.1.7	Fosamprenavir .....	58
9.2.1.8	Gliklazid .....	59
9.2.1.9	Glimepirid.....	60
9.2.1.10	Glipizid.....	61
9.2.1.11	Lamotrigin.....	63
9.2.1.12	Montelukast.....	63
9.2.1.13	Nevirapin.....	65
9.2.1.14	Olanzapin .....	65
9.2.2	Tobolky .....	66
9.2.2.1	Danazol .....	66
9.2.2.2	Gemfibrozil.....	67
9.2.2.3	Lopinavir.....	68
9.2.2.4	Rifampicin .....	69
9.2.3	Mikročástice .....	70
9.2.3.1	Ibuprofen.....	70
9.2.3.2	Meloxicam.....	71
9.2.3.3	Nimesulid.....	71
9.2.4	Pelety.....	72
9.2.4.1	Diklofenak sodná sůl .....	72
9.3	Studie léčiv zařazených do 3. třídy BCS .....	74
9.3.1	Tobolky .....	74
9.3.1.1	Metformin-hydrochlorid .....	74
9.4	Studie léčiv zařazených do 4. třídy BCS .....	75
9.4.1	Tablety.....	75
9.4.1.1	Norfloxacin .....	75
9.4.2	Tobolky .....	76



9.4.2.1 Ritonavir .....	76
<b>10 Diskuze .....</b>	<b>77</b>
<b>11 Závěr .....</b>	<b>80</b>
<b>12 Seznam použité literatury .....</b>	<b>81</b>
<b>13 Seznam použitých zkratek .....</b>	<b>93</b>

## 1 Úvod

Pro vývoj účinného a bezpečného léčiva je důležité znát přesnou farmakokinetiku. Testování na zvířatech je drahé, nehledě na etické problémy a rozdíly mezi druhy zvířat. Vzhledem k těmto okolnostem je vývoj testů *in vitro* velmi důležitý [1]. Jedním z klíčových cílů farmaceutického průmyslu je dobře porozumět chování lékových forem *in vitro* a *in vivo* a následně určit korelaci dat uvolňování léčiva *in vitro* různých léčivých přípravků s profily léčiv *in vivo* [2].

*In vitro-in vivo* korelace (IVIVC, *In vitro-in vivo* correlation) je matematický vztah mezi vlastnostmi lékové formy *in vitro* a *in vivo* [3]. Pojem *in vitro* znamená v překladu z latiny „ve skle“, týká se testování chemických látek ve zkumavce, v umělých laboratorních podmínkách. Naopak pojem *in vivo* v překladu z latiny znamená „v živém“, týká se tedy testování v živém organismu, lidském nebo zvířecím. Pod pojmem korelace se rozumí hledání vzájemných souvislostí a vztahů mezi jevy [4]. Data uvolňování léčivé látky *in vitro* z lékové formy slouží jako charakteristická vlastnost *in vitro*, zatímco charakteristická vlastnost *in vivo* je zpravidla vyjádřena časovým průběhem plazmatické koncentrace účinné látky. Tato data *in vitro* a *in vivo* jsou potom zpracována ke stanovení korelací. U perorálních lékových forem se zjišťuje uvolňování *in vitro* jako rychlost disoluce. Vztah mezi charakteristikami *in vitro* a *in vivo* může být vyjádřen matematicky pomocí lineární nebo nelineární korelace. Nicméně plazmatická koncentrace nemůže být přímo korelována s rychlostí uvolňování *in vitro*, musí být nejdříve převedena na data uvolňování *in vivo* nebo data absorpce [3].

IVIVC může být použita pro všechny lékové formy léčiv a cesty podání. Úřad pro potraviny a léčiva (FDA, Food and Drug Administration) publikoval směrnici o IVIVC pro přípravky s okamžitým uvolňováním a pro přípravky s prodlouženým uvolňováním. IVIVC je nejpoužívanější pro perorální přípravky a lékové formy s prodlouženým uvolňováním [5].

IVIVC je důležitá pro vývoj léčiv a optimalizaci přípravku. Optimalizace přípravku zahrnuje změny ve složení přípravku, výrobním zařízení, velikosti dávek a změny ve výrobě [3]. Pokud jsou tyto změny provedeny, jsou požadovány studie biologické dostupnosti na zdravých dobrovolnících, aby se prokázala bioekvivalence nového přípravku se starším. Tento požadavek zpozdí uvedení léčivého přípravku na trh, zabere čas a zvýší náklady na optimalizaci přípravku. Proto byla vydána směrnice za účelem minimalizace nutnosti provádět studie biologické dostupnosti jako součást vývoje přípravku. Tuto směrnici vydala FDA jako směrnici o IVIVC. Uvádí, že hlavním cílem vývoje a vyhodnocení IVIVC je

možnost použít disoluční test jako náhradu studií biologické dostupnosti. Tím se sníží počet požadovaných bioekvivalenčních studií během vývoje léčiv [1].

## 2 Cíl práce

Cílem diplomové práce je shrnout informace a poznatky o *in vitro-in vivo* korelaci a zpracovat přehled studií, které se touto problematikou zabývají.

V první části uvést definici IVIVC, úrovně IVIVC, postupy stanovení IVIVC, faktory, které IVIVC ovlivňují a použití IVIVC. V další části diplomové práce pak popsat studie léčiv, které se IVIVC zabývají a tyto studie rozdělit podle Biofarmaceutického klasifikačního systému, který je jedním z důležitých faktorů pro stanovení korelace.

### 3 Definice IVIVC

IVIVC má dvě různé definice, jedna je striktně matematická a druhá biofarmaceutická.

Matematicky je korelace míra vztahu mezi dvěma nebo více kvantitativními veličinami. Lineární korelace je charakterizovaná směrnici přímky a úsekem, který přímka vytvoří na svislé ose. Přesnost vztahu je posuzována pomocí koeficientu korelace.

Z biofarmaceutického hlediska znamená korelace vztah pozorovaný mezi parametry odvozenými z *in vitro* a *in vivo* studií bez ohledu na matematickou definici.

Rozdílné definice IVIVC byly navrženy Mezinárodní farmaceutickou federací (FIP, International Pharmaceutical Federation), pracovní skupinou Pharmacopeia Spojených států amerických (USP, United States Pharmacopeia) a agenturami jako například FDA nebo Evropská léková agentura (EMA, European Medicines Agency) [5].

FDA definuje IVIVC takto: Prediktivní matematický model popisující vztah mezi vlastností léčiva s prodlouženým uvolňováním *in vitro* (obvykle rychlost nebo rozsah uvolňování léku) a odpovídající odezvy *in vivo* (např. plazmatická koncentrace nebo množství absorbovaného léku) [6].

USP uvádí následující definici: Stanovení vztahu mezi biologickou vlastností nebo parametrem odvozeným z biologické vlastnosti lékové formy a fyzikálně chemickou vlastností téže lékové formy [5].

Naproti tomu Evropská agentura (European Agency) používá termín v různých směrnících bez přesné definice [5].

### 4 Úrovně IVIVC

Směrnice FDA definuje pět úrovní IVIVC. Pojetí úrovně korelace je založené na schopnosti korelace vyjadřovat kompletní plazmatický profil úrovně, který vyplývá z podávání daných lékových forem. Jedná se o vztah mezi disoluční křivkou *in vitro* a křivkou plazmatické koncentrace *in vivo*. Tento vztah definuje korelaci [1].

#### 4.1 Korelace na úrovni A

Je to nejvyšší úroveň korelace, která reprezentuje vztah mezi rychlostí disoluce *in vitro* a absorpcí léčiva *in vivo*. Korelace na úrovni A je obvykle lineární. Křivka disoluce *in vitro* a křivka absorpce *in vivo* se mohou překrývat přímo (jsou v poměru 1 : 1) nebo je lze překrýt s použitím vhodného měřítka [1, 7]. Může se také jednat o korelaci nelineární, která

není tak běžná [8]. Procenta absorbovaného léčiva mohou být vypočítána pomocí matematických operací jako je Wagner-Nelsonova metoda nebo Loo-Riegelmanova metoda nebo numerická dekonvoluce.

Účelem korelace na úrovni A je definovat přímý vztah dat *in vitro* s daty *in vivo* takový, že měření samotné rychlosti disoluce *in vitro* a určení disoluční křivky může sloužit jako náhražka křivky *in vivo*. Proto změna ve výrobě, metodě výroby, změna dodavatele materiálu, menší úprava přípravku nebo dokonce změna v síle přípravku může být provedena bez nutnosti provést bioekvivalenční studii. Je to vhodná kontrola jakosti, protože odhaduje účinek lékové formy *in vivo* [1].

#### 4.2 Korelace na úrovni B

Tato úroveň korelace využívá principy statistické momentové analýzy. Střední doba disoluce přípravku *in vitro* (MDT, mean *in vitro* dissolution time) je doba, za kterou se léčivo rozpustí v disolučních podmínkách *in vitro*. MDT se porovnává buď se střední retenční dobou *in vivo* (MRT, mean *in vivo* residence time) nebo se střední dobou disoluce *in vivo*. Ačkoli IVIVC úrovně B užívá všechna data *in vitro* a *in vivo*, není považována za vícebodovou korelaci, protože více různých křivek *in vivo* může mít podobné hodnoty MRT. Tato úroveň nevyjadřuje aktuální křivku plazmatické koncentrace *in vivo*. Proto nelze spoléhat na to, že korelace na úrovni B předpoví účinek změněného přípravku, změny výroby, změny složení atd. Navíc data *in vitro* z této úrovně korelace nemohou být použita pro nastavení změn ve standardech kontroly jakosti a je nejméně vhodná pro regulační účely [6, 7].

#### 4.3 Korelace na úrovni C

Tato úroveň stanovuje vztah mezi farmakokinetickým parametrem (AUC,  $T_{\max}$  nebo  $C_{\max}$ ) *in vivo* a dobou nezbytnou pro disoluci daného množství léčiva (např. T50%, T90%) *in vitro* [1, 6].

AUC – plocha pod křivkou plazmatických koncentrací léčivé látky

$C_{\max}$  – maximální plazmatická koncentrace

$T_{\max}$  – čas, který uběhne mezi podáním léčivého přípravku a okamžikem, kdy je pozorována

$C_{\max}$  [9]

Korelace na úrovni C neodráží kompletní tvar křivky plazmatické koncentrace, což je kritický faktor určující účinnost léčivých přípravků s prodlouženým uvolňováním. Jedná se

o slabou úroveň korelace, která stanoví jenom částečný vztah mezi absorpcí a disolucí. Vzhledem k těmto omezením je korelace na úrovni C limitována v předpovědi účinku léčiva *in vivo*.

Podobně jako u korelace na úrovni B i u této úrovně korelace nemohou být výsledná data použita při změnách výroby a při nastavení standardů kontroly jakosti. Korelace na úrovni C může být užitečná v počátečních fázích vývoje přípravku, kdy jsou vybírány pilotní přípravky. Při použití korelace na úrovni C nelze zpravidla vynechat bioekvivalenční studie *in vivo* [1, 6].

#### **4.4 Vícenásobná korelace na úrovni C**

Tato korelace uvádí do vztahu jeden nebo několik farmakokinetických parametrů ( $C_{max}$ , AUC nebo jiné vhodné parametry) s množstvím uvolněného léčiva v několika časových bodech profilu disoluce. Je-li stanovena vícenásobná korelace na úrovni C, lze vynechat bioekvivalenční studie. Vztah může být určen v každém časovém bodě pro daný parametr tak, že vyhodnotí vliv jakékoli změny v disoluci na vlastnosti léčiva *in vivo*. Pokud lze stanovit korelaci na vícenásobné úrovni C, potom je pravděpodobné, že korelace na úrovni A bude dobrá. Korelace na úrovni C by měla být založena nejméně na třech časových bodech disoluce z počáteční, střední a koncové fáze disolučního profilu [2, 6].

#### **4.5 Korelace na úrovni D**

Tato korelace je kvalitativní analýzou a není považována za užitečnou pro regulační účely. Napomáhá ve vývoji přípravku nebo ve výrobních postupech [2, 7].

#### **4.6 Volba úrovně korelace**

Podle FDA je za nejvíce informativní a doporučovanou korelaci považována IVIVC na úrovni A. V případě možností se stanoví vícenásobná korelace na úrovni C, korelace na úrovni C, korelace na úrovni B a nakonec korelace na úrovni D [10].

### **5 Stanovení IVIVC**

Směrnice FDA o IVIVC perorálních lékových forem s prodlouženým uvolňováním poskytuje komplexní vědecký rámec pro model vývoje, vyhodnocení a použití IVIVC [6, 11].

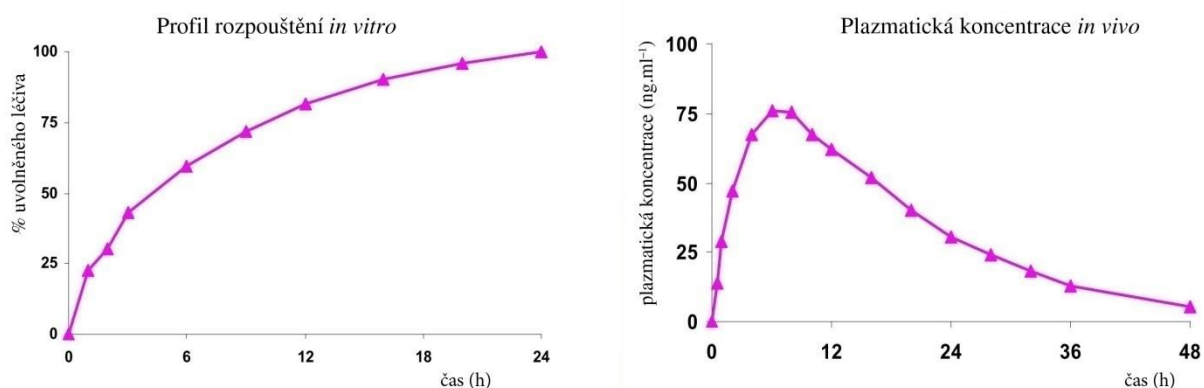
Stanovení IVIVC obecně zahrnuje:

- studium,
- vytvoření modelu IVIVC,

- validaci modelu.

## 5.1 Studium

Stanovení IVIVC vyžaduje data *in vitro* a *in vivo*. K získání dat *in vitro* je třeba docílit různé rychlosti uvolňování léčivého přípravku *in vitro*, čímž získáme požadovanou křivku uvolňování. Mimo to je nutné získat křivku plazmatické koncentrace v závislosti na čase v podmínkách *in vivo* (viz Obrázek 1). Tato data mohou pocházet z raných nebo pozdějších fází vývoje léčivého přípravku, např. ze studie biologické dostupnosti nebo studie *in vivo* prováděné speciálně pro získání IVIVC [11]. Rychlost uvolňování *in vitro* by se měla adekvátně měnit (např. o 10 %) [6].



Obrázek 1: Vstupní data *in vitro* a *in vivo* [12]

Aby se obdržela užitečná data *in vitro* potřebná ke stanovení IVIVC, je důležité volit selektivní metodologii disoluce (viz kapitola 6.2) [11]. Během počátečního stádia vývoje IVIVC lze měnit podmínky disoluce s cílem dosáhnout korelaci blízké se poměru 1 : 1 mezi disolučním profilem *in vitro* a profilem absorpce *in vivo*. Jakmile je dosaženo tohoto stavu, podmínky disoluční zkoušky jsou definitivní a jsou citlivé na vlastnosti léčivého přípravku [3].

## 5.2 Vytvoření modelu IVIVC na úrovni A

Protože IVIVC na úrovni A je nejvyšší úroveň IVIVC a je nejvíce doporučovaná, je ukázáno vytvoření modelu na této úrovni [3, 7].

Vytvoření modelu IVIVC vyžaduje data *in vitro* ze dvou nebo tří přípravků s různou rychlostí uvolňování (např. rychlou, střední a pomalou) [3, 6].

Přípravky s různými rychlostmi uvolňování se obvykle vyrábí změnou některých parametrů (např. množství pomocných látek, velikostí částic látek), přičemž kvalitativní



složení zůstává stejné. Při návrhu disoluční zkoušky je třeba volit vhodné pH, disoluční přístroj a otáčky. Podstatné je, že v této fázi se předpokládá stanovení IVIVC na úrovni A. Cílem je dosáhnout vhodného profilu *in vitro* [3].

Odpovídající reakce *in vivo* může být plazmatická koncentrace nebo množství léčiva uvolněného *in vivo* [11].

Protože přímou korelaci křivky rozpouštění *in vitro* s křivkou plazmatické koncentrace *in vivo* nelze provést, používá se:

- jednostupňový model,
- dvoustupňový model.

### 5.2.1 Jednostupňový model

Model přímo odhaduje časový průběh plazmatické koncentrace. Výhodou je, že vztah mezi množstvím léčiva uvolněným *in vitro* a plazmatickou koncentrací *in vivo* je určen přímo v jednom kroku [2, 3]. Z disolučních profilů uvolňování léčiva a vztahu *in vitro-in vivo* se odhadnou profily plazmatické koncentrace *in vitro* pomocí konvoluce. Potom se porovnají s pozorovanými profily plazmatické koncentrace *in vivo* [3].

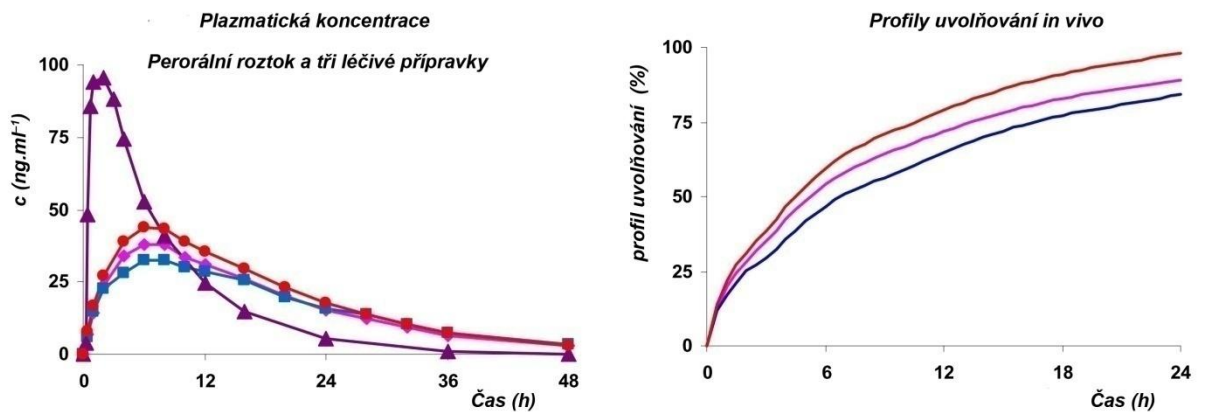
Spojení mezi profilem uvolňování *in vitro* a profilem plazmatické koncentrace *in vivo* má zřetelnou klinickou souvislost, protože mnoho farmakokinetických parametrů (např.  $C_{\max}$ ,  $T_{\max}$  a AUC) je přímo odvozeno z plazmatické koncentrace [11].

### 5.2.2 Dvoustupňový model

Využívá se množství léčiva uvolněného *in vivo* získané z pozorovaných křivek plazmatické koncentrace pomocí dekonvoluce. Použití množství uvolněného nebo absorbovaného léčiva vede přímo k cíli, protože jsou přímo porovnávány parametry *in vitro* a *in vivo* [11].

Model IVIVC založený na dekonvoluci zahrnuje [11]:

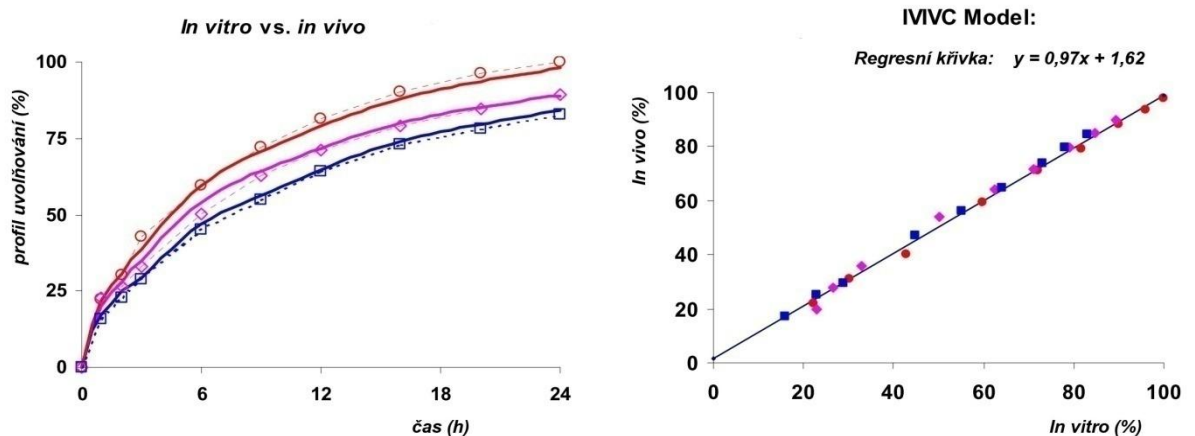
1. Výpočet profilu uvolňování *in vivo* (viz Obrázek 2) z křivky plazmatické koncentrace *in vivo* s použitím vhodné dekonvoluční metody (např. Wagner-Nelsonova metoda nebo Loo-Riegelmanova metoda) pro každý léčivý přípravek [11].



Obrázek 2: Výpočet profilů uvolňování *in vivo* z křivky plazmatické koncentrace *in vivo* (3 léčivé přípravky, každý je vyznačen jinou barvou) [12]

2. Každý vypočítaný podíl uvolněné látky *in vivo* je korelován s podílem uvolněným *in vitro* (viz Obrázek 3) za použití základního lineárního vztahu s úsekem na svislé ose (a) a směrnice (b) [11]:

$$(\% \text{ absorbovaná } in \ vivo) = a + b (\% \text{ uvolněná } in \ vitro) \quad (1)$$



Obrázek 3: Porovnání křivek uvolňování *in vivo* a *in vitro* a stanovení korelace regresní přímkou (3 léčivé přípravky, každý vyznačen jinou barvou, v levém grafu jsou průběhy *in vivo* značeny plnou čarou, *in vitro* čárkovaně) [12]

Hodnota směrnice blízká k číslu 1 vyjadřuje korelaci 1 : 1 a záporný úsek na svislé ose svědčí o skutečnosti, že se proces *in vivo* opoždí za rozpouštěním *in vitro*. Kladný úsek nemá zřejmý fyziologický význam. Může to být následek relativně velké variability zakřivení bodů na začátku časového průběhu. Když nejsou data *in vitro* ve stejném časovém měřítku jako absorpce *in vitro*, je obvykle nutné do modelu zahrnout časový faktor, tj. časový posun a

časový koeficient. Při tvorbě IVIVC modelů je dvoustupňový model nejčastěji používán [11].

Dekonvoluční model je numerická metoda, která se používá k odhadu časového průběhu vstupu léčiva do organismu s použitím matematického postupu, který využívá konvoluční integrál. To vyžaduje srovnání časového profilu *in vivo*, který lze získat z profilu plazmatické koncentrace léčiva v krvi, s disolučním profilem *in vitro*. Pozorovaná frakce absorbovaného léčiva je odhadnuta pomocí Wagner-Nelsonovy metody. Metoda dekonvoluce je nejpoužívanější a v literatuře nejčastěji citovaná. Je však poměrně složitá. Například získání dat *in vivo* z časového profilu léčiva v krvi vyžaduje vytvořit matematický model, pro který je nutné použít několik přípravků s různými rychlostmi uvolňování *in vivo* (nízkou, střední, vysokou). Tyto přípravky se také používají k určení podmínek disoluce (médium, přístroj) tak, aby odpovídaly chování *in vivo* [3].

Pro farmakokinetické výpočty slouží speciálně navržený software, například WinNonlin nebo Kinetika. Pro řešení těchto úloh je vhodný MS Excel [13].

Korelace se hodnotí pomocí korelačního koeficientu, který nabývá hodnot v rozmezí -1 až 1. Hodnoty blízké 0 signalizují malou nebo žádnou lineární závislost mezi disolucí *in vitro* a absorpcí *in vivo*. Naopak je-li absolutní hodnota  $|r|$  blízká 1, signalizuje to silnou závislost. Hodnotu  $|r| = 1$  nabývá korelační koeficient pouze v případě, že všechny body leží na přímce [14]. V některých studiích se korelace hodnotí koeficientem determinace, jedná se o druhou mocninu korelačního koeficientu ( $r^2$ ) [15].

### 5.3 Validace IVIVC

Požadavkem pro určení IVIVC je stanovení disoluční křivky průměrem ze 12 měření, přičemž koeficient variace v každém bodě je menší než 10 %. První data uvolňování léčiva mohou mít větší variabilitu. Obdobně data plazmatické koncentrace je nutno získat z homogenní skupiny alespoň 6 jedinců [16].

Cílem vyhodnocení IVIVC je určit a vyhodnotit velikost chyby odhadu (PE, prediction error) výsledků biologické dostupnosti z disolučních dat *in vitro*. Interní chyba odhadu poskytuje základ pro přijetí korelace, zatímco externí vyhodnocení je kvalitnější [7].

Pro validaci korelace se počítá chyba odhadu pro  $C_{max}$  a AUC. Procentuální chybu odhadu %PE lze stanovit podle následujících rovnic [3]:

$$\%PE = \frac{(C_{max \text{ pozorovaná}} - C_{max \text{ odhadnutá}})}{C_{max \text{ pozorovaná}}} * 100 \quad (2)$$

$$\%PE = \frac{(AUC_{\text{pozorovaná}} - AUC_{\text{odhadnutá}})}{AUC_{\text{pozorovaná}}} * 100 \quad (3)$$

V závislosti na zamýšleném použití IVIVC a terapeutickém indexu léčivé látky se určuje interní a/nebo externí odhad [3].

### 5.3.1 Interní odhad

Vyhodnocení interního odhadu je založeno na počátečních datech použitých k definici IVIVC modelu. Interní odhad se používá u IVIVC pro přípravky se třemi a více rychlostmi uvolňování léčivé látky, která nemá úzký terapeutický index [3]. Biologická dostupnost přípravku, který je použit pro stanovení IVIVC, je odhadnuta z disoluce *in vitro* za použití korelace. Je provedeno srovnání odhadnuté a pozorované biologické dostupnosti a je vypočítána %PE. Pro stanovení IVIVC by podle směrnic FDA měla být průměrná absolutní hodnota %PE menší než 10 % a pro jednotlivý přípravek menší než 15 % [2, 7].

Pro kompletní vyhodnocení a následné použití IVIVC je doporučeno určit externí chybu odhadu [3].

### 5.3.2 Externí odhad

Pokud je IVIVC použita jako náhrada bioekvivalenční studie, je důležité IVIVC externě ověřit a potvrdit předpoklad, že IVIVC odhadne vlastnosti přípravku *in vivo*. Vyhodnocení externího odhadu je založeno na sadě dalších testovaných dat. Odhadnutá biologická dostupnost je porovnána se známou biologickou dostupností a je vypočítána %PE. Správná hodnota %PE by měla být menší než 10 %. Pokud je %PE v rozsahu 10 % až 20 %, je odhad neprůkazný a je třeba provést další studii s použitím dalších dat. %PE větší než 20 % indikuje chybný odhad. Externí odhad je vyžadován u léčiv s úzkým terapeutickým indexem, pokud jsou pro stanovení IVIVC použity jen dvě rychlosti uvolňování nebo pokud interní odhad nespĺňuje požadovaná kritéria [2, 3, 7, 17]. Pro stanovení IVIVC u přípravků s řízeným uvolňováním by měly být pomocné látky buď identické, nebo velmi podobné. Preferují se různé podmínky získání disolučních dat. Pro další použití se vyberou data *in vitro* s nejmenší chybou odhadu [16].

## 6 Důležité faktory pro stanovení IVIVC

Pro stanovení IVIVC je potřebné zvážit následující faktory.

## 6.1 Biofarmaceutický klasifikační systém

Z fyzikálně-chemického hlediska se léčivé látky rozdělují dle lékopisu na základě jejich rozpustnosti do sedmi kategorií (Tabulka 1) [18].

Tabulka 1: Klasifikace rozpustnosti léčiv

Klasifikace	Objem rozpouštědla v ml na rozpuštění 1 g látky
Velmi snadno rozpustné	< 1
Snadno rozpustné	1–10
Dobře rozpustné	10–30
Mírně rozpustné	30–100
Těžce rozpustné	100–1000
Velmi těžce rozpustné	1000–10000
Prakticky nerozpustné	> 10000

Toto členění však nezohledňuje terapeutickou dávku. Samotná rozpustnost léčivé látky není dostatečným měřítkem pro klasifikaci biologické dostupnosti léčiv [19]. Proto vytvořil Amidon v roce 1995 Biofarmaceutický klasifikační systém (BCS, Biopharmaceutical classification system) [20]. BCS je definován ve směrnici FDA následovně:

BCS je vědecký rámec pro klasifikaci léčivých látek založený na jejich rozpustnosti ve vodě a střevní propustnosti (permeabilitě). V kombinaci s disolucí léčivého přípravku bere BCS v úvahu tři hlavní faktory, které řídí rozsah a rychlost absorpce léčiva s okamžitým uvolňováním z pevné perorální lékové formy [21]:

- disoluce,
- rozpustnost,
- permeabilita.

Jedním z hlavních cílů BCS je vytvořit požadavky na vlastnosti léčiva, při jehož testování se může vynechat *in vivo* bioekvivalenční studie. Vynechání studie na jeho základě je možné pouze v USA, protože BCS platí pouze zde. V Evropě se může bioekvivalenční studie vynechat pouze v případě, že se žadatel o registraci léčivého přípravku odkáže na dříve provedenou bioekvivalenční studii stejného léčiva, stejné nebo nižší síly přípravku [9].

Podle BCS jsou léčiva rozdělena do čtyř tříd [3, 5]:

### 1. třída: vysoká rozpustnost - vysoká permeabilita

Léčivo v této třídě je dobře absorbováno, přestože jeho systémová dostupnost může být nízká vzhledem k first-pass efektu (snížení účinku perorálně přijatého léku tím, že jeho část je před vstupem do systémové cirkulace metabolizována v játrech [4]). V případě, že je

disoluce velmi rychlá, je absorpce léčiva omezena rozpouštěním léčiva nebo žaludečním vyprazdňováním. U lékových forem s okamžitým uvolňováním se rozpustí asi 85 % léčivé látky za méně než 15 minut. Aby byla zajištěna biologická dostupnost, je nutné, aby byl disoluční profil reprodukovatelný [3, 22].

## 2. třída: nízká rozpustnost - vysoká permeabilita

U léčiv této třídy musí být disoluční profil přesně definován a musí být reprodukovatelný. Uvolnění léčivé látky z lékové formy *in vivo* ovlivňuje absorpci, která je u této třídy pomalejší než u 1. třídy [3, 23, 24].

## 3. třída: vysoká rozpustnost - nízká permeabilita

Rozhodujícím faktorem pro absorpci léčiva je u této třídy permeabilita. Rychlá disoluce je žádoucí k prodloužení doby kontaktu mezi rozpouštěným léčivem a sliznicí. Doba disoluce léčiva 3. třídy by měla být alespoň taková, jako u léčiva 1. třídy [25]. Léčiva 3. třídy se hodně liší rozsahem absorpce, ale pokud se u těchto léčiv rozpustí alespoň 85 % léčiva během 15 minut, jsou tyto odchylky způsobeny spíše průchodem v gastrointestinálním traktu nebo permeabilitou membrány než faktory lékové formy [22].

## 4. třída: nízká rozpustnost - nízká permeabilita

Tato třída léčiv je problematická u léků s perorálním podáním. Počet léčiv, která spadají do této třídy, závisí na vymezení hranice mezi nízkou a vysokou permeabilitou a mezi nízkou a vysokou rozpustností [25].

Pro stanovení IVIVC je nutné zvážit klasifikaci léčiv dle BCS. Pro stanovení IVIVC pro léčiva s okamžitým uvolňováním v závislosti na třídě BCS platí Tabulka 2 [3].

Tabulka 2: Předpoklady IVIVC pro léčiva s okamžitým uvolňováním na základě tříd BCS [3].

Třída	Rozpustnost	Permeabilita	IVIVC pro léčiva s okamžitým uvolňováním
1	vysoká	vysoká	IVIVC lze stanovit, pokud je rychlost disoluce nižší než rychlost žaludečního vyprazdňování, jinak je IVIVC omezena nebo nelze stanovit
2	nízká	vysoká	IVIVC lze stanovit, pokud je rychlost disoluce podobná rychlosti rozpouštění <i>in vivo</i> a pokud není dávka léčiva velmi vysoká
3	vysoká	nízká	IVIVC lze určit pouze při určité rychlosti absorpce (permeability)
4	nízká	nízká	IVIVC lze stanovit pouze v omezených případech nebo nelze stanovit

V Tabulce 3 jsou uvedeny předpoklady IVIVC pro léčiva s prodlouženým uvolňováním. Jedná se o novou klasifikaci, ve které je 1. a 2. třída BCS dále dělena podle

toho, zda je permeabilita léčiv závislá na místě a zda se jedná o léčiva s úzkým terapeutickým indexem. Tato klasifikace neuvádí 3. a 4. třídu BCS, protože IVIVC lze pro tyto třídy stanovit obtížně nebo ji nelze stanovit vůbec. Tato klasifikace ale přidává 5. třídu, do které se řadí léčiva s proměnlivou rozpustností a permeabilitou. Tato třída se dále člení na podtřídu pro kyselá léčiva a podtřídu pro zásaditá léčiva. Vzhledem k tomu, že tato klasifikace zohledňuje další vlastnosti léčiv, klesl počet léčiv zařazených do 1., 2., 3. a 4. třídy a stanovení IVIVC je přesnější [1].

Tabulka 3: Předpoklady IVIVC pro léčiva s prodlouženým uvolňováním na základě tříd BCS [1]

Třída	Rozpustnost	Permeabilita	IVIVC pro léčiva s prodlouženým uvolňováním
1a	Vysoká, nezávislá na místě	Vysoká, nezávislá na místě	Lze stanovit IVIVC na úrovni A
1b	Vysoká, nezávislá na místě	Závislá na místě, léčiva s úzkým terapeutickým indexem	Lze stanovit IVIVC na úrovni C
2a	Nízká, nezávislá na místě	Vysoká, nezávislá na místě	Lze stanovit IVIVC na úrovni A
2b	Nízká, nezávislá na místě	Závislá na místě, léčiva s úzkým terapeutickým indexem	Lze stanovit slabou IVIVC nebo ji nelze stanovit vůbec
5a: kyselá léčiva	Proměnlivá	Proměnlivá	Lze stanovit slabou IVIVC nebo ji nelze stanovit vůbec
5b: zásaditá léčiva	Proměnlivá	Proměnlivá	Lze stanovit IVIVC na úrovni A

Hraniční hodnoty parametrů pro klasifikaci léčiv do tříd BCS [26]:

Rozpustnost:

Léčivo je považováno za vysoce rozpustné, pokud se jeho nejvyšší léčebná dávka rozpustí ve 250 ml vodného tlumivého roztoku (pH 1–7,5) při 37 °C [19, 26].

Permeabilita:

Léčivo je považováno za vysoce vstřebatelné tehdy, pokud se vstřebá nejméně 90 % podané dávky ve srovnání se vstřebaným množstvím léčiva po intravenózním podání [26].

Disoluce:

Léčivo je považováno za rychle se uvolňující, pokud se 85 % nebo více vyznačeného množství uvolní do 30 minut, při použití přístroje s košíčkem (100 otáček za minutu) nebo přístroje s pádlem (75 otáček za minutu) a při použití následujících disolučních médií:

- roztoku HCl o pH 1,2 nebo umělé žaludeční šťávy bez enzymů,

- tlumivého roztoku o pH 4,5,
- tlumivého roztoku o pH 6,8 nebo umělé střešní šťávy bez enzymů.

Pokud se 80 % nebo více vyznačeného množství uvolní do 15 min, je léčivo považováno za rychle se rozpouštějící [9, 26].

## 6.2 Disoluce *in vitro*

Disoluční (rozpuštěcí) studie jsou jednou z hlavních charakteristik lékových forem s řízeným uvolňováním léčiva. Stanovuje se jimi uvolňování léčivé látky z lékové formy v předepsané kapalině (disoluční médium) a v předepsaném čase.

Disoluce perorálních léků probíhá v jednom ze čtyř disolučních přístrojů uvedených v lékopise: přístroj 1 (přístroj s košíčkem), přístroj 2 (přístroj s pádlem), přístroj 3 (přístroj s vratným válcem), přístroj 4 (přístroj s průtokovou celou) [18, 27].

USP rozeznává ještě přístroj 5 (přístroj s pádlem a diskem), přístroj 6 (přístroj s rotujícím válcem), přístroj 7 (přístroj s vratným držákem). USP také detailně popisuje povolené úpravy. Volba přístroje by měla být důkladně zvážena, neboť může ovlivnit výsledky a trvání testu. Při volbě přístroje je nutné nejprve zvážit typ zkoumané lékové formy [1, 8].

Disoluční data *in vitro* mohou být prospěšná při vyhodnocení možných rizik, spojených s lékovými formami s prodlouženým uvolňováním, jako je např. rychlé uvolnění léčivé látky (tzv. „dose-dumping“), efekt jídla a lékové interakce [24].

Disoluce je důležitá pro vývoj přípravku a stanovení IVIVC, kde není ovlivněna faktory jako je pH, tenzidy, osmotický tlak, intenzita míchání, enzymy a iontová síla. Absorpce léčiva z pevné lékové formy podávané perorálně závisí na uvolňování léčivé látky z přípravku, disoluci nebo rozpustnosti léčiva ve fyziologických podmínkách a permeabilitě v gastrointestinálním traktu. Účelem disolučních studií v počáteční fázi vývoje léčiva je zvolit optimální přípravek, posoudit vliv účinných látek, pomocných látek a drobných změn léčivého přípravku. Během počáteční fáze stanovení korelace lze změnit podmínky disoluce s cílem docílit nejlepší korelace mezi disolučním profilem *in vitro* a absorpčním profilem *in vivo* [2]. Z pohledu IVIVC slouží disoluce jako náhrada studií biologické dostupnosti [3]. Z tohoto důvodu jsou nezbytné přísnější disoluční standardy, aby bylo možné upustit od testů *in vivo* [1, 24]. Disoluční zkouška je nutná pro biowaiver. Volí se takové podmínky disoluce, které odrážejí podmínky *in vivo* a ve kterých je možné rozlišit jednotlivé studované přípravky. Jakmile jsou takové podmínky určeny, měly by pro určení korelace zůstat neměnné pro všechny testované přípravky [3].



### 6.2.1 Doporučené disoluční podmínky

1. U disolučních zkoušek se preferuje použít přístroj s košíčkem nebo přístroj s pádlem. K získání dobré korelace je možné disoluci přípravku *in vitro* upravit. Disoluční profil přípravku lze upravit volbou přístroje, změnou otáček přístroje, změnou pH média a teplotou. Disoluční podmínky by se měly volit tak, aby se přípravek choval stejně, jako v podmínkách *in vivo* [3]. Přístroj s vratným válcem je vhodné použít u lékových forem s řízeným uvolňováním. Přístroj s průtokovou celou je výhodný u lékových forem s řízeným uvolňováním, které obsahují léčivou látku s velmi omezenou rozpustností. Přístroj s pádlem a diskem a přístroj s rotujícím válcem je vhodný pro testování a vyhodnocení transdermálních lékových forem [2].
2. Doporučuje se odebrat 8 až 10 vzorků, aby profil disoluční křivky byl plynulý a doba odpovídala dávkovému intervalu testovaného přípravku u lidí.
3. Disoluční zkouška pro přípravky s okamžitým uvolňováním trvá 15 až 60 minut s odběrem jednoho vzorku. Například u přípravků 1. třídy BCS se doporučuje odběr vzorku po 15 minutách. Pro přípravek 2. třídy BCS se doporučuje odebrat jeden vzorek po 15 minutách a druhý v době, kdy je rozpuštěno 85 % léčiva.
4. Naopak disoluční zkoušky *in vitro* lékové formy s řízeným uvolňováním vyžadují alespoň tři vzorky charakterizující uvolňování léčiva. První vzorek se odebere po 1 až 2 hodinách nebo po uvolnění 20 až 30 % léčiva s cílem zjistit, zda dojde k rychlému uvolnění léčivé látky („dose-dumping“). Druhý vzorek se odebere v době, kdy se uvolní 50 % léčivé látky. Poslední odběr určuje úplné uvolnění léčiva a provádí se, jakmile se uvolní 80 % léčiva.
5. Zvolený přístroj musí umožnit důkladné, ale mírné míchání, které zajistí účinnou interakci mezi léčivým přípravkem a médiem.
6. Pokud nejsou výsledky disoluční zkoušky takové, jak se očekávalo, je nutné přípravek modifikovat tak, aby disoluční křivka léčivého přípravku měla očekávaný průběh. Nelze však měnit médium, přístroj nebo jeho otáčky, protože napodobují fyziologii trávicího traktu, který je neměnný. Změna podmínek disoluční zkoušky může znehodnotit výsledky.
7. Disoluční profily se porovnávají pomocí faktoru podobnosti a rozdílnosti. Faktor rozdílnosti se počítá jako procentuální odchylka mezi dvěma křivkami v každém časovém bodě. Pohybuje se rozmezí 0 až 15. Faktor podobnosti v rozmezí 50 až 100 zajišťuje podobnost nebo shodu dvou křivek [3].
8. Pro stanovení IVIVC by měly být stanoveny disoluční profily alespoň 12 jednotlivých lékových forem. Variační koeficient CV (poměr směrodatné odchylky a průměrné

hodnoty vynásobený 100 [14]) pro střední profily disoluce jedné dávky by měl být menší než 10 %. Protože mají disoluční přístroje při vyšších otáčkách menší rozlišovací schopnost, volí se otáčky nižší. U přístroje s košíčkem se volí obvykle 50–100 otáček za minutu, u přístroje s pádlem se volí 50–75 otáček za minutu, 25 otáček za minutu pro suspenze [2, 3, 20].

### 6.2.2 Disoluční média

Ideální disoluční médium (kapalina) má napodobovat podmínky v trávicím traktu [4, 27]. Médium se udržuje na teplotě ( $37 \pm 0,5$ ) °C [20]. Disoluční médium by nemělo být odplyněné. Typický objem média je 500 až 1000 ml [3]. Nejdůležitější parametry pro simulaci podmínek *in vivo* jsou pH, složení tlumivého roztoku, pufrční kapacita, teplota, objem a hydrodynamika. U disoluční zkoušky hraje rovněž důležitou roli iontová síla disolučního média. Ionty přítomné ve stravě a sekrece v gastrointestinálním traktu způsobuje změny iontové síly gastrointestinálních tekutin. U disoluční zkoušky je také důležitá pufrční kapacita přípravků obsahujících kyselou nebo zásaditou složku [1, 8]. Média se průběžně zdokonalují, neboť je k dispozici více fyziologických dat [28, 29].

Pro vysoce rozpustné látky není disoluce faktorem limitujícím perorální absorpci [28]. Pro léčiva 1. třídy BCS je doporučováno jednoduché vodné médium, protože toto médium neovlivňuje tento typ léčiva. Čištěná voda a umělá žaludeční šťáva jsou výchozími médii pro většinu léčiv 1. třídy BCS [3]. Naopak u špatně rozpustných látek je volba média velmi důležitá pro jejich rozpouštění. Pro tyto látky může být disoluce ovlivněna řadou faktorů, jako např. pH, pufrční kapacita, iontová síla a efekt rozpustnosti s ohledem na přítomnost tenzidů [28, 30]. Proto se u disoluční zkoušky těžko rozpustných léčiv doporučuje přidat do média povrchově aktivní látky (tenzidy) [3, 27].

Ve stavu na lačno je disoluce špatně rozpustných neionizovatelných látek v žaludku pomalá a v mnoha případech nebude úplná dříve, než látka dosáhne místa absorpce v tenkém střevě. Pro špatně rozpustné slabé kyseliny přispívá disoluce v prázdném žaludku k celkové disoluci málo. V tenkém střevu s vyšším pH dochází k rychlé a v mnoha případech úplné disoluci. Naproti tomu slabě rozpustné zásadité látky podávané ve stavu na lačno se rozpouští hlavně během přítomnosti v žaludku, protože jejich rozpustnost je vyšší v prázdném žaludku než kdekoli jinde v gastrointestinálním traktu [25, 28, 31, 32].

Po jídle je přítomnost pevných látek v žaludku delší a v závislosti na typu podané lékové formy může trvat až několik hodin. Složky potravy zpožďují rozpouštění v žaludku kvůli zpožděnému rozpouštění tablety, ale navzdory tomuto zpoždění je absorpce řízena

vyprazdňováním žaludku [33, 34]. Zpožděná disoluce v žaludku po jídle může ovlivnit rychlost absorpce léčiva (zejména u špatně rozpustných látek) a následně může ovlivnit míru výskytu v plazmě ve srovnání se stavem nalačno. Navíc tenké střevo ve stavu po jídle poskytuje prostředí s vysokou kapacitou rozpustnosti pro špatně rozpustné látky a může vést ke zvýšené perorální biodostupnosti ve srovnání se stavem na lačno [28].

Disoluční média byla navržena pro účely řízení kvality a často selhávají při stanovení IVIVC špatně rozpustných látek, protože jejich složení nebere v úvahu fyziologické prostředí gastrointestinálního traktu a podmínky dávkování. Byla navržena biorelevantní média, která by měla lépe stanovit účinnost perorálních přípravků *in vivo* [28, 35].

### **6.2.2.1 Média simulující obsah žaludku**

#### **Stav na lačno**

Pro simulaci obsahu prázdného žaludku byla navržena různá média. Nejjednodušší disoluční médium je umělá žaludeční šťáva (SGF, Simulated Gastric Fluid) obsahující roztok kyseliny chlorovodíkové, jehož pH je 1,2. Obsahuje pepsin ( $3,2 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) a má povrchové napětí přibližně stejné jako voda ( $\sim 68 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ ). Aby se snížilo jeho povrchové napětí na fyziologické hodnoty, přidávají se syntetické tenzidy jako například natrium-lauryl-sulfát (SLS) nebo Triton-X [28].

V roce 2005 vyvinul Vertzoni žaludeční tekutinu simulující stav na lačno (FaSSGF, Fasted State Simulated Gastric Fluid) jako disoluční médium, které odráží skutečné složení obsahu žaludku ve stavu na lačno podle publikovaných fyziologických dat. Médium má pH 1,6 a obsahuje odpovídající množství pepsinu, žlučové soli a lecithinu, aby mělo podobné povrchové napětí jako *in vivo*. Toto médium se jeví jako vhodnější než předchozí, protože obsahuje pouze látky, které se vyskytují v prázdném žaludku [32].

#### **Stav po jídle**

Obsah žaludku po jídle je komplexní, nestejnorodý a má fyzikálně chemické vlastnosti, které se mění s časem [36]. Homogenizované trvanlivé mléko (3,5 % tuku) se používalo jako disoluční médium pro simulaci stavu po jídle již před 20 roky. Pro aplikace *in vitro* byla také navržena tekutá strava s fyzikálně chemickými vlastnostmi podobnými vlastnostem jídla, která je typicky podávána při bioekvivalenčních studiích pro stav po jídle. Mléko a tekutá výživa mohou být použity pouze pro simulaci počátečních podmínek stavu po jídle, protože složení obsahu žaludku ve stavu po jídle se mění s časem tak, jak probíhá sekrece, zažívání a vyprazdňování žaludku. V žaludku se pH obvykle zvyšuje kvůli pufracímu efektu obsahu jídla a může v závislosti na skladbě jídla dosáhnout až hodnoty 7,

ale s pokračující sekrecí žaludeční kyseliny má hodnota pH tendenci klesat během několika hodin až k výchozí hodnotě [28, 36, 37].

### **6.2.2.2 Média simulující obsah tenkého střeva**

#### **Stav na lačno**

Nejjednodušší médium simulující podmínky v tenkém střevu je umělá střevní šťáva (SIF, Simulated Intestinal Fluid), která má pH 6,8 a obsahuje pankreatin. Toto disoluční médium je primárně používáno pro účely řízení kvality a nelze očekávat, že bude vhodné pro všechny případy korelace *in vitro-in vivo* [28].

V roce 1998 Dressman uvedl střevní tekutinu simulující stav nalačno (FaSSIF, Fasted-State Simulated Intestinal Fluid), aby simuloval podmínky v tenkém střevu ve stavu na lačno podle fyziologických dat. Kromě pH, osmolarity (celkové množství osmoticky aktivních částic rozpuštěných v litru rozpouštědla [4]) a pufrční kapacity bere FaSSIF v úvahu rozpouštěcí kapacitu střevních tekutin. FaSSIF má pH 6,5 a obsahuje natrium-taurocholát a fosfolipidy v poměru 4 : 1 [25, 28].

#### **Stav po jídle**

Ve srovnání se stavem na lačno má obsah tenkého střeva po jídle vyšší koncentraci micel, protože žlučník reaguje na jídlo kontrakcí a vyprazdňuje svůj obsah do dvanáctníku [37]. Střevní tekutina simulující stav po jídle (FeSSIF, Fed state simulating intestinal fluid) byla navržena současně s FaSSIF, aby lépe odrážela prostředí v tenkém střevě po jídle. FeSSIF má pH 5,0 a osmolarita a pufrční kapacita byly navrženy tak, aby byly blízko datům *in vivo*. Ve stavu po jídle není snadné identifikovat tlumivé roztoky ve střevním obsahu. Tlumivé roztoky, které se mohou vytvářet zažíváním potravy, jsou důležité pro udržení pH, ale není jisté, zda lze nutné pufrční kapacity docílit pouze s hydrogenuhličitanovým tlumivým roztokem, protože typická hodnota pH v horní části tenkého střeva ve stavu po jídle je 5–6. FeSSIF obsahuje oproti FaSSIF vyšší koncentrace natrium-taurocholátu a fosfolipidů, jejich poměr se drží na hodnotě 4 : 1 [25, 28].

### **6.2.2.3 Média simulující obsah tračníku**

Doposud byl vývoj média simulujícího obsah tlustého střeva založen na úvahách o pH, aniž by byl brán v úvahu potenciální vliv potravy, protože informace o prostředí v tlustém střevě byly dosud velmi omezené. Fotaki vyvinul tekutinu simulující tračník (SCoF, Simulated Colonic Fluid) podle dostupných fyziologických dat o koncentraci mastných kyselin s krátkým řetězcem a o pH. SCoF má pH 5,8. Pro nastavení pH a pufrční kapacity se používá acetátový tlumivý roztok [28, 38].

### 6.3 Absorpce *in vivo*

Pro získání absorpčních profilů léčivých přípravků by měly být prováděny podle směrnice FDA studie biologické dostupnosti s využitím dobrovolníků [6]. Do studie je třeba zapojit alespoň 6 mladých zdravých mužských dospělých dobrovolníků za přísných podmínek. Provádí se ve stavu nalačno, nesmí se kouřit a užívat žádné jiné léčivé přípravky [1, 12]. Když není lék tolerován ve stavu na lačno, studie se mohou provádět po jídle [11]. Studie testovaných přípravků se provádí za použití referenčního přípravku. Preferují se křížové studie, tj. studie, při kterých jedna sledovaná skupina dobrovolníků obdrží léčivé přípravky v daném pořadí, zatímco druhá skupina v pořadí opačném [11, 39]. Použití jednotlivých přípravků se má oddělit dostatečně dlouhou dobou, tzv. vymývací periodou, která trvá alespoň pět poločasů léčivé látky [1, 9]. Akceptovány jsou rovněž paralelní studie, kdy první skupina obdrží první vzorek a druhá skupina ve stejném časovém okamžiku druhý vzorek. Referenční přípravek pro stanovení IVIVC může být intravenózní roztok, vodný perorální roztok nebo produkt s okamžitým uvolňováním léčiva [11].

Studie biologické dostupnosti může být vyhodnocena pomocí dat z krevní plazmy nebo z moči. Posuzují se parametry:

- plocha pod křivkou plazmatické koncentrace (AUC) nebo kumulativní množství léčiva vyloučeného močí ( $Du_{\infty}$ ),
- maximální koncentrace ( $C_{max}$ ) nebo rychlost vylučování léčiva do moči ( $dDu/dt$ ),
- doba, kdy je dosaženo maximální koncentrace  $T_{max}$ .

Kromě těchto parametrů se vyžaduje pro stanovení IVIVC množství absorbovaného léčiva nebo rychlost absorpce *in vivo* [1, 24, 40].

### 6.4 Metabolické faktory

Dříve než se léčivo dostane do systémového oběhu, musí projít z gastrointestinálního traktu přes střevní stěnu a játra. Krev promývající všechny gastrointestinální tkáně odtéká do jater portální žilou. Ztráta léčiva může nastat v gastrointestinálním traktu vlivem nestability léčiva nebo tvorby komplexu léčiva se složkami gastrointestinálních tekutin, jídla nebo ostatních podaných léčiv. Kromě toho se může léčivo v gastrointestinálním traktu nebo v játrech rozkládat [8].

## 6.5 Ztráta léčiva v trávicím traktu

Jakékoli reakce snižující absorpci léčiva mohou snížit biologickou dostupnost. Jedná se o reakce enzymatické a neenzymatické. Běžnou neenzymatickou reakcí je kyselá hydrolýza. Enzymy ve střevním epitelu včetně střevní mikroflóry, které jsou v tlustém střevě, metabolizují některá léčiva. Takto vzniklé látky nejsou často aktivní nebo jsou méně účinné než původní látky [8].

## 6.6 Stereochemie

Když jeden enantiomer má vyšší afinitu k receptorům než opačný, zvyšuje to stereoselektivitu ve farmakokinetice a farmakodynamice. Pokud jsou takovéto stereoizomery podávány perorálně ve formě racemátu, jedna forma může mít vyšší biologickou dostupnost než druhá forma. Proto nejsou disoluční data *in vitro* použitelná pro stanovení IVIVC a následnou předpověď biologické dostupnosti aktivního enantiomeru [8].

## 7 Příčiny špatné korelace

Nejlepší disoluční zkouška pro IVIVC je zkouška, která popisuje to, co probíhá *in vivo*. Ačkoli je mnoho publikovaných případů léčiv s daty disoluce, která dobře korelují s absorpcí léčiva v těle, je také mnoho případů špatné korelace mezi disolucí a absorpcí léčiva. Problém špatné korelace mezi biologickou dostupností a disolucí může být způsoben složitou absorpcí léčiva a nevhodně navrženou disoluční zkouškou. Například léčivý přípravek, který obsahuje mastné složky, nebude zadržován v trávicím traktu. Uvolňování léčiva je ovlivňováno následujícími faktory: iontovou silou, změnami pH v trávicím traktu, peristaltikou, trávicími enzymy, žlučí, přítomností surfaktantů a jiných složek léčivého přípravku. Všechny tyto faktory jsou obtížně reprodukovány *in vitro*. Navíc jsou rozdílné ve stavu nalačno a ve stavu po jídle. Jídlo má také přímý vliv na účinné látky nebo léčivý přípravek [1, 10].

## 8 Použití IVIVC

### 8.1 IVIVC a různé systémy podání

#### 8.1.1 Enterosolventní lékové formy

Léčivo v této lékové formě prochází žaludkem a rozpouští se až v dvanáctníku [4]. Simulace těchto podmínek *in vitro* je problematická a někdy i nemožná. Přímý odhad

absorpčního profilu *in vivo* z dat disoluce *in vitro* je obtížný, ale problém lze řešit pomocí konvoluce [7, 8].

### **8.1.2 Parenterální lékové formy s prodlouženým uvolňováním**

Dosud bylo provedeno několik studií uvolňování léčiva *in vitro* z mikročástic u parenterálního podání. Ve studiích byl použit přístroj s průtokovou celou a dialyzační techniky [7, 8].

### **8.1.3 Bukální tablety**

Byla provedena korelace mezi dobou výskytu *in vivo* mukoadhezivních tablet v ústech a bodem zakřivení disoluční křivky *in vitro*. Použití bodu zakřivení předpokládá, že počáteční část disoluční křivky je lineární a že závěr křivky lze považovat za přímý [7, 8, 41].

### **8.1.4 Transdermální podání**

Hlavní problém, který je nutno u tohoto podání vzít v úvahu, je různá tloušťka lidské kůže a z toho vyplývající odchylky v pronikání léčiva. USP uvádí disoluční zkoušky uvolňování léčiva z transdermálních náplastí s následujícími přístroji: přístroj s pádlem a diskem, přístroj s rotujícím válcem, přístroj s vratným diskem. Velmi často se používá tzv. Franzova komůrka [7, 8]. Jedná se o vertikální difúzní komůrku, laboratorní zařízení pro testování transdermální absorpce chemických látek *in vitro* [42]. Současné metody *in vitro* nejsou dostatečné pro vývoj léčiva, ale jsou vhodné pro výběr léčivých látek [43].

### **8.1.5 Čípky**

Pro lipofilní čípky se doporučuje použít přístroj s košíčkem nebo přístroj s pádlem, zatímco pro hydrofilní čípky se doporučuje přístroj s pádlem nebo přístroj s průtokovou celou [7, 8]. Toto doporučení se potvrdilo u disoluční zkoušky hydrofilních a lipofilních čípků indometacinu za použití přístroje s průtokovou celou. U hydrofilních čípků byla zjištěna dobrá korelace, u lipofilních čípků byly výsledky nevyhovující [1].

### **8.1.6 Nosní podání**

Existuje řada variací disoluční zkoušky aplikačních systémů nosního podání zohledňující aplikovanou dávku, distribuci kapek nebo částic, charakter spreje a geometrie dávky. Směrnice FDA doporučuje tyto metody jako nástroje k odhadu biologické dostupnosti a bioekvivalence pro topicky působící přípravky ve formě roztoku [7, 8, 44].

### 8.1.7 Rektální podání

Byly vyvinuty nové přípravky podávané rektálně pro léčbu ulcerózní kolitidy a jiných nemocí tračníku. U studií *in vitro* se používá přístroj s vratným válcem a průchod trávicím traktem je simulován změnami pH. Následně se stanoví IVIVC [45].

### 8.1.8 Parenterální podání

Pro stanovení IVIVC léčiva podaného parenterálně byly vyvinuty různé přístroje a metody [46, 47]. Avšak v literatuře lze nalézt pouze pár příkladů, kdy disoluční zkouška *in vitro* určí profil uvolňování léčiva podaného parenterálně *in vivo* [48, 49]. Vzhledem k tomu, že uvolňování léčiva *in vivo* a *in vitro* je pro tyto přípravky ovlivňováno velkým množstvím parametrů, je stanovení IVIVC obtížné. Ve většině případů je uvolňování léčiva způsobeno difúzí, disolucí a erozí a není tedy jednoduché napodobit chování *in vivo*. U přípravku, kde převládá uvolňování difúzí, byla stanovena IVIVC na úrovni A. U přípravku, u kterého se objevilo uvolňování dané kombinací difúze a eroze, se podařilo stanovit IVIVC na úrovni B [2].

## 8.2 Řízení výroby

Přípravky s prodlouženým uvolňováním lze rozdělit podle rychlosti absorpce. Rychlost uvolňování léčiva z těchto přípravků je důležitou vlastností a měla by být pečlivě vyhodnocována a řízena. Disoluční zkouška *in vitro* má význam pouze tehdy, když jsou její výsledky v korelaci s účinkem léčiva *in vivo* [7, 8].

## 8.3 Specifikace disoluční zkoušky

Lékové formy s modifikovaným uvolňováním vyžadují disoluční zkoušky v několika časových bodech. Ty jsou obvykle voleny v počáteční, střední a v závěrečné části disolučního profilu. Stanovení IVIVC je důležité pro specifikaci disoluční zkoušky [3, 50]. Pokud není IVIVC stanovena, rozsah disoluční specifikace zřídka přesáhne 10 % disolučního profilu stěžejní klinické dávky (s nejvyšším obsahem léčiva). Pokud je IVIVC stanovena, lze použít širší specifikaci na základě odhadnutých časových profilů plazmatické koncentrace.

Proces stanovení specifikace disoluční zkoušky (v případě, že je stanovena IVIVC) začíná stanovením referenčního disolučního profilu (stěžejní klinické dávky). Poté se stanoví disoluční profily dávek s různými disolučními vlastnostmi (včetně dávek s pomalým a rychlým uvolňováním), přičemž profily plazmatické koncentrace se stanoví metodou konvoluce. Specifikace je optimální tehdy, pokud všechny dávky mezi nejpomalejší a



nejrychlejší dávkou jsou víceméně ekvivalentní referenční dávce. To však platí jen tehdy, je-li stanovena IVIVC na úrovni A [3].

#### **8.4 Počáteční stádium vývoje léčiva a jeho optimalizace**

V počátečních stádiích vývoje léčivého přípravku probíhají studie *in vitro* a studie na zvířecích modelech *in vivo* za účelem vyhodnotit toxicitu a účinnost léčiva [7, 8].

#### **8.5 Vynechání bioekvivalenční studie**

Výroba schválených léčiv je regulována regulačními orgány. Výrobci musí prokázat, že změna ve výrobě nezpůsobí změnu chování konečného přípravku *in vivo*. Mnoho změn musí být doloženo bioekvivalenční studií. Pokud existuje korelace mezi zkouškou *in vitro* a chováním léčiva *in vivo*, není nutné provádět bioekvivalenční studii. V tomto případě lze považovat farmakokinetickou studii jako záruku, že výrobní změny neměly vliv na absorpci léčiva [7, 8].

Bioekvivalenční studie jsou studie, které porovnávají biologickou dostupnost dvou léčivých přípravků. Přípravky jsou bioekvivalentní, pokud mají srovnatelnou biologickou dostupnost (celkový podíl léčivé látky, která se dostane do systémového oběhu) [9]. Žádosti o vynechání bioekvivalenčních studií (žádosti o biowaivery) se podávají pro pevné perorální lékové formy s okamžitým uvolňováním. Při jejich podání by žadatel měl brát v úvahu následující faktory:

- Pomocné látky.

V určitých případech mohou pomocné látky ovlivnit rozsah absorpce léčivé látky. Je třeba volit lékopisně schválené látky (schválené FDA), které neovlivňují rozsah absorpce u vysoce rozpustných a vysoce permeabilních látek.

- Proléčiva.

Permeability proléčiv závisí na mechanismu a místě jejich přeměny na léčivou látku. Pokud přeměna nastane po průniku střevní membránou, měla by se permeabilita stanovit.

- Výjimky.

Vynechání studií není možné u léčivých látek s úzkým terapeutickým indexem (digoxin, warfarin) a u léčivých látek s orální absorpcí (sublingvální nebo bukalní tablety) [9, 21].

Pro možnost vynechání bioekvivalenčních studií musí mít léčivá látka rychlou a srovnatelnou disoluci, vysokou rozpustnost, vysokou permeabilitu, široké terapeutické

rozmezí a musí obsahovat pomocné látky schválené pro lékové formy s okamžitým uvolňováním [9].

Při registraci originálních přípravků se musí předložit registrační autoritě informace o *in vivo* biodostupnosti. Pokud se biodostupnost léčivé látky přesně stanoví, lze při dalších změnách ve složení nebo metodě výroby bioekvivalenční studie vynechat.

Bioekvivalenční studie lze vynechat u testovaných přípravků s okamžitým uvolňováním a rychlou disolucí v případě, že má srovnatelný profil disoluce s referenčním přípravkem. Testovaný přípravek musí být farmaceuticky ekvivalentní s referenčním přípravkem.

Bioekvivalenční studie je možné vynechat i v případě, že se provedou výrazné změny po schválení přípravku [9, 21].

Pokud je stanovena IVIVC, lze na základě disolučních dat *in vitro* provést drobné změny ve výrobě a ve složení přípravku. Jedná se o drobné změny ve tvaru, velikosti, množství a složení přípravku, barvě, vůni, výrobním postupu, obalování, zdroji účinných a pomocných látek a ve vybavení výrobních prostor [7, 8].

Biowaiver bude platný pouze tehdy, když bude odhad účinnosti přípravku *in vivo* s prodlouženým uvolňováním bioekvivalentní s původně testovaným přípravkem.

Směrnice FDA definuje pět kategorií biowaiveru:

- 1) biowaivery bez IVIVC,
- 2) biowaivery využívající IVIVC u léčiv, které nemají úzký terapeutický index,
- 3) biowaivery využívající IVIVC u léčiv, které mají úzký terapeutický index,
- 4) biowaivery, u kterých je disoluce *in vitro* nezávislá na podmínkách disoluční zkoušky,
- 5) situace, kdy se pro biowaivery nedoporučuje IVIVC [3].

## 9 Studie léčiv zabývající se IVIVC

Jednotlivé studie léčiv uvedené v této kapitole jsou rozděleny podle Biofarmaceutického klasifikačního systému do 4 tříd. Pokud v uvedených studiích nebylo léčivo zařazeno do některé z tříd BCS, je využito zařazení dle další literatury [51, 52, 53, 54], případně se uvádí konkrétní literatura v textu. Ačkoli jsou některá léčiva v uvedené literatuře zařazena do více tříd, jsou studie těchto léčiv uvedeny pouze v jedné třídě BCS. V rámci tříd jsou studie léčiv dále rozdělené podle lékových forem. U jednotlivých studií je uvedené, čím se studie zabývají. Práce je zaměřená především na použité disoluční přístroje, proměnné parametry přístrojů, složení disolučních médií a vyhodnocení studie včetně IVIVC.

## 9.1 Studie léčiv zařazených do 1. třídy BCS

Do 1. třídy BCS se řadí léčiva s vysokou rozpustností a vysokou permeabilitou [3].

### 9.1.1 Tablety

#### 9.1.1.1 Kaptopril

Studie zjišťovala IVIVC na úrovni A a farmakokinetické parametry obalených tablet kaptoprilu s prodlouženým uvolňováním [55].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.
- Parametry přístroje: 50, 75 a 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,1 M HCl.

Vyhodnocení studie:

Při použití modelu IVIVC se po 4 hodinách absorbovalo 29,94 % léčiva *in vivo*. Množství uvolněného léčiva *in vitro* bylo při 50 otáčkách za minutu 79,87 %, při 75 otáčkách za minutu 86,14 % a při 100 otáčkách za minutu 87,32 %. Ostatní parametry disoluční zkoušky se neměnily. Nejlepší koeficient determinace se zjistil při 75 otáčkách za minutu ( $r^2 = 0,996$ ). Z výsledků bylo zřejmé, že mezi charakteristikami tablet kaptoprilu *in vitro* provedenými za použití 0,1 M HCl a charakteristikami uvolňování léčiva *in vivo* byla vysoká korelace nezávislá na rychlosti uvolňování léčiva [55].

#### 9.1.1.2 Diltiazem-hydrochlorid

Účelem studie bylo určit, zda je acetylovaný škrob vhodný pro prodloužené uvolňování léčiva z tablet. Testovaly se tři přípravky s různými rychlostmi uvolňování: vysokou, střední a nízkou. Všechny přípravky obsahovaly 90 mg diltiazem-hydrochloridu, přičemž u přípravku s rychlým uvolňováním tvořil diltiazem-hydrochlorid 50 % tablety, u přípravku se středně rychlým uvolňováním tvořil diltiazem-hydrochlorid 35 % tablety a u přípravku s pomalým uvolňováním tvořil diltiazem-hydrochlorid 15 % tablety [56].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml acetátového tlumivého roztoku o pH 4,2.

Vyhodnocení studie:

Studie stanovila IVIVC na úrovni C pro AUC a pro  $C_{\max}$ . Profily plazmatické koncentrace diltiazem-hydrochloridu se u všech tří přípravků s acetylovaným škrobem zřetelně odlišovaly. Pokud se snižovala rychlost disoluce *in vitro*, snižovala se rovněž  $C_{\max}$  a  $AUC_{0-\infty}$ . To potvrzovalo, že acetylovaný škrob je schopen modifikovat uvolňování léčiva z tablet *in vivo*. Mezi rychlostí uvolňování *in vitro* a parametrem AUC *in vivo* byla stanovena dobrá korelace ( $r^2 = 0,993$ ) [56].

Jiná studie se zabývala matricovými tabletami diltiazem-hydrochloridu s prodlouženým uvolňováním. Tablety obsahovaly guarovou gumu a karmelosu sodnou sůl jako bariérové vrstvy prodlužující uvolňování léčiva. Stanovila se IVIVC na úrovni A [57].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,1 M HCl o pH 1,2 po dobu 2 hodin, poté bylo pH média udržováno na hodnotě 7,4 po dobu 12 hodin.

Vyhodnocení studie:

Výsledky ukázaly, že karmelosa sodná sůl nepodléhala hydrataci v 0,1 M HCl, ale pokud se pH média změnilo na hodnotu 7,4, sůl rychle hydratovala a měnila se na viskózní gelovou vrstvu s porézním povrchem, umožňujícím průnik diltiazem-hydrochloridu a tedy konstantní uvolňování léčiva. IVIVC na úrovni A byla lineární s koeficientem determinace 0,920 [57].

Účelem další studie bylo stanovit korelaci dvou přípravků diltiazem-hydrochloridu s prodlouženým uvolňováním s referenčními tobolkami, které měly také prodloužené uvolňování. Jeden přípravek byl ve formě matricových tablet a obsahoval hypromelosu (HPMC), hydrofilní polymer, který se použil k dosažení prodlouženého uvolňování. Konkrétně se jednalo HPMC K15M. Druhý přípravek byl ve formě tvrdých želatinových tobolek a obsahoval Gelucire 50/13 [58], který je jedním z řady přípravků tohoto názvu a který se také používá k přípravě přípravků s prodlouženým uvolňováním [59]. V obou

případech se jednalo o přípravky s dvanáctihodinovým uvolňováním. Studie zkoumala u všech tří přípravků farmakokinetické parametry  $C_{\max}$ ,  $T_{\max}$  a AUC [58].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem, přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml vody,  
900 ml 0,1 M HCl o pH 1,0,  
900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 4,0,  
900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 7,0.

Vyhodnocení studie:

Mezi profily uvolňování u všech tří přípravků v různých disolučních médiích byly patrné mírné rozdíly. U všech přípravků se uvolnilo více než 80 % léčiva do 12 hodin. Uvolňování léčiva z tablet a tobolek bylo podobné jako u referenčních tobolek s prodlouženým uvolňováním. Oba testované přípravky měly rozdílné lékové formy, ale stejné charakteristiky uvolňování.

Byla stanovena IVIVC na úrovni A a určily se korelační koeficienty ( $r = 0,9897$  pro referenční přípravek,  $r = 0,9683$  pro testované tobolky a  $r = 0,9732$  pro testované tablety). U testovaných tablet a tobolek byla pozorována pomalejší absorpce ve srovnání s referenčními tobolkami. Rovněž disoluční profily testovaných tablet a tobolek měly pomalejší uvolňování léčiva než referenční tobolky, ale testované přípravky byly bioekvivalentní s referenčními tobolkami. U testovaných tobolek a tablet byla ve srovnání s referenčními tobolkami nižší  $C_{\max}$ , prodloužená MRT a  $t_{1/2}$  a rovněž větší AUC [58].

### 9.1.1.3 Natrium-divalproát

V této studii byla navržena disoluční zkouška hydrofilních matricových tablet natrium-divalproátu s prodlouženým uvolňováním *in vitro* (24 hodin). Studie stanovila IVIVC na úrovni A. Pro interní ověření se použily tři přípravky s různými rychlostmi uvolňování (přípravek s rychlým uvolňováním, středním a pomalým). Pro externí ověření byla ještě stanovena IVIVC u dvou přípravků, jejichž rychlost uvolňování byla střední až rychlá a střední až pomalá [60].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 500 ml 0,1 M HCl po dobu 45 minut a potom  
900 ml 0,05 M fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 5,5  
obsahujícího 75 mM SLS až do 24 hodin.

Vyhodnocení studie:

Byla stanovena IVIVC na úrovni A a interně ověřena. Žádný přípravek neměl PE větší než 9% jak pro  $C_{max}$  tak pro AUC. IVIVC na úrovni A byla rovněž vyhodnocena externě. Žádný přípravek neměl u externího ověření PE větší než 8% pro  $C_{max}$  i pro AUC [60].

#### **9.1.1.4 Levofloxacin**

Cílem studie bylo stanovit IVIVC na úrovni A dvou potažených tablet s okamžitým uvolňováním 250 mg levofloxacinu [61].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,1 M HCl o pH 2,0.

Vyhodnocení studie:

Pro oba přípravky byla stanovena IVIVC na úrovni A, která nebyla lineární. Závislost množství absorbovaného léčiva na množství léčiva uvolněného nebyla nelineární, protože disoluce u přípravků s okamžitým uvolňováním není limitujícím faktorem. To se v této studii potvrdilo [61].

#### **9.1.1.5 Metoprolol-tartarát**

Cílem této studie bylo stanovit IVIVC hydrofilní matrice metoprolol-tartarátu s prodlouženým uvolňováním s přijatelným interním odhadem a sledovat vliv různých změn ve výrobě a složení přípravku. Studie zkoumala vliv velikosti násady tablet s prodlouženým uvolňováním: 3kg násada (přípravek I) a 50kg násada (II). Dále zkoumala vliv změn ve velikosti násady a způsobu zpracování: 3kg násada zpracovaná fluidní granulací (III),

80kg násada zpracovaná vlhkou granulací a mikrovlnným sušením (IV) a tobolky vyrobené fluidní granulací za použití Wursterovy přepážky (V) [62].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíkem.
- Parametry přístroje: 150 otáček za minutu.
- Disoluční médium: tlumivý roztok o pH 6,8.

Vyhodnocení studie:

U přípravků I, II a IV byly hodnoty PE pro  $C_{\max}$  a AUC nižší než 10 %. U přípravku III byla PE pro AUC menší než 10 %, ale PE pro  $C_{\max}$  11,7 %. U přípravku V bylo PE pro  $C_{\max}$  větší než 20 % a AUC do 5 %.

U přípravků I až IV byly hodnoty PE u  $C_{\max}$  a AUC nízké. Z toho vyplynulo, že IVIVC metoprolol-tartarátu umožňovala použít disoluční data *in vitro* jako náhradu pro validační studie. Za daných podmínek disoluce *in vitro* bylo uvolňování léčiva u přípravku V rychlejší než absorpce *in vivo* (PE je -23 % pro  $C_{\max}$ ).

Studie zdůrazňovala, že IVIVC byla závislá na studovaném přípravku. Mohla by být použita při studiu změn ve výrobě přípravku, které by nevedly ke změnám mechanismu uvolňování léčiva [62].

Další studie popisovala metodologii pro stanovení a ověření IVIVC na úrovni A lékové formy metoprolol-tartarátu s prodlouženým uvolňováním. Mikroenkapsulací 200 mg metoprolol-tartarátu do různých množství ethylcelulosity (EC) byly vytvořeny tři přípravky ve formě tablet s pomalým, středním a rychlým uvolňováním (poměr léčiva a EC byl 1 : 1, 1 : 2 a 1 : 3). Čtvrtý přípravek byl Mepressor® 200 mg [63].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: fosforečnanový tlumivý roztok o pH 6,8.

Vyhodnocení studie:

Zvyšování koncentrace polymeru z poměru 1 : 1 na 1 : 2 a 1 : 3 výrazně snížilo rychlost uvolňování metoprolol-tartarátu. Hodnota koeficientu determinace přípravku s pomalým uvolňováním byla 0,8727, se středně rychlým uvolňováním 0,9669, s rychlým uvolňováním 0,9553 a u přípravku Mepressor® 0,7628. U přípravků se středně rychlým a rychlým uvolňováním se tedy hodnoty regresních koeficientů významně nelišily od hodnoty 1. U těchto dvou přípravků by bylo možné použít disoluční data *in vitro* místo studií biologické dostupnosti *in vivo* [63].

Účelem jiné studie bylo stanovit a interně ověřit IVIVC na úrovni A hydrofilních matricových tablet metoprolol-tartarátu s prodlouženým uvolňováním. U tří přípravků s různými rychlostmi uvolňování (nízkou s 10 % léčiva uvolněného za hodinu, střední s 15 % za hodinu a vysokou s 24 % za hodinu) se zkušel vliv složení přípravku a vliv změn ve výrobě na disoluci *in vitro* a biologickou dostupnost *in vivo* [64].

Charakteristiky první disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: uvedeno pouze pH 1,2 a 6,8.

Charakteristiky druhé disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.
- Parametry přístroje: 100 a 150 otáček za minutu.
- Disoluční médium: uvedeno pouze pH 6,8.

Vyhodnocení studie:

U přístroje s pádlem, pH 1,2 nebo 6,8 a při 50 otáčkách za minutu nebyla korelace lineární. Pro disoluční zkoušku bylo výhodnější použít přístroj s košíčkem, pH 6,8 a 150 otáček za minutu. Korelace byla lineární, hodnoty  $r^2$  byly větší než 0,9. Kombinace přípravku s pomalým uvolňováním a středně rychlým uvolňováním měla nejlepší korelaci ( $r^2 = 0,991$ ). Kombinace přípravku s pomalým uvolňováním a rychlým uvolňováním byla horší



( $r^2 = 0,946$ ). Průměrná PE byla menší než 10 %, což splňovalo požadavky směrnice FDA [64].

#### 9.1.1.6 Paracetamol

Studie simulovala vliv potravy na uvolňování a absorpci léčiva *in vivo* s použitím umělého trávicího systému *in vitro* (ADS, artificial digestive system), který napodoboval gastrointestinální trakt u člověka. Cílem studie bylo určit IVIVC na úrovni A, která by předpověděla biologickou dostupnost léčiva. K odhadu účinnosti ADS *in vitro* byla provedena srovnávací studie mezi zkouškou disoluce a metodou ADS [65].

Ve studii se použily tablety s okamžitým uvolňováním obsahující 500 mg paracetamolu [65].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry disolučního přístroje: 60 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 1000 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 5,8,  
1000 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 1,3,  
FaSSIF a FeSSIF pro napodobení stavu nalačno a stavu po jídle.

Aby bylo možné stanovit vliv tučného jídla na rychlost disoluce, byly tablety nejprve na 15 minut ponořeny do olivového oleje a pak přeneseny do média o pH 5,8.

Charakteristiky metody ADS:

Umělý trávicí systém byl systém řízený počítačem. Systém se skládal ze čtyř částí simulujících žaludek, dvanáctník (duodenum), lačník (jejunum) a kyčelník (ileum). Systém napodoboval stav nalačno i stav po jídle. Dostupnost paracetamolu byla stanovena měřením koncentrace léčiva v dialyzačních tekutinách lačníku a kyčelníku, která se získala pasivní difúzí přes membránu.

Pro napodobení stavu nalačno byla jedna tableta uvedena do žaludeční části současně s 200 g vody.

Pro napodobení stavu po jídle byla jedna tableta vložena do systému se 100 g mixované pevné standardizované stravy (odpovídající pětina jídla obsahujícího 960 kcal: 28,80 g lipidů, 135,40 g sacharidů a 41,25 g Protide a 200 g vody). Cílem bylo zjistit vliv jídla na absorpci léčiva [65].

Vyhodnocení studie:

Při použití metody ADS byla stanovena IVIVC na úrovni A s korelačním koeficientem 0,9128 ve stavu na lačno a 0,9984 pro stav po jídle. Navzdory horší IVIVC ve stavu nalačno jsou výsledky získané metodou ADS bližší hodnotám *in vivo* než výsledky získané pomocí disoluční zkoušky.

Korelace pomocí přístroje s pádlem nemohla být stanovena, protože více než 95% léčiva bylo rozpuštěno *in vitro* za méně než 10 minut při pH 5,8 i při pH 1,3. Metoda ADS se ukázala být citlivá, efektivní a spolehlivá v předpovědi chování léčiv *in vivo* a předpovědi vlivu jídla na tyto přípravky [65].

Jiná studie zkoumala vliv viskózního média na rozklad tablet a disoluci léčiva s cílem napodobit vliv potravy na zvolené vysoce rozpustné léčivo. Do studie bylo zahrnuto pět komerčních tablet paracetamolu s okamžitým uvolňováním, první tři byly konvenční neobalené tablety, čtvrtá byla obalená tableta a pátá byla označena jako tableta s rychlou absorpcí. IVIVC na úrovni A se hodnotila z dat získaných ve stavu nalačno a po jídle [66].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 nebo 25 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 5,8 bez nebo s přídavkem 0,5% nebo 1% viskózního činidla (zvýšení viskozity bylo dosažené přídavkem HPMC K4M).

Vyhodnocení studie:

Při 50 otáčkách za minutu vykazovaly všechny tablety ve fosforečnanovém tlumivém roztoku o pH 5,8 velmi rychlou disoluci pouze s drobnými odchylkami mezi jednotlivými přípravky a poněkud vyšší rychlost disoluce u tablety s rychlou absorpcí. Použití nižších otáček (25 otáček za minutu) mělo za následek nižší rychlost disoluce a větší odchylky mezi zkoumanými léčivými přípravky. Disoluce léčiva v médiu obsahujícím HPMC K4M byla značně zpomalená.

Vhodnost navržené disoluční zkoušky se ověřila pomocí IVIVC na úrovni A. Výsledky *in vitro* pro tři konvenční neobalené tablety v médiu obsahujícím 0,5 %

HPMC K4M byly ve výborné korelaci s daty *in vivo* pro absorpci paracetamolu ve stavu po jídle. HPMC K4M byla použita pro simulaci vlivu jídla v podmínkách *in vitro* jako činidlo zvyšující viskozitu média. Tím bylo možné dosáhnout vysoké IVIVC. Výsledky *in vitro* získané ve fosforečnanovém tlumivém roztoku při 25 otáčkách za minutu dobře korespondovaly s daty *in vivo* získanými ve stavu nalačno. Korelační koeficienty u prvních tří neobalených tablet pro stav nalačno byly 0,9899, 0,9499 a 0,9778 a pro stav po jídle byly 0,9978, 0,9764 a 0,9876 [66].

Cílem další studie bylo stanovit a ověřit IVIVC pro dva přípravky s prodlouženým uvolňováním (matricové tablety a matricové tablety RingCap) obsahující 750 mg paracetamolu [67]. RingCap je patentovaný systém řízeného uvolňování léčiva podávaného perorálně. Léková forma je matricová tableta ve tvaru tobolky, na jejímž povrchu jsou po obvodu aplikovány pásy nerozpustného polymeru. Tyto pásy modifikují rychlost uvolňování léčiva z tablety [68, 69].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Disoluční přístroj: přístroj s vratným válcem.
- Parametry disolučního přístroje: oscilace byly udržovány na hodnotě  $20 \text{ min}^{-1}$ .
- Disoluční médium: 250 ml umělé střevní šťávy bez enzymů. Médium bylo nahrazováno novým médiem v jednohodinových intervalech po dobu 36 hodin.

Vyhodnocení studie:

Byla stanovena IVIVC na úrovni A. Zjistila se lineární závislost,  $r^2 = 0,997$ . PE pro  $C_{\max}$  a AUC byla menší než 10 %, čímž se IVIVC interně ověřila. Dále se zjistilo, že se závislosti skutečné plazmatické koncentrace na čase a odhadnuté plazmatické koncentrace na čase lišily. Farmakokinetické parametry  $C_{\max}$  a AUC neposkytly kompletní data o časovém průběhu koncentrace léčiva v plazmě. Externí odhad IVIVC se zjistil pomocí schopnosti disolučního profilu matricových tablet RingCap odhadnout profil plazmatické koncentrace. PE pro  $C_{\max}$  a AUC byla menší než 10 %.

I když se tedy stanovila vynikající a ověřená IVIVC, která splňovala požadavky směrnice FDA, zjistily se za ideálních podmínek rozdíly v časových závislostech skutečné plazmatické koncentrace a odhadnuté plazmatické koncentrace. To poukazovalo na omezení současných standardů FDA pro stanovení IVIVC. Ideálními podmínkami se rozumělo použití

lčiva, které mělo optimální rozpustnost a permeabilitu. Lčivo by mělo vykazovat téměř dokonale lineární vztah mezi množstvím absorbovaného lčiva a množstvím rozpuštěného lčiva [67].

#### 9.1.1.7 Pramipexol-dihydrochlorid monohydrát

Účelem studie bylo stanovit IVIVC na úrovni A pro přípravky pramipexol-dihydrochloridu monohydrátu s prodlouženým uvolňováním. Korelace se stanovovala na základě dat z pěti přípravků obsahujících pramipexol-dihydrochlorid monohydrát. Prvním přípravkem byly tablety s okamžitým uvolňováním. Další čtyři přípravky byly matricové tablety s prodlouženým uvolňováním, lišící se procentuálním obsahem karbomeru 941 [70] (syntetický polymer kyseliny akrylové [71]) a druhem škrobu. Tři přípravky s prodlouženým uvolňováním používaly kukuřičný škrob, v posledním přípravku byl modifikovaný škrob. Čtvrtý přípravek byl použit pro účely ověření. Přípravek s okamžitým uvolňováním obsahoval pouze kukuřičný škrob a žádný karbomer 941. Disoluční profily se stanovily pro všechny přípravky s prodlouženým uvolňováním [70].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.
- Parametry přístroje: 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 500 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8.

Vyhodnocení studie:

Vypočítané hodnoty PE pro  $C_{max}$  a AUC byly v obou případech pro všechny přípravky s pomalým uvolňováním menší než 11 %, celkový průměr všech hodnot byl menší než 6 %. Závislost mezi množstvím rozpuštěného lčiva *in vitro* a množstvím absorbovaného lčiva *in vivo* byla lineární a nezávislá na podaném přípravku. Změny v procentuálním obsahu karbomeru 941 ovlivnily pouze rychlost uvolňování a neměnily celkový mechanismus uvolňování matricové tablety. Nižší procentuální množství karbomeru 941 v přípravku způsobovalo rychlejší uvolňování, zatímco vyšší obsah karbomeru 941 měl za následek pomalejší uvolňování. Vzhledem k tomu, že pramipexol-dihydrochlorid monohydrát je lčivo s širokým terapeutickým indexem a že byla stanovena IVIVC pro přípravky s třemi různými rychlostmi uvolňování, mohly by být disoluční zkoušky *in vitro* použity pro registraci přípravku jako biowaiver [70].

### 9.1.1.8 Salbutamol-sulfát

Účelem této studie bylo prozkoumat možnost stanovení korelace mezi disolučními parametry *in vitro* a farmakokinetickými parametry *in vivo* u čtyř přípravků obsahujících salbutamol-sulfát. Dva přípravky byly komerčně dostupné (Ventolin<sup>®</sup> Oral a Volmax<sup>®</sup>). Dva testované přípravky byly ve formě matricových tablet s řízeným prodlouženým uvolňováním s obsahem HPMC K100M nebo se směsí tohoto polymeru s karmelosou sodnou solí [72].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.
- Parametry přístroje: 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 500 ml čištěné vody.

Vyhodnocení studie:

Určovala se IVIVC na úrovni A. Pro komerční přípravek Ventolin<sup>®</sup> Oral nemohla být korelace stanovena. V případě přípravku Volmax<sup>®</sup> a dvou testovaných přípravků s proslouženým uvolňováním se stanovila dobrá korelace s korelačními koeficienty 0,98, 0,97 a 0,99. Ze směrnice regresních křivek vyplynulo, že absorpce salbutamol-sulfátu *in vivo* je pomalejší než pozorovaná rychlost disoluce *in vitro*.

Dále se stanovila korelace na úrovni B mezi hodnotami MDT a hodnotami střední doby absorpce *in vivo* (MIT) s korelačním koeficientem 0,82. Podobně při srovnání MDT a MRT byl korelační koeficient 0,81. Tato špatná korelace mohla být způsobena vlivem pH na profil uvolňování karmelosy sodné soli.

Zjistila se také korelace na úrovni C mezi MDT a vybranými farmakokinetickými parametry ( $t_{1/2}$ ,  $T_{max}$  a  $C_{max}$ ). U všech přípravků byl nízký korelační koeficient mezi MDT a  $t_{1/2}$  ( $r = 0,87$ ). Výborný korelační koeficient byl pozorován mezi MDT a  $C_{max}$  ( $r = 0,98$ ) a mezi MDT a  $T_{max}$  ( $r = 0,98$ ). Mezi MDT a AUC nebylo možné korelaci stanovit. Z těchto výsledků vyplývá, že MDT získaný pomocí disoluční zkoušky je dobrý pro odhad  $T_{max}$  a  $C_{max}$ , ale ne pro odhad AUC [72].

Jiná studie popisovala přípravu a charakteristiky *in vitro* a *in vivo* tří různých přípravků s prodlouženým uvolňováním označených T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> a T<sub>3</sub> a referenčních tablet Ventolinu 8 mg s prodlouženým uvolňováním. Testované přípravky ve formě tablet

obsahovaly mikročástice 9,6 mg salbutamol-sulfátu a EC v poměru 1 : 1 (T<sub>1</sub>), 1 : 2 (T<sub>2</sub>), 1 : 3 (T<sub>3</sub>). EC má schopnost absorbovat tlak během výroby tablet, je netoxická, biologicky kompatibilní a biologicky odbouratelná. Z těchto důvodů se používá při výrobě tablet, zejména u přípravků s prodlouženým uvolňováním. Každá dávka mikročástic obsahovala 1 % mastku, 0,5 % magnesium-stearátu, 10 % škrobu a laktosy použité jako plnivo. Studie stanovila IVIVC na úrovni A [73].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50, 100 nebo 150 otáček za minutu.
- Disoluční médium: čištěná voda, 0,1 M HCl a tlumivý roztok o pH 6,8.

Vyhodnocení studie:

Studie zkoumala vliv poměru salbutamol-sulfátu a EC, vliv disolučního média a rychlosti otáčení pádla na výslednou IVIVC. Hustota přípravku se snižovala s rostoucím poměrem léčiva a polymeru. Rychlost uvolňování léčiva byla větší u tablet s nízkou koncentrací polymeru.

Profily uvolňování léčiva *in vitro* měly dvě fáze. Za úvodním rychlým uvolněním léčiva („burst effect“) následovala dlouhá pomalá fáze. Úvodní rychlá fáze byla výhodná, protože vytvářela okamžitý efekt, který pak byl udržován po dlouhou dobu pomalým uvolňováním léčiva.

Mezi disolučními a farmakokinetickými daty byla pozorována dobrá korelace. Koeficienty determinace byly vysoké. U přípravku T<sub>1</sub> byl  $r^2$  0,9224, u přípravku T<sub>2</sub> byl  $r^2$  0,945, u přípravku T<sub>3</sub> byl  $r^2$  0,9363 a u referenčního přípravku byl  $r^2$  0,9694. Z hodnot koeficientů determinace vyplynulo, že disoluční profily by mohly být použity pro odhad profilu léčiva *in vivo* [73]

#### **9.1.1.9 Theofylin**

Cílem studie bylo vyhodnocení *in vivo* dvou přípravků s prodlouženým uvolňováním (24 hod) připravených metodou jednostupňové vlhké granulace a následným lisováním. Jeden přípravek obsahoval hydrofilní polyethylenglykol 6000 (PEG 6000) a druhý přípravek obsahoval lipofilní glycerol-monostearát. Granulát by slisován do tablet obsahujících 200 mg theofylinu [74].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: tablety byly umístěny do 750 ml 0,1 M HCl na 2 hodiny a poté do 0,05 M fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8 na 24 hodin. Změna pH se docílila přidávkem 250 ml 0,2 M Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Ke studiu vlivu pH na disoluční profil se použila čtyři disoluční média:  
0,1 M HCl o pH 1,2,  
0,02 M acetátový tlumivý roztok o pH 4,5,  
0,05 M fosforečnanový tlumivý roztok o pH 6,8,  
čištěná voda.

Vyhodnocení studie:

Přípravek obsahující glycerol-monostearát vykazoval pomalejší rychlost uvolňování theofylinu. Za 24 hodin se uvolnilo kolem 65 % theofylinu z přípravku obsahujícího PEG 6000 a více než 80 % z přípravku obsahující glycerol-monostearát. U obou testovaných přípravků se zjistila velmi dobrá IVIVC na úrovni A mezi profilem disoluce a absorpce při použití disolučních médií s různými hodnotami pH.

Pro přípravek s PEG 6000 byl  $r > 0,995$ , pro přípravek s glycerolem-monostearátem byl  $r > 0,975$ . pH nemělo vliv na výslednou IVIVC.

Mezi oběma přípravky se zjistily významné odchylky v závislostech plazmatické koncentrace na čase. U přípravku obsahujícího PEG 6000 byla vyšší  $C_{max}$ , vyšší  $AUC_{0-\infty}$  a zpožděný  $T_{max}$ . Biologická dostupnost theofylinu byla 96% pro přípravek obsahující PEG 6000 a 46% pro přípravek obsahující glycerol-monostearát [74].

## 9.1.2 Tobolky

### 9.1.2.1 Diltiazem-hydrochlorid

Cílem studie bylo vyvinout a ověřit IVIVC na úrovni A tobolek přípravku s prodlouženým uvolňováním obsahujícího diltiazem-hydrochlorid. Testovaly se tobolky s pomalým, středním a rychlým uvolňováním léčiva a perorální roztok (90 mg). Byl vytvořen model nelineární korelace pro různé kombinace přípravků. Korelace se stanovila mezi střední plazmatickou koncentrací diltiazemu a časovými průběhy přípravků s pomalým, středním a rychlým uvolňováním [75].

Charakteristiky první disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: čištěná voda.

Charakteristiky druhé disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s vratným válcem.
- Parametry přístroje: 30 ponorů za minutu.
- Disoluční médium: čištěná voda.

Vyhodnocení studie:

Disoluční zkouška provedená s přístrojem s pádlem využívajícím čištěnou vodu byla přesnější a disoluční profil více odpovídal absorpčnímu profilu *in vivo*. Proto byl přístroj s pádlem zvolen pro stanovení IVIVC.

Variační koeficient byl u  $C_{\max}$  a AUC větší než 50 %. Průměrná PE pro  $C_{\max}$  byla 12,4 % (o 2,4 % více, než je akceptovatelná mez), pro AUC byla 9,2 %. Hodnoty PE naznačovaly, že stanovený model IVIVC byl neprůkazný a bylo by potřeba provést externí odhad. Špatná IVIVC by mohla být vysvětlena vlivem velké variability ve farmakokinetice diltiazem-hydrochloridu [75].

### 9.1.2.2 Levosimendan

Cílem této studie bylo prozkoumat možnosti stanovení různých úrovní korelace mezi uvolňováním *in vitro* a absorpcí *in vivo* pro čtyři přípravky levosimendanu ve formě tobolek s řízeným prodlouženým uvolňováním. Hledaly se optimální podmínky disoluce *in vitro*, které by nejlépe odpovídaly profilu absorpce levosimendanu. Rozdíly v disolučních křivkách *in vitro* se porovnávaly s farmakokinetickými parametry popisující rychlost absorpce. Přípravky F, G, H a I se lišily v množství kyseliny alginové a HPMC K100LV. Složení přípravků je uvedeno v Tabulce 4 [76].



Tabulka 4: Složení přípravků s prodlouženým uvolňováním

Složka/složení (mg)	Přípravky			
	F	G	H	I
levosimendan	2,0	2,0	2,0	2,0
kyselina alginová	18,0	23,0	28,0	33,0
HPMC K100LV	37,0	46,0	56,0	66,0
kyselina stearová	2,1	1,5	2,4	2,5
mikrokrytalická celulóza	84,0	69,5	56,0	43,0

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíkem.
- Parametry přístroje: 50 nebo 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 500 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 5,8 nebo 7,4.

Vyhodnocení studie:

Studie nejprve porovnávala farmakokinetické parametry  $T_{max}$  a MRT jednotlivých přípravků. Přípravek I se od ostatních lišil tím, že se pomaleji absorboval. Výsledky disoluce při pH 5,8 a 100 otáčkách za minutu nejlépe odpovídaly výsledkům *in vivo*.

IVIVC na úrovni C se zjišťovala mezi  $T_{80\%}$  a  $C_{max}$ . Korelační koeficient se pohyboval v rozmezí od 0,52 do 1.

IVIVC na úrovni B se zjišťovala mezi MDT a MRT. Korelační koeficient se pohyboval v rozmezí od 0,74 do 0,98. Korelační koeficienty byly podstatně lepší při pH 5,8 než při 7,4. Nejlepší korelační koeficient byl při pH 5,8 a při 50 otáčkách za minutu.

IVIVC na úrovni A byla stanovena u přípravku H, který je z klinického hlediska nejslibnější. Korelace se zjistila mezi absorbovaným množstvím léčiva *in vivo* a uvolněným množstvím *in vitro*. Korelační koeficient byl 0,997. Této hodnoty bylo dosaženo při pH 5,8 a 100 otáčkách za minutu [76].

### 9.1.2.3 Metoprolol-tartarát

Studie se zabývala stanovením IVIVC tobolek s řízeným prodlouženým uvolňováním obsahujících metoprolol-tartarát. Poločas eliminace tobolek byl 3 až 4 hodiny. Tobolky obsahovaly pelety, které byly obaleny různým poměrem mikrokrytalického vosku a glycerol-distearátu s použitím tetrachlormethanu jako rozpouštědla [77].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.

- Parametry přístroje: 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 0,1 M HCl po dobu 2 hodin a fosforečnanový tlumivý roztok o pH 7,4 po dobu 6 hodin.

Vyhodnocení studie:

Mikrokrystalický vosk a glycerol-distearát se použily za účelem zpomalení rychlosti uvolňování léčiva. Při použití většího množství těchto dvou látek se přímo úměrně zvýšila doba, za kterou se uvolnilo obdobné množství léčiva.

Byla stanovena IVIVC na úrovni A s korelačním koeficientem  $r = 0,9656$  [77].

Cílem další studie bylo připravit tobolky s prodlouženým uvolňováním obsahující granule metoprolol-tartrátu a stanovit IVIVC na úrovni A. Léková forma obsahovala polymery hydrofilní HPMC K100M a hydrofobní EC jako matricový základ a Eudragit® RL/RS jako obalový polymer. Granule připravené metodou vlhké granulace se skládaly z různého množství HPMC K100M, EC, fosforečnanu vápenatého a následně se obalovaly Eudragitem® RL/RS. Cílem bylo stanovit optimální složení přípravku. Touto kombinací se docílilo řízeného prodlouženého uvolňování léčiva [78].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,1 M HCl po dobu 2 hodin,  
900 ml fosforečnanový tlumivý roztok o pH 6,8 od 3. do 12. hodiny.  
Tyto média simulovaly gastrointestinální pH. V daných časových intervalech se odebíralo 5 ml média a nahrazovalo se stejným množstvím nového média o stejné teplotě.

Vyhodnocení studie:

Obaly z Eudragitu® RL jsou více permeabilní ve srovnání s obaly z Eudragitu® RS. Tobolky obsahující obalené matricové granule metoprololu vykazovaly ve srovnání s konvenčními tabletami pomalejší uvolňování léčiva. Optimalizovaný přípravek metoprolol-tartrátu obsahoval 30 % HPMC K100M, 20 % EC a 25 % Eudragitu® RL/RS (RL : RS

v poměru 97,5 : 2,5). Byla stanovena dobrá korelace mezi frakcí absorbovaného léčiva *in vivo* a frakcí uvolněného léčiva *in vitro* s korelací  $r^2 = 0,9434$ . Obalované granule s prodlouženým uvolňováním měly výhodu ve snížení možnosti nekontrolovaného uvolnění léčivé látky („dose-dumping“) oproti tabletové lékové formě. Zkoumané matricové granule v tobolkách s prodlouženým uvolňováním byly schopné udržovat konstantní plazmatickou koncentraci metoprolol-tartrátu po dobu 10 až 12 hodin s vysokým koeficientem determinace [78].

### 9.1.3 Bukální tablety

#### 9.1.3.1 Isosorbid-dinitrát

Studie stanovila IVIVC na úrovni A transmukózního terapeutického systému obsahujícího isosorbid-dinitrát. Přípravek se skládal ze dvou vrstev (s rychlým a prodlouženým uvolňováním). Přípravek byl vyvinut pro systémové podání účinných látek [79].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50, 100 a 200 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml tekutiny určené pro test rozkladu uvedené v japonské Pharmacopoei o pH 1,2,  
900 ml 0,05 M acetátového tlumivého roztoku o pH 4,0,  
900 ml 0,05 M fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,0,  
900 ml 0,05 M fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8,  
900 ml 0,05 M fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 8,0.

Aby bylo možné zjistit vliv pH ve slinách, měnilo se pH disolučního média.

Vyhodnocení studie:

Vrstva s rychlým uvolňováním, která obsahovala 20 % léčiva, se rozpustila během 30 minut. Vrstva s prodlouženým uvolňováním obsahující 80 % léčiva se postupně rozpouštěla během 12 hodin. Profily uvolňování transmukózního terapeutického systému byly závislé na otáčkách pádla, uvolňování léčiva se zvyšovalo se zvyšujícími se otáčkami pádla. Zvyšování pH disolučního média od 1,2 do 8,0 nemělo vliv na profil uvolňování, což lze interpretovat tak, že změny pH ve slinách neovlivnily uvolňování léčiva z přípravku. pH slin se pohybuje v rozmezí od 6 do 7, proto se často volí fosforečnanový tlumivý roztok o pH 6,8

jako disoluční médium. Ve studii se zjišťoval vliv otáček pádla na IVIVC pro disoluční médium o pH 6,8. Určily se tyto korelační koeficienty: 0,957 pro 50 otáček za minutu,  
0,970 pro 100 otáček za minutu,  
0,986 pro 200 otáček za minutu.

Z výsledků bylo patrné, že při použití vyšších otáček pádla byly lepší výsledky IVIVC. Studie se rovněž zabývala vlivem velikosti dávky na IVIVC. Korelační koeficient byl u přípravků o hmotnosti 5 mg a 10 mg stejný ( $r = 0,99$ ). Velikost dávky tedy na IVIVC neměla žádný vliv [79].

#### 9.1.4 Mikročástice

##### 9.1.4.1 Tramadol-hydrochlorid

Cílem studie bylo vyvinout mikročástice tramadol-hydrochloridu s řízeným prodlouženým uvolňováním určené pro perorální podání a stanovit IVIVC. Použily se čtyři přípravky obsahující různé poměry tramadol-hydrochloridu a EC (1 : 0,5, 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3) a jeden přípravek s okamžitým uvolňováním [80, 81].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 1,2 v prvních dvou hodinách disoluční zkoušky, v dalších dvou hodinách o pH 4,5, potom dvě hodiny o pH 6,8 a nakonec po následujících 18 hodin o pH 7,4.

Vyhodnocení studie:

Z výše uvedených přípravků se vybraly dva přípravky s poměry tramadol-hydrochloridu a EC 1 : 2 a 1 : 3 a tedy s pomalejším uvolňováním *in vitro* a přípravek s okamžitým uvolňováním. U těchto přípravků byla stanovena IVIVC na úrovni A. U přípravku s poměrem tramadol-hydrochloridu a EC 1 : 2 byla dobrá IVIVC ( $r^2 = 0,9957$ ), přípravek s poměrem tramadol-hydrochloridu a EC 1 : 3 měl ve srovnání s předchozím přípravkem IVIVC slabší ( $r^2 = 0,9722$ ). Nejlepší IVIVC ( $r^2 = 0,9979$ ) byla u přípravku s okamžitým uvolňováním, který byl terapeuticky účinný jen po dobu 8 hodin. Studie uvedla, že vybrané přípravky s prodlouženým uvolňováním by mohly zajistit terapeutickou hladinu tramadol-hydrochloridu po dobu 24 hodin [80].

## 9.1.5 Osmotická pumpa

### 9.1.5.1 Tramadol-hydrochlorid

Ve studii se vyvíjel a vyhodnocoval přípravek s prodlouženým uvolňováním tramadol-hydrochloridu (100 mg) ve formě osmotické pumpy. Osmotické pumpy jsou vhodné pro léčiva se střední rozpustností ve vodě. Při použití jednoduché osmotické pumpy nebo osmotické pumpy s řízenou pórovitostí se nemohou u léčiv nerozpustných ve vodě získat přijatelné rychlosti uvolňování. Ve studii se určovalo optimální složení přípravku a zjišťoval se vliv měnících se hydrodynamických podmínek na rychlost uvolňování. Profily uvolňování *in vitro* vyvíjených přípravků se porovnávaly s komerčním přípravkem s okamžitým uvolňováním (Tramazac<sup>®</sup>, 50 mg) a s komerčním přípravkem s prodlouženým uvolňováním (TRD-CONTIN<sup>®</sup>, 100 mg) [82].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml umělé střešní šťávy o pH 6,8.

Vyhodnocení studie:

Optimální přípravek, u kterého uvolňování léčiva nejlépe odpovídalo požadovanému profilu uvolňování, obsahoval: 100 mg tramadol-hydrochloridu, 136 mg mannitolu, 50 mg polyethylenoxidu (PEO), 10 mg PVP, 2 mg mastku a 2 mg magnesium-stearátu. Uvolňování léčiva z těchto tablet bylo nezávislé na pH a intenzitě míchání, ale bylo závislé na osmotickém tlaku média. Při změně otáček pádla z 50 na 100 a 150 otáček za minutu se nezjistil významný vliv na profily uvolňování. U optimalizovaného přípravku se stanovila IVIVC na úrovni A s korelačním koeficientem  $r = 0,9750$ . Tato hodnota ukazovala dobrou korelaci až do 54 % uvolněného léčiva *in vitro* [82].

## 9.2 Studie léčiv zařazených do 2. třídy BCS

Do 2. třídy BCS se řadí léčiva s nízkou rozpustností a vysokou permeabilitou [3].

## 9.2.1 Tablety

### 9.2.1.1 Aceklofenak

Účelem studie bylo vyvinout tabletu s prodlouženým uvolňováním aceklofenaku (po dobu 24 hodin) obsahující chitosan-hydrochlorid a polymer pro enterosolventní potahování, ftalát hypromelosity nebo celacefát [83, 84]. Prodlouženého uvolňování se dosáhlo přípravou dvouvrstvých tablet, u kterých sloužila jedna vrstva pro okamžité uvolnění léčiva a druhá vrstva pro prodloužené uvolňování léčiva. Polymer nerozpustný v kyselých podmínkách řídil uvolňování v žaludku a chitosan-hydrochlorid nerozpustný v zásaditých podmínkách řídil uvolňování léčiva ve střevě [83].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 75 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 2% SLS v 0,1 M HCl až do 2 hodin a potom 900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8 až do 24 hodin.

Vyhodnocení studie:

U léčiva obsahujícího chitosan-hydrochlorid a ftalát hypromelosity se pozorovala dobrá ekvivalence profilu uvolňování léčiva ve srovnání s profilem uvolňování komerčního léčiva. Ekvivalence se dosáhlo úpravou koncentrací chitosan-hydrochloridu a polymeru v léčivu. IVIVC na úrovni A se provedla metodou dekonvoluce a porovnály se odpovídající hodnoty  $r^2$ . Zjištěné hodnoty byly téměř ekvivalentní ( $r^2 = 0,9612$  pro testovaný přípravek s prodlouženým uvolňováním a  $r^2 = 0,9651$  pro komerční přípravek). Výsledky tedy potvrdily, že oba přípravky lze považovat za bioekvivalentní [83].

### 9.2.1.2 Amiodaron-hydrochlorid

Studie vyhodnocuje IVIVC tří chemicky ekvivalentních generických přípravků s okamžitým uvolňováním amiodaron-hydrochloridu. Tyto testované přípravky ve formě tablet se porovnávaly s třemi referenčními přípravky ve formě tablet. Stanovovala se závislost mezi MRT a MDT (IVIVC na úrovni B) a závislost frakce rozpuštěného léčiva na frakci absorbovaného léčiva (IVIVC na úrovni A) [85].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.

- Parametry přístroje: 75 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,1 M acetátového tlumivého roztoku o pH 5 obsahujícího 1% SLS.

Vyhodnocení studie:

Testované tablety měly vyšší rychlost disoluce než referenční tablety. Zjistila se slabá IVIVC mezi MRT a MDT a nezjistila se závislost mezi množstvím rozpuštěného léčiva a množstvím absorbovaného léčiva. Disoluční profily testovaných přípravků nebyly ekvivalentní disolučním profilům referenčních přípravků. Bylo to způsobeno tím, že disoluční médium uvedené ve studii úplně nesimulovalo podmínky v gastrointestinálním traktu. Aby bylo dosaženo lepší korelace, bylo by vhodné navrhnout jiné disoluční podmínky, které by lépe napodobily podmínky léčiva *in vivo* [85]. Studie také uvedla, že k úspěšnému odhadu chování léčivých přípravků špatně rozpustných ve vodě by měla být použita biorelevantní disoluční média. Při použití těchto médií by bylo možné dosáhnout dobré korelace [86].

### 9.2.1.3 Aripiprazol

Cílem této studie bylo vyhodnotit biologickou dostupnost aripiprazolu ze dvou připravených lékových forem. Jednalo se o tablety tvořené vysráženými částicemi a nanočásticemi. Tyto tablety se srovnávaly s komerčními tabletami. Stanovily se dva typy korelací: IVIVC na úrovni C a vícenásobná korelace na úrovni C [87]. Připravené lékové formy měly zrychlit disoluci a tak zlepšit biodostupnost aripiprazolu, léčiva špatně rozpustného ve vodě [88].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 60 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,1 M HCl.

Vyhodnocení studie:

Disolučními parametry pro stanovení IVIVC byla procentuální množství léčiva rozpuštěného za určitou dobu, která se vyjadřovala jako hodnoty D. Například D30 znamená procentuální množství rozpuštěné po 30 minutách [89].

IVIVC na úrovni C se zjišťovala pro každou z disolučních hodnot D10, D20, D30 s hodnotou  $C_{\max}$  [43]. Vícenásobná IVIVC na úrovni C se zjišťovala pro hodnoty AUC ( $AUC_{0-1 \text{ hod}}$ ,  $AUC_{0-2 \text{ hod}}$ ,  $AUC_{0-3 \text{ hod}}$ ) s hodnotami D10, D20, D30 [90].

Střední hodnota  $C_{\max}$  tablet tvořených nanočásticemi aripiprazolu byla významně vyšší než střední hodnota  $C_{\max}$  tablet tvořených sráženými částicemi aripiprazolu. Byla také vyšší než střední hodnota  $C_{\max}$  komerčních tablet, ne však významně. Střední hodnota  $AUC_{0-72 \text{ hod}}$  u tablet s nanočásticemi aripiprazolu byla významně vyšší ve srovnání se střední hodnotou  $AUC_{0-72 \text{ hod}}$  tablet tvořených sráženými částicemi aripiprazolu. Hodnota byla výrazně vyšší i ve srovnání s komerčními tabletami. To svědčilo o tom, že absorpce aripiprazolu z tablet obsahujících nanočástice byla významně vyšší než u ostatních tablet.

Mezi hodnotami D a  $C_{\max}$  se zjistila dobrá IVIVC na úrovni C ( $r^2 > 0,9658$ ). Obdobné hodnoty  $r^2$  se zjistily u vícenásobné IVIVC na úrovni C [87].

#### 9.2.1.4 Cilostazol

Studie zkoumala perorální biologickou dostupnost tablet s okamžitým uvolňováním obsahujících krystaly cilostazolu špatně rozpustného ve vodě a stanovila IVIVC.

Ke studii se použily tablety o hmotnosti 100 mg. Tablety obsahovaly sprejově sušený prášek cilostazolu upravený mokřím mletím, mannitol a karmelosu sodnou sůl. Dále se použila suspenze složená z 82,7 % cilostazolu, 16,5 % hyprololy a 0,8 % dokusátu sodné soli. Výsledky biologické dostupnosti se srovnávaly s komerčními tabletami (Pletal®, 100 mg) [91].

Charakteristiky první disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,3 % SLS, 4 % polysorbátu 80 nebo čištěné vody.

Charakteristiky druhé disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s průtokovou celou.
- Parametry přístroje: průtok  $4 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $8 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ .
- Disoluční médium: 20 l 0,2% SLS.



Vyhodnocení studie:

Perorální biologická dostupnost tablet cilostazolu získaných mokrým mletím byla v podmínkách nalačno 13 krát vyšší než u komerčních tablet získaných v kladivových mlýnech.

Disoluce cilostazolu, připraveného mokrým mletím, provedená pomocí přístroje s pádlem, byla pomalejší než u komerčních tablet. Pomalejší dezintegrace v médiu byla způsobena silným efektem pojiva hypolosy .

Při použití přístroje s průtokovou celou (systém s uzavřenou smyčkou bez výstupního filtru) se zjistila vynikající korelace na úrovni A mezi disolucí *in vitro* a absorpcí *in vivo* ( $r = 0,92-0,996$ ). Použité disoluční médium obsahovalo SLS v koncentraci nižší, než je kritická micelární koncentrace pro stav nalačno a po jídle.

Při zvýšení průtoku média ze  $4 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$  na  $8 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$  při použití přístroje s průtokovou celou u přípravku připraveného mokrým mletím se nezjistila změna v disolučním profilu. Ale u komerčního přípravku došlo při zvýšení průtoku ke zvýšení rychlosti disoluce.

Jídlo nezvyšovalo perorální biologickou dostupnost u tablet připravených mokrým mletím, zatímco u komerčních tablet se zjistilo čtyřnásobné zvýšení [91].

### 9.2.1.5 Ciprofloxacin

Studie zkoumala biologickou dostupnost sedmi 500 mg tablet ciprofloxacinu a referenčního přípravku, stanovila vícenásobnou korelaci na úrovni C [92].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml čištěné vody.

Vyhodnocení studie:

Vícenásobná korelace na úrovni C stanovila korelační koeficient mezi hodnotami disoluce T30% (doba, za kterou se uvolní 30 % léčiva), T50%, T90%, procentuálním množstvím léčiva rozpuštěného po 30 minutách a hodnotami  $T_{\max}$ ,  $AUC_{0-t}$ ,  $K_a$ . Korelační koeficient u kombinací uvedených parametrů se pohyboval v rozmezí od  $-0,318$  do  $0,252$ . Tyto hodnoty ukazovaly, že mezi parametry *in vitro* a *in vivo* u ciprofloxacinu se nezjistila žádná korelace. Bylo to dáno tím, že se jednalo o přípravek s okamžitým uvolňováním léčiva.

Kdykoli tedy dojde ke změně složení přípravku nebo výrobního postupu, bude nutno provést bioekvivalenční studii [92].

#### 9.2.1.6 Dipyridamol

Studie se zabývala uvolňováním léčiva a IVIVC na úrovni A u matricových tablet s prodlouženým uvolňováním a u systému s řízeným prodlouženým uvolňováním pomocí osmotické pumpy [93, 94].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,1 M HCl.

Vyhodnocení studie:

Závislost mezi disolucí *in vitro* a absorpcí *in vivo* dipyridamolu u systému s osmotickou pumpou vykazovala silnou lineární korelaci ( $r = 0,9964$ ). U matricových tablet dipyridamolu nemohla být korelace stanovena. Ze zakřivení korelační křivky bylo patrné, že mezi frakcí *in vitro* a *in vivo* je časový rozdíl. Disoluční zkouška ukázala, že u matricových tablet se uvolnilo více než 85 % léčiva za 12 hodin, u zkoušky *in vivo* se téměř veškeré léčivo uvolnilo již po 6 hodinách po podání. Biologická dostupnost matricových tablet byla mnohem menší než biologická dostupnost u systému s osmotickou pumpou. Pro optimalizaci disoluční zkoušky *in vitro* by bylo vhodné měnit hodnoty pH podle pH v gastrointestinálním traktu [93].

#### 9.2.1.7 Fosamprenavir

Cílem této studie bylo navrhnout disoluční zkoušku tablet fosamprenaviru, ověřit ji na základě dat *in vivo* a stanovit IVIVC na úrovni A [95].

Charakteristiky první disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.
- Parametry přístroje: 75 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,01 M a 0,1 M HCl,  
900 ml acetátového tlumivého roztoku o pH 4,5.

Charakteristiky druhé disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 a 75 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,01 M a 0,1 M HCl,  
900 ml acetátového tlumivého roztoku o pH 4,5.

Vyhodnocení studie:

Výsledky z přístroje s košíčkem ukázaly, že profil disoluce *in vitro* byl podobný absorpčnímu profilu *in vivo* u všech tří médií. U všech byla dobrá IVIVC na úrovni A (u 0,01 M HCl byl  $r^2 = 0,984$ , u 0,1 M HCl byl  $r^2 = 0,970$  a u acetátového tlumivého roztoku byl  $r^2 = 0,973$ ). Z uvedených výsledků vyplynulo, že nejlepší IVIVC na úrovni A byla při použití disolučního média 0,01 M HCl.

Při použití přístroje s pádlem a 50 otáčkách za minutu byla rychlost disoluce u všech tří médií podobná pouze během prvních 20 minut. Po této době byla rychlost disoluce při použití 0,1 M HCl nižší než rychlost absorpce. Při použití 0,01 M HCl a acetátového tlumivého roztoku byly disoluční profily podobné profilům absorpčním. U acetátového tlumivého roztoku byla stanovena IVIVC ( $r^2 = 0,95$ ). Při 75 otáčkách za minutu byla podobnost profilů nejlepší při použití acetátového tlumivého roztoku ( $r^2 = 0,96$ ) a 0,01 M HCl ( $r^2 = 0,98$ ). U 0,1 M HCl vykázaly tablety fosamprenaviru rychlejší disoluci [95].

#### 9.2.1.8 Gliklazid

Účelem studie bylo vyvinout *in vitro* model pro absorpci gliklazidu. Takto vzniklý model se použil k vytvoření profilu absorpce *in vivo* pro IVIVC a navrhly se podmínky disoluce tablet gliklazidu s okamžitým uvolňováním na základě dat *in vitro*. Pro vyhodnocení vztahu mezi daty *in vitro* a *in vivo* se stanovila IVIVC na úrovni A [96, 97].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml různých disolučních médií o pH 1,2; 4,0; 4,5; 6,8; 7,2 a 7,4.

Vyhodnocení studie:

Při použití média o pH 4,0 byla disoluce pomalá a neúplná pro všechny zkoušené přípravky. Příčinou pravděpodobně byla nízká rozpustnost gliklazidu při pH 3,0–4,2. Ačkoli

gliklazid vykazoval srovnatelnou rozpustnost při pH 1,2 a 7,2, pomalejší uvolňování při pH 1,2 ukazovalo, že rozpustnost nebyla hlavním faktorem, který určoval rychlost disoluce v tomto médiu. Pomalá disoluce při pH 1,2 se vysvětlila pomalou penetrací vody do lékové formy při tomto pH. Na druhé straně byl proces uvolňování v médiu o pH 7,2 rychlý a úplný. Bez ohledu na nejvýhodnější podmínky disoluční zkoušky (vysoká rozpustnost při pH 7,2 a 100 otáček za minutu) bylo toto médium schopné odlišit různé přípravky gliklazidu. Ve studii byla úspěšně stanovena IVIVC na úrovni A. Korelační koeficient se pohyboval v rozmezí 0,875 až 0,999. Disoluční kritéria popsaná v této studii by mohla být použita k vytvoření metodologie *in vitro*, která by předpovídala chování léčivého přípravku *in vivo* a mohla by sloužit jako náhrada za klinické bioekvivalenční studie [96].

### 9.2.1.9 Glimepirid

Cílem této studie bylo porovnat dva druhy tablet připravených lisováním pevné disperze a mikronizovaného prášku s komerčními tabletami glimepiridu (Amaryl<sup>®</sup>). Účelem bylo zlepšit perorální absorpci špatně rozpustného glimepiridu a stanovit, který přípravek by byl výhodnější [98].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 75 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 100 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8,  
100 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 7,2,  
100 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 7,8,  
100 ml trometamolového tlumivého roztoku o pH 10,4 [98].

Vyhodnocení studie:

Jako disoluční médium byl vybrán trometamolový tlumivý roztok o pH 10,4. Tento roztok je vhodný pro vyhodnocení vztahu mezi disolucí *in vitro* a absorpcí *in vivo* u přípravků obsahujících glimepirid [99]. Zvýšení rychlosti disoluce se dosáhlo zmenšením velikosti částic glimepiridu. Celková disoluce po 1 hodině byla u částic glimepiridu o velikosti 10  $\mu\text{m}$  5 krát větší než u hrubého prášku. Bylo to způsobeno větší plochou léčiva.

Protože je obtížné stanovit IVIVC na úrovni A pro léčivo s okamžitým uvolňováním, byla v této studii stanovena IVIVC na úrovni C, která stanovila vztah mezi disolučními a farmakokinetickými parametry. Jako disoluční parametry byly zvoleny D10 (procentuální

množství rozpuštěné po 10 minutách) a  $AUC_{0-20}$  (AUC od 0 do 20 minut). Pro popis průběhu absorpce se vyhodnocoval  $T_{max}$ . Hodnota  $r^2$  mezi D10 a  $T_{max}$  u trometamolového tlumivého roztoku o pH 10,4 byla 0,79, u fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8 byla 0,02, u fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 7,2 byla 0,21 a u fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 7,8 byla 0,26.

Hodnota  $r^2$  mezi  $AUC_{0-20}$  a  $T_{max}$  u trometamolového tlumivého roztoku o pH 10,4 byla 0,88, u fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8 byla 0,02, u fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 7,2 byla 0,21 a u fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 7,8 byla 0,18. Tato data ukazovala, že disoluce tří přípravků glimepiridu v trometamolovém tlumivém roztoku měla nejlepší korelaci s parametrem  $T_{max}$  *in vivo*.

U dvou testovaných přípravků byla disoluce výrazně lepší než u tradičních tablet glimepiridu (Amaryl®). I přesto byly disoluční profily testovaných přípravků s komerčními tabletami porovnatelné. Oba nové testované přípravky by byly schopné zlepšit disoluci *in vitro* a biologickou dostupnost *in vivo* [98].

#### 9.2.1.10 Glipizid

Cílem studie bylo stanovit interně i externě ověřitelnou IVIVC na úrovni A pro tři přípravky glipizidu s prodlouženým uvolňováním [100].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 a 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: fosforečnanový tlumivý roztok o pH 6,8, 0,1 M HCl.

Vyhodnocení studie:

IVIVC na úrovni A se stanovila pro přípravky s rychlým (12 hodin), středně rychlým (18 hodin) a pomalým uvolňováním (24 hodin) a pro jejich různé kombinace. Použila se obě uvedená média při 50 a 100 otáčkách za minutu. Dobrá IVIVC byla u fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8 při 50 otáčkách za minutu ( $r^2 = 0,9483$ ) i při 100 otáčkách za minutu ( $r^2 = 0,9522$ ) u kombinace uvedených tří přípravků. Testování při 100 otáčkách za minutu vykazovalo lepší výsledky.

IVIVC pro kombinaci přípravků s rychlým a pomalým uvolňováním vykazala nejlepší koeficient determinace ( $r^2 = 0,9982$ ). Naopak IVIVC pro kombinaci přípravků se středně rychlým a pomalým uvolňováním byla horší ( $r^2 = 0,9689$ ) [100].

Cílem další studie bylo stanovit IVIVC na úrovni A u hydrofilních matricových tablet glipizidu s prodlouženým uvolňováním a korelaci interně ověřit. Zjišťoval se vliv změn ve výrobě a vliv změn ve složení přípravku na IVIVC. Posuzoval se vliv EC, mikrokrystalické celulosy (MCC), hypromelosity (HPMC K4M, HPMC K15M, HPMC K100M), xanthanové klovatiny, guarové gummy, škrobu (Starch 1500) a laktosy na profil uvolňování *in vitro* [101].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: fosforečnanový tlumivý roztok o pH 6,8.

Vyhodnocení studie:

Z profilů uvolňování léčiva vyplynulo, že zvyšující se podíl EC má za následek prodloužené uvolňování léčiva z tablet. Rychlost uvolňování léčiva se snižovala s rostoucí viskozitou HPMC. Nejrychlejší uvolňování léčiva bylo u přípravku, který obsahoval HPMC K4M, pomalejší u přípravku s HPMC K15M a nejpomalejší u přípravku s HPMC K100M. Obsah HPMC byl hlavním parametrem určujícím rychlost uvolňování glipizidu z tablet.

Další složky (MCC a škrob) přispívaly k podstatnému zvýšení rychlosti uvolňování léčiva z tablet. Přípravek obsahující EC a MCC by mohl udržet uvolňování léčiva po dobu 3 hodin. Pokud by se do přípravku s EC a MCC přidal škrob, úplné uvolnění léčiva by proběhlo během 0,7 hodiny. Přípravky na bázi xanthanové klovatiny vykazovaly minimální „burst effect“ a pomalé uvolňování přesahující 12 hodin.

Nejlepší korelace na úrovni A byla stanovena pro matricové tablety obsahující xanthanovou klovatinu, HPMC K4M a škrob v poměru 70 : 25 : 15 s koeficientem determinace 0,9933 a směrnici regresní přímky blízkí se 1 [101].

### 9.2.1.11 Lamotrigin

Cílem této studie bylo odhadnout průběhy plazmatické koncentrace 100 mg lamotriginu po aplikaci tablet s prodlouženým uvolňováním. Použily se tři přípravky s různým uvolňováním (pomalým, středně rychlým a rychlým). Zjišťovaly se jejich profily *in vitro* v různých disolučních médiích. Zjišťovala se IVIVC na úrovni A [102].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,1 M HCl,  
900 ml tlumivého roztoku o pH 4,5,  
900 ml tlumivého roztoku o pH 6,8,  
1000 ml 0,1 M HCl a tlumivého roztoku o pH 6,8.  
(Médium bylo složeno ze 750 ml 0,1M HCl a 250 ml fosforečnanového tlumivého roztoku, který se přidal po 1 hodině. Výsledné pH bylo 6,8.)

Všechny tři léčivé přípravky se testovaly ve všech výše uvedených médiích.

Vyhodnocení studie:

Porovnání disolučních profilů získaných při 50 a 100 otáčkách za minutu jasně ukazovalo, že hydrodynamické podmínky významně ovlivnily profil uvolňování. Čím byla vyšší rychlost otáček, tím rychlejší bylo uvolňování léčiva. Srovnání studie *in vivo* a disoluční studie *in vitro* ukázalo, že médium složené z 0,1 M HCl a fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8 bylo médium, které nejlépe odpovídalo datům *in vivo*. IVIVC na úrovni A mezi množstvím rozpuštěného léčiva a absorbovaného léčiva se vyjádřila pomocí koeficientu determinace ( $r^2 = 0,989$ ,  $r^2 = 0,979$  a  $r^2 = 0,989$ ) a pomocí PE (PE < 15 %) [102].

### 9.2.1.12 Montelukast

Cílem této studie bylo navrhnout disoluční zkoušku, která by předpověděla perorální absorpci montelukastu, a stanovit IVIVC na úrovni A. Použily se obalované tablety obsahující 100 mg montelukastu [103].

Charakteristiky první disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.

- Parametry přístroje: 75 otáček za minutu pro níže uvedená média, pro médium 500 ml FaSSIF o pH 6,5 byla provedena dodatečná zkouška se 100 otáčkami za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml umělé střevní šťávy o pH 6,8,  
900 ml tlumivého roztoku FaSSIF o pH 6,5 bez lecithinu a žlučových solí,  
500 ml FaSSIF o pH 6,5,  
900 ml FaSSIF o pH 6,5.

Charakteristiky druhé disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s průtokovou celou.  
Průtoková cela byla vyrobena na zakázku podle specifikací USP, vnitřní průměr 22,6 mm. Filtrační komory byly vyplněny skelnou vatou (~200 mg) a pokryty drátěným sítem.
- Parametry přístroje: rychlost průtoku byla  $\sim 3,3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $\sim 5,8 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ .
- Disoluční médium: 900 ml umělé žaludeční šťávy s 0,1% SLS o pH 2,0 při rychlosti průtoku  $\sim 3,3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$  po dobu 15 minut,  
500 ml média FaSSIF o pH 6,5 po dalších 45 minut při  $\sim 5,8 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  
900 ml média FaSSIF o pH 7,5 po dalších 150 minut,  
900 ml média FaSSIF o pH 5,0 po dalších 30 minut.

Celá disoluční zkouška trvala 240 minut.

Vyhodnocení studie:

Přístroj s průtokovou celou byl vybrán kvůli své schopnosti lépe simulovat hydrodynamiku *in vivo* v porovnání s přístrojem s košíčkem a s přístrojem s pádlem. To umožňovalo také přesněji simulovat gradient pH v gastrointestinálním traktu. Rychlost disoluce se měnila se změnami pH média. Relativně rychlá byla při pH 2,0, zpomalovala se při pH 6,5 a znovu se zrychlovala při pH 7,5. Poslední změna na pH 5,0 neměla na disoluci vliv, zřejmě z důvodu zbylého nerozpuštěného léčiva.

Nejlepší IVIVC byla stanovena u přístroje s průtokovou celou ( $r^2 = 0,979$ ). U přístroje s pádlem byla stanovena korelace s  $r^2 = 0,834$  při použití 500 ml FaSSIF a 100 otáčkách za minutu. V případě, že se použilo 500 ml média FaSSIF o pH 6,5 a 900 ml média FaSSIF o pH 6,5 při 75 otáčkách za minutu, byla IVIVC u přístroje s pádlem slabá



( $r^2 = 0,756$  a  $r^2 = 0,683$ ). Použití umělé střešní šťávy nevykazovalo téměř žádnou korelaci. Nebylo tedy vhodné pro testování disoluce montelukastu.

Při použití přístroje s pádlem byl patrný vliv otáček na rychlost disoluce. Při použití 500 ml FaSSIF se při 100 otáčkách za minutu rozpustilo 88,9 % léčiva a při 75 otáčkách za minutu se rozpustilo 69,4 % léčiva [103].

#### 9.2.1.13 Nevirapin

Byla vyvinuta řada čtyř nových tabletových přípravků nevirapinu s prodlouženým uvolňováním léčiva. Rychlost uvolňování léčiva se řídila obsahem HPMC. Obsah polymeru byl v rozmezí 20–40 %: přípravek A obsahoval 20 % polymeru, B 25%, C 30 % a D 40 %. Všechny přípravky obsahovaly 400 mg nevirapinu. Studie se zabývala stanovením IVIVC na úrovni A [104].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíkem.
- Parametry přístroje: 100, 75 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8 obsahujícího 2% SLS.

Vyhodnocení studie:

IVIVC na úrovni A byla vyhodnocena pomocí závislosti disoluce *in vitro* a absorpce *in vivo* ( $r^2 = 0,978$ ). Výsledky naznačovaly, že množství HPMC zpomalovalo rychlost uvolňování nevirapinu *in vitro* a také *in vivo*. Čím vyšší bylo množství HPMC, tím pomalejší byla absorpce *in vivo*. U disoluční zkoušky *in vitro* se měnily otáčky tak, aby se dosáhlo nejlepší shody s profily uvolňování *in vivo*. Ukázalo se, že při pH 6,8 a při 75 otáčkách za minutu se dosáhlo nejlepší shody s daty *in vivo*. Jednotlivé PE pro AUC a pro  $C_{max}$  u každého přípravku byly menší než 15 %. Průměrné hodnoty PE byly menší než 10 %. Externí odhad nebyl požadován, protože chyby interního odhadu PE byly nízké [104].

#### 9.2.1.14 Olanzapin

Studie se zabývala tabletami s řízeným prodlouženým uvolňováním olanzapinu. Cílem bylo zvolit vhodnou disoluční zkoušku a stanovit IVIVC na úrovni A. Tablety se vyrobily suchou granulací směsí Methocelu® K100 LV-CR a Ethocelu® standard 7FP premium. Pro studii se použily se tři různé složení tablet F1 (60 % Methocelu®,

30 % Ethocelu®), F2 (45 % Methocelu®, 45 % Ethocelu®) a F3 (30 % Methocelu®, 60 % Ethocelu®). Každé složení se lisovalo silou 90, 120 a 150 N [105].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,1 M HCl o pH 1,5,  
900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8.

Vyhodnocení studie:

Z F1 se léčivo uvolňovalo po dobu 8 hodin, z F2 po dobu 12 hodin a z F3 po dobu 24 hodin. Data uvolňování léčiva ukázala, že lisovací síla a pH disolučního média významně neovlivnily rychlost uvolňování léčiva. Byla stanovena dobrá IVIVC s koeficientem determinace  $r^2 = 0,9082$  a tím se potvrdila správnost zvolené disoluční zkoušky [105].

## 9.2.2 Tobolky

### 9.2.2.1 Danazol

Studie navrhla disoluční testy schopné určit absorpci danazolu ve stavu nalačno a ve stavu po jídle při použití vhodných biorelevantních médií. K disoluci *in vitro* se použily tvrdé želatinové tobolky naplněné 100 mg danazolu a 100 mg laktosy monohydrátu. Zjišťoval se efekt obsahu monoacylglycerolů a mastných kyselin včetně jejich poměrů v médiích, které simulovaly stav po jídle [106].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s průtokovou celou.
- Parametry disolučního přístroje: rychlost průtoku byla 8, 16 nebo 32 ml.min<sup>-1</sup>, což odpovídalo celkovému objemu disolučního média 960, 1920 a 3840 ml.
- Disoluční médium: disoluční média a jejich složení jsou uvedena v Tabulce 5. Použitá média obsahovala množství žlučových solí a fosfolipidů odpovídající stavu nalačno a stavu po jídle *in vivo*. Jako zdroj žluči se použil extrakt žluči z prasete a fosfolipidy ze sójových bobů.

Tabulka 5: Složení medií simulující stav nalačno Fa (low) a Fa (high) a složení medií napodobující stav po jídle Fe (3,75 : 1), Fe (7,5 : 2), Fe (15 : 2) a Fe (30 : 4).

	Fa (low)	Fa (high)	Fe (3,75 : 1)	Fe (7,5 : 2)	Fe (15 : 2)	Fe (30 : 4)
pH	6,8	6,8	5,6 ± 0,1	5,4	5,6 ± 0,1	5,5 ± 0,4
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (mM)	29	29				
TRIZMA® maleát (mM)			12	12	12	12
žlučové soli (mM)	2,5	6,3	18,8	18,8	18,8	18,8
fosfolipidy (mM)	0,5	1,25	3,75	3,75	3,75	3,75
mastné kyseliny (mM)			3,75	7,5	15	30
monoacylglyceroly (mM)			1	1	2	4
rozpuštnost (µg/ml)	7,27 ± 0,89	18,6 ± 1,7	59,8 ± 1,0	77,3 ± 8,2	76,1 ± 1,9	139 ± 6,3

Vyhodnocení studie:

Stanovila se IVIVC na úrovni A. Ve stavu nalačno se získala nejlepší korelace s výsledky *in vivo* použitím média Fa (high) obsahujícího 6,3 mM žlučové soli a 1,25 mM fosfolipidů při průtoku 8 ml.min<sup>-1</sup> (PE u C<sub>max</sub> bylo 0,8 % a u AUC 7,9 %).

Ve stavu po jídle byla nejlepší shoda s daty *in vivo* u média Fe (30 : 4) obsahujícího 18,8 mM žlučových solí, 3,75 mM fosfolipidů, 4 mM monoacylglycerolů a 30 mM mastných kyselin při průtoku 8 ml.min<sup>-1</sup> (PE u C<sub>max</sub> bylo 7,3 % a u AUC 11,0 %). Pro disoluci danazolu byla důležitá jak hydrodynamika, tak i složení média. Ve stavu po jídle bylo možné získat IVIVC pouze po přidání monoacylglycerolů a mastných kyselin do média [106].

### 9.2.2.2 Gemfibrozil

Cílem této studie bylo vybrat takové disoluční podmínky tobolek gemfibrozilu s okamžitým uvolňováním, při kterých by byla IVIVC nejlepší. Použilo se pět přípravků gemfibrozilu (nový přípravek a čtyři generické přípravky) [107, 108].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 a 25 otáček za minutu.
- Disoluční médium: (a) 900 ml 0,2 M fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 7,5,  
(b) 900 ml 0,05 M fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 7,5.

Vyhodnocení studie:

Disoluční zkoušky byly provedeny za následujících podmínek:

- I. Médium (a) při 50 otáčkách za minutu.
- II. Médium (b) při 50 otáčkách za minutu.
- III. Médium (b) při 25 otáčkách za minutu.

Byla stanovena IVIVC na úrovni A. Z naměřených závislostí vyplynulo, že nejlepší korelace ( $r^2 = 0,98$ ) a tedy i optimální disoluční podmínky jsou při použití podmínek II. Protože jediný rozdíl mezi podmínkami II a III spočíval v rychlosti otáček za minutu, lze říci, že bylo vhodnější použít 50 otáček za minutu (podmínky II). Rozdíly v koncentracích fosforečnanového tlumivého roztoku způsobily pouze malou odchylku v profilech uvolňování *in vitro* za podmínek I a II. Z výsledků bylo patrné, že změnou koncentrace fosforečnanového tlumivého roztoku nebo změnou rychlosti otáčení lze docílit, že se křivky *in vitro* a *in vivo* budou překrývat.

Byla také stanovena IVIVC na úrovni B mezi MRT a MDT. Výsledky nevykázaly žádnou významnou korelaci mezi MRT a MDT ve všech třech disolučních podmínkách. V podmínkách I byl korelační koeficient 0,556, v podmínkách II 0,005 a v podmínkách III 0,060.

Dále byla zjišťována IVIVC na úrovni C. Mezi množstvím rozpuštěné látky *in vitro* a dobou  $T_{\max}$  *in vivo* nebyla ve všech třech podmínkách zjištěna žádná významná korelace. Mezi  $C_{\max}$  a parametry disoluce *in vitro* v podmínkách I a II se zjistila dobrá korelace. V těchto podmínkách byla rovněž zjištěna dobrá korelace mezi AUC *in vivo* a parametry *in vitro*.

Výsledky podporovaly názor, že i pro přípravky s okamžitým uvolňováním lze stanovit dobrou IVIVC. Studie ukázala, že pro přípravky s velkou perorální dávkou s nízkou rozpustností ve vodě a absorpcí, která je limitována disolucí, může být stanovena dobrá IVIVC [107].

### 9.2.2.3 Lopinavir

Cílem studie bylo vyvinout a ověřit disoluční zkoušku měkkých želatinových tobolek lopinaviru (Kalerta<sup>®</sup>) s ohledem k datům *in vivo* [109].

Charakteristiky první disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml, 0,5%, 0,7% a 0,9% vodného roztoku SLS, pH bylo nastaveno na hodnotu 6,0.

Acetátový tlumivý roztok o pH 4,4 se připravil rozpuštěním 10,9 g natrium-acetátu trihydrátu, 6,2 g octanu amonného a 20 ml kyseliny octové v 1 l vody.

Charakteristiky druhé disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.
- Parametry přístroje: 50, 75 a 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 2,5% SLS o pH 6,0.

Vyhodnocení studie:

U přístroje s košíčkem byla při 50 otáčkách za minutu disoluce příliš pomalá. Při 75 otáčkách za minutu byl ze začátku profil disoluce *in vitro* podobný jako absorpční profil *in vivo*. Po 30 minutách byla disoluce pomalejší. Naopak při 100 otáčkách za minutu byla disoluce během prvních 60 minut rychlejší než absorpce. Po této době byla rychlost disoluce obdobná jako rychlost absorpce. Za všech uvedených podmínek byla korelace slabá, a proto se vyhodnocovala další disoluční zkouška.

U přístroje s pádlem byla při použití 0,5% roztoku SLS zaznamenána nízká rychlost disoluce. Při zvýšení koncentrace SLS na 0,7 % byla rychlost disoluce obdobná jako rychlost absorpce pouze do 45 minut. Při použití 0,9% roztoku SLS byla disoluce do 45 minut velmi rychlá. Po 45 minutách byla disoluce u obou koncentrací (0,7 % a 0,9 %) pomalejší než absorpce. Z toho vyplynulo, že rychlost disoluce lopinaviru roste se zvýšením koncentrace SLS. Při 50 otáčkách za minutu nebylo možné stanovit dobrou IVIVC. Proto se objem disolučního média zvýšil z 900 ml na 1000 ml, změnila se koncentrace SLS (1,7%, 2,0% a 2,3%) a otáčky se snížily na 25 otáček za minutu. pH bylo během zkoušky neměnné.

Nejlepších profilů *in vitro* se dosáhlo přístrojem s pádlem při 25 otáčkách za minutu při použití 1000 ml média obsahujícího 2,3 % SLS a při pH 6,0. Za těchto podmínek byla stanovena IVIVC na úrovni A ( $r = 0,997$ ) [109].

#### **9.2.2.4 Rifampicin**

Účelem této studie bylo ověřit možnost stanovení IVIVC na různých úrovních mezi disolučními parametry *in vitro* a farmakokinetickými parametry *in vivo* tří přípravků rifampicinu. Ke studii se použily tvrdé želatinové tobolky naplněné částicemi obalenými EC [110].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.
- Parametry přístroje: 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 7,4 obsahujícího kyselinu askorbovou ( $200 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ).

Vyhodnocení studie:

Výsledky ukázaly, že rifampicin se z obalených částic uvolňoval pomalu a absorboval po delší dobu. Plazmatická koncentrace byla udržována v rozmezí terapeutického indexu  $0,1-7 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Korelační koeficient byl pro tři přípravky obsahující různý podíl EC 0,954, 0,983 a 0,997 (IVIVC na úrovni A).

Korelační koeficienty mezi střední dobou disoluce *in vitro* a střední retenční dobou *in vivo* byly nízké (IVIVC na úrovni B). Jejich hodnoty byly 0,536, 0,420 a 0,335.

Dobrá korelace se zjistila mezi T50% a  $T_{\text{max}}$ , mezi T50% a  $C_{\text{max}}$  a mezi T50% a AUC s odpovídajícími hodnotami korelačních koeficientů 0,991, 0,990 a 0,911 (IVIVC na úrovni C) [110].

### 9.2.3 Mikročástice

#### 9.2.3.1 Ibuprofen

Hlavním cílem studie bylo zvolit částicovou násobnou lékovou formu (polystyrenové mikročástice ibuprofenu), která by svým disolučním profilem odpovídala komerčním tobolkám s prodlouženým uvolňováním. Dalším cílem bylo porovnat zvolenou násobnou lékovou formu s komerčními tobolkami s prodlouženým uvolňováním [111].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 75 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8.

Vyhodnocení studie:

U polystyrenových mikročástic ibuprofenu byla stanovena IVIVC na úrovni A, výpočtem se stanovila regresní křivka  $y = 1,8409x$  s koeficientem determinace  $r^2 = 0,9668$ . U tobolek s prodlouženým uvolňováním byla regresní křivkou přímka  $y = 0,5162x$  a koeficient determinace byl 0,9999. Z rovnic vyplynulo, že směrnice přímky pro polystyrenové

mikročástice ibuprofenu byla třikrát větší než směrnice pro tobolky s prodlouženým uvolňováním. Polystyrenové mikročástice ibuprofenu a tobolky s prodlouženým uvolňováním nebyly ekvivalentní v rychlostech absorpce. [111].

Podobné výsledky byly uvedeny u tobolek ibuprofenu při použití přístroje s pádlem a média o pH 6,6 [112].

### 9.2.3.2 Meloxicam

Studie se zabývala mikročásticemi meloxicamu s cílem zjistit korelaci mezi uvolňováním *in vitro* a absorpcí *in vivo*. Cílem bylo připravit lékovou formu mikročástic s prodlouženým uvolňováním, které by zajistilo stálou plazmatickou koncentraci meloxicamu. Použily se dva přípravky s různou koncentrací natrium-alginátu: 1% a 2% v kombinaci s chitosan-hydrochloridem, které ovlivňovaly rychlost uvolňování léčiva. Chitosan-hydrochlorid a natrium-alginát se použily jako matricový základ. Použití vyšší koncentrace natrium-alginátu v přípravcích zpomalovalo uvolňování meloxicamu. Pro vyhodnocení IVIVC se použil jako referenční přípravek perorální roztok obsahující 15 mg meloxicamu. Profily uvolňování *in vitro* se navzájem porovnály [113].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.
- Parametry přístroje: 75 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 750 ml 0,1 M HCl o pH 1,2 po dobu prvních 2 hodin disoluční zkoušky, po této době bylo přidáno 250 ml 0,2 M roztoku fosforečnanu sodného pro změnu pH na 6,8.

Vyhodnocení studie:

Výsledky disoluční zkoušky srovnávaných přípravků prokázaly, že se oba přípravky navzájem lišily. Se zvyšující se koncentrací natrium-alginátu v mikročásticích se snížila rychlost uvolňování meloxicamu. Lepší IVIVC na úrovni A byla u přípravku s 2% koncentrací natrium-alginátu ( $r^2 = 0,9402$ , PE = 7,419 %). U přípravku s 1% koncentrací natrium-alginátu byl  $r^2 = 0,8563$  [113].

### 9.2.3.3 Nimesulid

Studie se zabývala stanovením IVIVC pro tři různé přípravky nimesulidu s prodlouženým uvolňováním. Přípravky byly tvořeny různým množstvím mikročástic HPMC s rozdílným uvolňováním léčiva. První přípravek obsahoval 1 g HPMC, druhý 2 g HPMC a

třetí 3 g HPMC. Všechny přípravky obsahovaly 1 g léčiva. Jako referenční přípravek k ověření zkoušených přípravků se použil komerční produkt Nimaran [114].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.
- Parametry přístroje: 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8,  
900 ml čištěné vody o pH 6,5,  
900 ml 0,1 mol.l<sup>-1</sup> HCl o pH 1,2.

Vyhodnocení studie:

Studie stanovila IVIVC na úrovni A. Koeficient determinace pro první přípravek byl 0,8349 a pro druhý přípravek 0,8312. Interní PE pro oba přípravky byla menší než 10 %. Koeficient determinace pro třetí přípravek 0,9272 byl výrazně odlišný od prvních dvou koeficientů. Přípravek se choval podobně ve fosforečnanovém tlumivém roztoku o pH 6,8 i v podmínkách *in vivo*. Koeficient determinace pro Nimaran 0,898 nebyl příliš odlišný od třetího přípravku. Vlastnosti třetího přípravku se tedy podobaly vlastnostem Nimaranu v podmínkách *in vitro* i v podmínkách *in vivo*. Interní PE pro třetí přípravek i pro Nimaran byla také menší než 10 %.

Výsledky disolučních zkoušek v různých médiích ukázaly, že uvolňování léčiva ve fosforečnanovém tlumivém roztoku o pH 6,8 a v čištěné vodě o pH 6,5 bylo podobné. Uvolňování léčiva v 0,1 mol.l<sup>-1</sup> HCl o pH 1,2 bylo však jiné. Léčivo se rozpouštělo pomaleji v kyselém médiu než v zásaditém médiu. [114].

## 9.2.4 Pelety

### 9.2.4.1 Diklofenak sodná sůl

V této studii se vyvinuly disoluční testy *in vitro* umožňující odhad absorpce *in vivo* perorální lékové formy s prodlouženým uvolňováním diklofenaku sodné soli. Vyhodnocovaly se pelety, obsahující 100 mg diklofenaku sodné soli ve stavu nalačno a po jídle [115].

Charakteristiky první disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s košíčkem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8.



Charakteristiky druhé disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 75 nebo 125 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8.

Charakteristiky třetí disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s vratným válcem.
- Parametry přístroje: 10 ponorů za minutu, velikost ok horního a dolního síta 405  $\mu\text{m}$ .
- Disoluční médium:
  - pro stav nalačno FaSSGF o pH 1,6, New-FaSSIF o pH 6,5, Half-FaSSIF o pH 7,0, FaSSIF-sans o pH 7,5 a SCoF o pH 5,8,
  - pro stav po jídle FeSSGF o pH 5,0, New-FeSSIF o pH 5,8, Half-FeSSIF o pH 6,5, FaSSIF-sans o pH 7,5 a SCoF o pH 5,8.

Použilo se 220 ml média na jednu nádobu.

Charakteristiky čtvrté disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s průtokovou celou [115].
- Parametry přístroje: parametry jsou uvedené v Tabulce 6 [36].

Tabulka 6: Parametry přístroje s průtokovou celou:

Disoluční médium	Doba od začátku zkoušky (min)	Rychlost průtoku ( $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ )
SGF	0–60	8
FaSSIF	60–270	4
SCoF	270–420	4

- Disoluční médium: stejné jako u třetí disoluční zkoušky.

Vyhodnocení studie:

Výsledky zjištěné pomocí přístroje s vratným válcem a přístroje s průtokovou celou se porovnály s výsledky disolučních zkoušek používajících přístroj s košíčkem a přístroj s pádlem. Disoluční testy s přístrojem s košíčkem a s přístrojem s pádlem nebyly schopné předpovědět vliv jídla.

Disoluční testy provedené pomocí přístroje s vratným válcem a přístroje s průtokovou celou předpověděly správně, že uvolňování a tedy i absorpce diklofenaku sodné soli bude pomalejší v nasyceném stavu než ve stavu nalačno. Výsledky demonstrovaly dobré korelace mezi uvolňováním léčiva *in vitro* a absorpcí léčiva *in vivo* jak ve stavu před jídlem, tak ve stavu po jídle.

Byla stanovena IVIVC na úrovni A pro stav nalačno a po jídle ( $r^2 > 0,95$ ) indikující, že navržené disoluční zkoušky *in vitro* používající přístroj s vratným válcem a přístroj s průtokovou celou mohly uspokojivě vysvětlit absorpci diklofenaku sodné soli. Z regresních křivek vyplynulo, že uvolňování *in vitro* u přístroje s vratným válcem předbíhalo dvakrát uvolňování *in vivo* (směrnice regresní přímky = 2,0459) ve stavu nalačno a třikrát ve stavu po jídle (směrnice regresní přímky = 2,9977). U přístroje s průtokovou celou bylo uvolňování *in vitro* bližší absorpci *in vivo* jak ve stavu nalačno, tak ve stavu po jídle (směrnice regresní přímky jsou 1,5888 a 1,2928). Výsledky ukazovaly, že disoluční zkouška s přístrojem s vratným válcem a s přístrojem s průtokovou celou byla vhodná pro stanovení účinnosti *in vivo* pelet diklofenaku sodné soli s prodlouženým uvolňováním. U této studie byly nejlepší výsledky korelace při použití přístroje s průtokovou celou [115].

### 9.3 Studie léčiv zařazených do 3. třídy BCS

Do 3. třídy BCS se řadí léčiva s vysokou rozpustností a nízkou permeabilitou [3].

#### 9.3.1 Tobolky

##### 9.3.1.1 Metformin-hydrochlorid

Cílem této studie bylo navrhnout a ověřit IVIVC na úrovni A a C pro lékové formy metformin-hydrochloridu s řízeným prodlouženým uvolňováním. Použily se tobolky plněné obalenými mikrotobolkami s tříhodinovým, sedmihodinovým a patnáctihodinovým uvolňováním léčiva [116].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: Přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 100 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 1000 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,8.

Vyhodnocení studie:

IVIVC na úrovni C byla stanovena mezi  $C_{\max}$  a MDT a mezi AUC a MDT. Korelace byla lineární, oba modely měly koeficienty determinace vyšší než 0,9. Tyto výsledky ukazovaly, že IVIVC na úrovni C byla dobrá. U korelace mezi AUC a MDT byly hodnoty koeficientů determinace 0,94, 0,99 a 0,99. U korelace mezi  $C_{\max}$  a MDT byly hodnoty koeficientů determinace 0,97, 0,99 a 0,99. Hodnoty PE byly menší než 15%.

Pro stanovení IVIVC na úrovni A se použila dekonvoluce. Korelační křivka vykazovala divergenci a nestabilitu. Důvodem neúspěchu stanovení korelace po použití dat přípravku s okamžitým uvolňováním mohla být omezená absorpce metformin-hydrochloridu *in vivo*, protože závislost mezi daty *in vivo* a *in vitro* nebyla lineární. Z uvedených výsledků bylo zřejmé, že stanovení IVIVC na úrovni A pomocí dekonvoluce není vhodné pro léčiva jako je metformin-hydrochlorid, u kterých je omezená absorpce [116].

#### **9.4 Studie léčiv zařazených do 4. třídy BCS**

Do 4. třídy BCS se řadí léčiva s nízkou rozpustností a nízkou permeabilitou [3].

##### **9.4.1 Tablety**

###### **9.4.1.1 Norfloxacin**

Studie stanovila IVIVC pro dva přípravky norfloxacinu. Jednalo se o 400 mg tablety s okamžitým uvolňováním (testovaný a referenční přípravek) [117, 118].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 0,1 M HCl.

Vyhodnocení studie:

Nezjistila se žádná významná odchylka mezi parametry testovaného a referenčního přípravku. U obou přípravků byla dobrá IVIVC na úrovni A. U testovaného přípravku byl koeficient determinace 0,9328 a u referenčního přípravku byl 0,9421. Korelace ukazovala, že disoluční profily mohou být použity jako nástroj k odhadu dat *in vivo*. Testovaný přípravek byl bioekvivalentní s referenčním přípravkem [117].

## 9.4.2 Tobolky

### 9.4.2.1 Ritonavir

Účelem této studie bylo navrhnout disoluční zkoušku měkkých želatinových tobolek ritonaviru s využitím dat *in vivo*. Během zkoušky se měnilo složení média, pH, koncentrace tenzidu a rychlost otáček [119].

Charakteristiky disoluční zkoušky:

- Použitý přístroj: přístroj s pádlem.
- Parametry přístroje: 50 a 25 otáček za minutu.
- Disoluční médium: 900 ml 0,1 M HCl,  
900 ml 0,01 M HCl,  
900 ml vodného roztoku SLS,  
900 ml fosforečnanového tlumivého roztoku o pH 6,0,  
900 ml acetátového tlumivého roztoku o pH 4,0.

Vyhodnocení studie:

Rychlost disoluce tobolek ritonaviru v médiích 0,1 M HCl a v 0,5% vodném roztoku SLS byla při 50 otáčkách za minutu velmi rychlá. Více než 80 % léčiva se rozpustilo během 15 minut. Vzhledem k rychlejší disoluci *in vitro* ve srovnání s rychlostí absorpce *in vivo* byla stanovena špatná korelace. Proto byly otáčky pro každé médium sníženy na hodnotu 25 otáček za minutu. Disoluce v médiu 0,1 M HCl byla při 25 otáčkách za minutu rychlejší než ve vodném roztoku SLS. Lepší IVIVC na úrovni A však byla stanovena ve vodném roztoku SLS.

Po volbě vhodného disolučního média byla nastavena taková koncentrace tenzidu, aby byla disoluční zkouška maximálně citlivá a aby bylo možné získat nejlepší IVIVC. Pro disoluci léčiv špatně rozpustných ve vodě je často nutné použít tenzidy. Disoluční médium obsahující tenzidy může lépe napodobit prostředí gastrointestinálního traktu než médium obsahující organická rozpouštědla nebo jiné nefyziologické látky.

Nejlepších disolučních podmínek se dosáhlo při použití přístroje s pádlem, 900 ml média obsahujícího čištěnou vodu s 0,7 % SLS při 25 otáčkách za minutu. Za těchto podmínek byla stanovena IVIVC na úrovni A s koeficientem  $r^2$  0,993 [119].

## 10 Diskuze

Uskutečnilo se mnoho pokusů provést *in vitro-in vivo* korelaci pro různá léčiva a různé lékové formy. Většina studií o IVIVC se týká lékových forem podávaných perorálně a lékových forem s prodlouženým uvolňováním. V těchto studiích se vyhodnocuje možnost stanovení různých úrovní IVIVC mezi parametry disoluce *in vitro* a farmakokinetickými parametry *in vivo*.

Za nejvíce informativní a doporučovanou korelaci je považována IVIVC na úrovni A. Poskytuje lepší korelační koeficienty než IVIVC na úrovni B a C [110]. V případě možností se stanoví vícenásobná korelace na úrovni C, dále korelace na úrovni C, korelace na úrovni B a nakonec korelace na úrovni D. V případě stanovení IVIVC na úrovni A korelují disoluční data dobře s daty absorpce léčiva. Mnoho korelací na úrovni B [85, 107, 110] a C [110] je slabých. Na druhou stranu byly také zjištěny dobré korelace na úrovni B [76] a C [87, 98]. U přípravků s okamžitým uvolňováním se stanovuje IVIVC na úrovni A [65, 66, 80, 91, 96, 117], korelace na úrovni B a C je slabá [107]. Korelaci na úrovni C je vhodné stanovit zejména u přípravků s okamžitým uvolňováním, kde je obtížné stanovit korelaci na úrovni A [98]. Vícenásobná korelace na úrovni C je přijatelná a srovnatelná s IVIVC na úrovni A. U této úrovně korelace jsou publikovány jak dobré výsledky [87], tak i špatné výsledky korelace [92]. Vícenásobnou korelaci na úrovni C není vhodné stanovovat pro přípravky s okamžitým uvolňováním léčiva [92].

Ačkoli bylo publikováno velké množství korelací na úrovni A, u mnohých z nich nebyla korelace validována. IVIVC by měly být ověřeny pomocí procentuální chyby odhadu. Aby mohla být IVIVC prediktivní a spolehlivá, mělo by být PE pro  $C_{max}$  a AUC menší než 10 %. Směrnice FDA nedoporučuje užití IVIVC s přijatelným interním odhadem chyby, pokud jsou provedeny změny ve výrobě přípravků vedoucí ke změně rychlosti uvolňování. Toto doporučení bylo podpořeno studií zabývající se hydrofilními matricovými přípravky metoprolol-tartrátu. Studie vyhodnocovala schopnost IVIVC odhadnout vlastnosti přípravků léčiva s různými rychlostmi uvolňování *in vivo*. IVIVC model odhadoval  $C_{max}$  o 23 % vyšší, než byla pozorovaná hodnota, což ukazovalo na nedostatečný odhad a podpořilo tvrzení, že *in vitro-in vivo* korelace jsou specifické pro jednotlivé přípravky [62].

Za nejjednodušší a nejvhodnější IVIVC, popisující vztahy vlastností léčiv *in vitro* a *in vivo*, jsou považovány vztahy lineární. Většina publikovaných korelací je založena na lineárním vztahu mezi parametry rozpouštění léčiva *in vitro* a parametry biologické dostupnosti *in vivo* [67, 68, 70, 93, 116]. Jsou však publikovány i méně časté korelace

nelineární [61, 75], ačkoli jsou prediktivní. Ve studii zabývající se diltiazem-hydrochloridem se určovala nelineární korelace. Ačkoli byl určen nelineární vztah, který umožnil odhadnout profil biologické dostupnosti léčiva, hodnoty PE pro  $C_{max}$  a AUC (určované v rámci interního odhadu) byly vyšší než požadované limity. Stanovená IVIVC byla tedy neprůkazná a bylo doporučeno provést externí ověření [75].

Pro stanovení IVIVC je nutné zvážit, do jaké třídy Biofarmaceutického klasifikačního systému léčivo patří. Je tedy nutné zhodnotit jeho rozpustnost a permeabilitu. IVIVC se obvykle stanovuje pro léčiva zařazená do 1. a 2. třídy BCS.

Léčiva zařazená do 1. třídy BCS se vyznačují vysokou rozpustností a vysokou permeabilitou. Po podání těchto léčiv prochází léková forma rychle do žaludku, kde se rozpadá, proto je vhodné u disolučních zkoušek použít média, která napodobují žaludeční podmínky [55, 57, 61, 67]. Pro lékové formy s okamžitým uvolňováním je vhodná umělá žaludeční šťáva bez enzymů. U některých tobolek se do média přidávají enzymy, které zajistí vhodnou disoluci obalu tobolky. U slabě kyselých léčiv se používá umělá střevní šťáva bez enzymů kvůli omezené disoluci při použití umělé žaludeční šťavy. Čištěná voda jako disoluční médium není vhodná [67]. Léčiva zařazená v 1. třídě BCS nejlépe splňují požadavky pro vynechání bioekvivalenčních studií. Pokud je stanovena IVIVC na úrovni A a disoluční zkouška je provedena ve třech různých médiích, jejichž pH napodobuje podmínky gastrointestinálního traktu, může být disoluční zkouška *in vitro* použita jako náhrada testů biologické dostupnosti *in vivo* a bioekvivalenčních studií [120].

Léčiva, která jsou zařazená do 2. třídy BCS, mají nízkou rozpustnost a vysokou permeabilitu. U disolučních zkoušek se volí disoluční médium umělá žaludeční šťáva bez enzymů, do kterého se přidávají tenzidy (např. Triton X) napodobující v žaludku podmínky nalačno. Toto médium se používá pro slabě zásadité léčiva, protože jsou nejvíce rozpustná v kyselých podmínkách. Přítomnost tenzidů v žaludku je důležitá pro rozpustnost slabě rozpustných kyselin [85, 91, 104]. Dále je vhodné použití médií FaSSIF a FeSSIF, která napodobují střevní podmínky. Rychlost disoluce u slabě rozpustných léčiv je často lepší v médiu FaSSIF a v médiu FeSSIF než ve vodných tlumivých roztocích kvůli zvýšenému smáčení povrchu léčiv a micelární solubilizaci léčiv žlučovými látkami těchto médií [103]. U kyselých léčiv 2. třídy BCS, která mají nízkou rozpustnost jen v žaludku a v tenkém střevě je jejich rozpustnost vysoká, lze na základě disoluční zkoušky a IVIVC vynechat bioekvivalenční studie [120].

Navzdory dobré rozpustnosti léčiv 3. třídy BCS nemají tyto léčiva dobrou biologickou dostupnost po perorálním podání, protože mají nízkou permeabilitu.

U disolučních zkoušek je vhodné použít vodná média [116]. I když je permeabilita nízká, je v mnoha případech dostatečná, aby léčivo dosáhlo potřebné terapeutické plazmatické koncentrace léčiva. Dobrou volbou jsou lékové formy s okamžitým uvolňováním. Pokud permeabilita limituje absorpci, nemůže být stanovena IVIVC. Výběr disoluční zkoušky je jednodušší než u léčiv 2. třídy BCS nebo přípravků s prodlouženým uvolňováním [120].

Léčiva 4. třídy BCS mají nízkou rozpustnost a nízkou permeabilitu. V tom, že nemají dobrou biologickou dostupnost, se podobají léčivům 3. třídy. U disolučních zkoušek je vhodné použít média SGF a SIF bez enzymů. Přídavek tenzidu umožní úplné rozpuštění léčiva [120].

U lékových forem s okamžitým uvolňováním se nejčastěji používá přístroj s košíčkem a přístroj s pádlem [61, 66, 91, 107, 117]. Rychlost rotace v rozsahu 50–75 otáček za minutu je vhodná u disolučních zkoušek za použití přístroje s pádlem. U přístroje s košíčkem je vhodné použít 75–100 otáček za minutu. Snížení nebo zvýšení otáček přístroje je vhodné, pokud profily *in vitro* lépe odráží profil *in vivo* nebo pokud jsou výsledky disoluční zkoušky přesnější [55, 66, 79, 100, 107, 119]. Přístroj s vratným válcem je nejvhodnější, pokud se během disoluční zkoušky mění pH média, např. u enterosolventních lékových forem [115]. Přístroj s průtokovou celou je vhodný zejména pro lékové formy s prodlouženým uvolňováním [115].

## 11 Závěr

Farmaceutický průmysl se snaží najít cesty šetřící drahé zdroje, které by snížily rozpočty a zvyšující se náklady na vývoj léčiv. *In vitro-in vivo* korelace je jednou z cest, kterou se regulační orgány zabývají a IVIVC se uplatňuje ve vývoji léčiv po celém světě.

IVIVC je definována jako vztah mezi vlastnostmi lékové formy *in vitro* a *in vivo*. Tohoto vztahu se využívá k simulaci vlastností léčiva *in vivo* na základě dat *in vitro*, umožňuje pochopit mechanismus uvolňování léčivé látky. Proto regulační autority doporučují stanovení IVIVC na úrovni A už během vývoje přípravků.

IVIVC může sloužit jako náhrada studií biologické dostupnosti *in vivo*, na jejím základě lze zažádat vynechání bioekvivalenčních studií, pomáhá ve výběru disolučních přístrojů a nastavení parametrů disolučních zkoušek. Je možná nejdůležitějším prostředkem k nahrazení drahých klinických zkoušek.

Směrnice FDA poskytuje obecné pokyny pro stanovení IVIVC. Ve srovnání s přípravky s okamžitým uvolňováním léčivé látky se IVIVC provádí více u přípravků s prodlouženým uvolňováním, u kterých je absorpce léčiva závislá na jeho uvolnění. Tyto přípravky mají větší šanci na úspěšnou IVIVC. Pro provedení IVIVC je důležité vyhodnocení výsledků *in vitro* a *in vivo*, znalost fyzikálně chemických a biologických vlastností léčivé látky, lékové formy léčivého přípravku a jeho chování v gastrointestinálním traktu. IVIVC se používá především u perorálních přípravků. IVIVC pro ostatní systémy podání jsou slabé a pro další výzkum je potřebné vyvinout metodologii a standardy pro smysluplné disoluční zkoušky *in vitro* a zkoušky permeability *in vivo*.



## 12 Seznam použité literatury

1. Chowdhury, A. K., Islam, S. *In vitro-in vivo* correlation as a surrogate for bioequivalence testing: the current state of play. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2011, 6, 176–190.
2. Emami, J. In vitro-In vivo Correlation: From Theory to Applications. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2006, 9, 169–189.
3. Sakore, S., Chakraborty, B. *In Vitro-In Vivo* Correlation (IVIVC): A Strategic Tool in Drug Development. *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*. 2011, 1, 1–12.
4. <http://lekarske.slovníky.cz/>, staženo 20. 2. 2012
5. Cardot, J. M., Beyssac, E. Vitro-In Vivo Correlation. In: Swarbrick, J. (Eds.). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 3rd edition. New York: Informa Healthcare, 2007. 2062–2076 s.
6. Food and Drug Administration. Guidance for Industry. Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of In Vitro/In vivo Correlations. U. S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. 1997, 9, 1–24.
7. Ghosh, A., Choudhury, G. K. *In vitro-In vivo* Correlation (IVIVC): A review. *Journal of Pharmacy Research*. 2009, 2, 1255–1260.
8. Tiwari, G., Tiwari, R., Pandey, S., Pandey P., Rai, A, K. *In vitro-in vivo* correlation and biopharmaceutical classification system (bcs): A review. *Der Pharma Chemica*. 2010, 2, 129–140.
9. Vetchý, D., et al. Stabilitní studie, bioekvivalenční studie, proces registrace a právní ochrana léčivých přípravků. 1. vydání. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2008. 54–96 s.
10. Cardot, J., Beyssac, E., Alric, M. In Vitro-In vivo Correlation: Importance of Dissolution in IVIVC. *Dissolution Technologies*. 2007, 14, 15–19.
11. Qiu, Y. *In Vitro-In Vivo* Correlations: Fundamentals, Development Consideration, and Applications. In: Qiu, Y., Chen, Y., Zhang, G. G. Z. (Eds.). *Developing Solid Oral Dosage Forms Pharmaceutical Theory and Practice*. 1st edition. Burlington: Elsevier, 2009. 379–406 s.
12. <http://www.ikev.org/haber/bioav/Biowaiver%2030-color.pdf>, staženo 6. 2. 2011

13. Langenbucher, F. Handling of computational in vitro/in vivo correlation problems by Microsoft Excel: I. principles and some general algorithms. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2002, 53, 1–7.
14. Vetchý, D., Vetchý, V. Klíč ke statistickému vyhodnocování farmaceutických studií. 1. vydání. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2006. 13 s.
15. Chráška, M. *Metody pedagogického výzkumu*. 1. vydání. Praha: Grada, 2007. 117 s.
16. Rettig, H., Mysicka, J. IVIVC: Methods and Applications in Modified-Release Product Development. *Dissolution Technologies*. 2008, 15, 6–8.
17. Uppoor, V. R. S. Regulatory perspectives on in vitro (dissolution)/ in vivo (bioavailability) correlations. *Journal of Controlled Release*. 2001, 72, 127–132.
18. Český lékopis 2009. 1. vydání. Praha: Grada, 2009. 70, 324–326 s.
19. Okáčová, L., Vetchý, D., Franc, A., Rabišková, M., Kratochvíl, B. Zvýšení biodostupnosti těžce rozpustných léčivých látek jejich modifikací. *Chemické listy*. 2010, 104, 21–26.
20. Food and Drug Administration. Guidance for industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. U. S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. 1997, 9, 1–11.
21. Food and Drug Administration. Guidance for industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. U. S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. 2000, 8, 1–13.
22. Amidon, G. L., Lennernäs, H., Shah, V. P., Crison, J. R. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *Pharmaceutical Research*, 1995, 12(3), 413–420.
23. Wagh, M. P., Patel, J. S. Biopharmaceutical classification system: scientific basis for biowaiver extensions. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2010, 2, 12–19.
24. Sirisuth, N., Eddington, N. D. In-Vitro-In-Vivo Correlation Definitions and Regulatory Guidance. *International Journal of Generic Drugs*. 2002, 2, 1–11.

25. Dressman, J. B., Amidon, G. L., Reppas, Ch., Shah, V. P. Dissolution Testing as a Prognostic Tool for Oral Drug Absorption: Immediate Release Dosage Forms. *Pharmaceutical Research*. 1998, 15(1), 11–22.
26. Reddy, B. B. K., Karunakar, A. Biopharmaceutics Classification System: A Regulatory Approach. *Dissolution Technologies*, 2011, 18, 31–37.
27. Dvořáčková, K., Bautzová, T., Rabišková, M. Disoluční studie v hodnocení perorálních léků s řízeným uvolňováním léčiva. *Chemické listy*. 2011, 105, 50–54.
28. Fotaki, N., Vertzoni, M. Biorelevant Dissolution Methods and Their Applications in *In Vitro-In Vivo* Correlations for Oral Formulations. *The Open Drug Delivery Journal*, 2010, 4, 2–13.
29. Jantratid, E., Janssen, N., Reppas, Ch., Dressman, J. B. Dissolution Media Simulating Conditions in the Proximal Human Gastrointestinal Tract: An Update. *Pharmaceutical Research*. 2008, 25(7), 1663–1676.
30. Dressman, J. B., Reppas, C. In vitro-in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2000, 11, 73–80.
31. Hörter, D., Dressman, J. B. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2001, 46, 75–87.
32. Vertzoni, M., Dressman, J., Butler, J., Hempenstall, J., Reppas, C. Simulation of fasting gastric conditions and its importance for the in vivo dissolution of lipophilic compounds. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2005, 60, 413–417.
33. Diakidou, A., Vertzoni, M., Abrahamsson, B., Dressman, J., Reppas, C. Simulation of gastric lipolysis and prediction of felodipine release from a matrix tablet in the fed stomach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009, 37, 133–140.
34. Abrahamsson, B., Albery, T., Eriksson, A., Gustafsson, I., Sjöberg, M. Food effects on tablet disintegration. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2004, 22, 165–172.
35. Shono, Y., Jantratid, E., Janssen, N., Kesisoglou, F., Mao, Y., Vertzoni, M., Reppas, C., Dressman, J. B. Prediction of food effects on the absorption of celecoxib based on biorelevant dissolution testing coupled with physiologically based pharmacokinetic modeling. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2009, 73, 107–114.
36. Kalantzi, L., Goumas, K., Kalioras, V., Abrahamsson, B., Dressman, J. B., Reppas, C. Characterization of the Human Upper Gastrointestinal Contents Under Conditions

- Simulating Bioavailability/Bioequivalence Studies. *Pharmaceutical Research*. 2006, 23(1), 165–176.
37. Dressman, J. B., Vertzoni, M., Goumas, K., Reppas, C. Estimating drug solubility in the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007, 59, 591–602.
  38. Fotaki, N., Symillides, M., Reppas, C. In vitro versus canine data for predicting input profiles of isosorbide-5-mononitrate from oral extended release products on a confidence interval basis. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2005, 24, 115–122.
  39. <http://encyclopedia.thefreedictionary.com/Parallel+study>, staženo 6. 2. 2011
  40. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls, *In Vitro* Dissolution Testing, and *In Vivo* Bioequivalence Documentation. U. S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. 1996, 11, 1–25.
  41. Spiegeleer, B. D., Vooren, L. V., Voorspoels, J., Thoné, D., Rosier, J. Dissolution stability and IVIVC investigation of a buccal tablet. *Analytica Chimica Acta*. 2001, 446, 345–351.
  42. Kotingová, L., Borská, L., Fiala, Z. Testování transdermální absorpce chemických látek *in vitro*. *Chemické listy*. 2009, 103, 533–539.
  43. Chaturvedula, A., Banga, A. K. In Vitro-In Vivo Correlation: Transdermal Drug Delivery Systems. In: Chilukuri, D. M., Sunkara, G., Young, D. (Eds.). *Pharmaceutical Product Development In Vitro-In Vivo Correlation*. 1st edition. New York: Informa healthcare, 2007. 153–176 s.
  44. Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Nasal Spray and Inhalation Solution, Suspension and Spray Drug Products-Chemistry, Manufacturing nad Controls Documentation, U. S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. 2002, 6, 1–45.
  45. Klein, S., Rudolph, M. W., Skalsky, B., Petereit, H., Dressman, J. B. Use of the BioDis to generate a physiologically relevant IVIVC. *Journal of Controlled Release*. 2008, 130, 216–219.
  46. Dash, A. K., Haney, P. W., Garavalia, M. J. Development of an in Vitro Dissolution Method Using Microdialysis Sampling Technique for Implantable Drug Delivery Systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1999, 88(10), 1036–1040.

47. Shah, V. P., Siewert, M., Dressman, J., Moeller, H., Brown, C. K. Dissolution/ In Vitro Release Testing of Special Dosage Forms. *Dissolution Technologies*. 2002, 9, 1–5.
48. Woo, B. H., Kostanski, J. W., Gebrekidan, S., Dani, B. A., Thanoo, B. C., DeLuca, P. P. Preparation, characterization and in vivo evaluation of 120-day poly(D,L-lactide) leuprolide microspheres. *Journal of Controlled Release*. 2001, 75, 307–315.
49. Schliecker, G., Schmidt, C., Fuchs, S., Ehinger, A., Sandow, J., Kissel, T. In vitro and in vivo correlation of buserelin release from biodegradable implants using statistical moment analysis. *Journal of Controlled Release*. 2004, 94, 25–37.
50. Modi, N. B., Lam, A., Lindemulder, E., Wang, B. Gupta, S. K. Application of *In Vitro-In Vivo* Correlations (IVIVC) in Setting Formulation Release Specifications. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. 2000, 21, 321–326.
51. Lindenberg, M., Kopp, S., Dressman, J. B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2004, 58, 265–278.
52. World Health Organization. Proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms. *WHO Technical Report Series*. 2006, 937, 391–437.
53. Eixarch, H., Haltner-Ukomadu, E., Beisswenger, C., Bock, U. Drug Delivery to the Lung: Permeability and Physicochemical Characteristics of Drugs as the Basis for a Pulmonary Biopharmaceutical Classification System (pBCS). *Journal of Epithelial Biology & Pharmacology*, 2010, 3, 1–14.
54. Wu, Ch. Benet. L. Z. Predicting Drug Disposition via Application of BCS: Transport/Absorption/Elimination Interplay and Development of a Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System. *Pharmaceutical Research*. 2005, 22(1), 11–23.
55. Mandal, A. S., Chatterjee, S., Kundu, S., Biswas, N., Guha, A., Paul, S., Kuotsu, K. *In vitro-in vivo* correlation and bioavailability studies of captopril from novel controlled release donut shaped tablet. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011, 421, 145–150.
56. Korhonen, O., Kanerva, H., Vidgren, M., Urtili, A., Ketolainen, J. Evaluation of novel starch acetate-diltiazem controlled release tablets in healthy human volunteers. *Journal of Controlled Release*, 2004, 95, 515–520.

57. Syed, I. A., Narsu, M. L., Rao, Y. M. *In vitro* Release kinetics and Bio availability of Oral Controlled Release Layered Matrix Tablets of Diltiazem Hydrochloride. *International Journal of Drug Development & Research*, 2011, 3, 234–241.
58. Rafiq, M., Wahab, A., Ur-Rehman, N., Hussain, A., Muhammad, S. *In vitro* and *in vivo* evaluation of two sustained release formulations of diltiazem HCl. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2010, 4(9), 678–694.
59. Shimpi, S., Chauhan, B., Mahadik, K. R., Paradkar, A. Preparation and Evaluation of Diltiazem Hydrochloride-Gelucire 43/01 Floating Granules Prepared by Melt Granulation. *AAPS PharmSciTech*, 2004, 5(3), 1–6.
60. Dutta, S., Qiu, Y., Samara, E., Cao, G., Granneman, R. Once-a-Day Extended-Release Dosage Form of Divalproex Sodium III: Development and Validation of a Level A *In Vitro-In Vivo* Correlation (IVIVC). *Journal of Pharmaceutical sciences*. 2005, 94(9), 1949–1956.
61. Akbor, M. M., Sultana, R., Ullah, A., Azad, M. A. K., Latif, A. H. M. M., Hasnat, A. *In vitro-In vivo* Correlation (IVIVC) of Immediate Release (IR) Levofloxacin Tablet. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2007, 6(2), 113–119.
62. Mahayni, H., Rekhi, G. S., Uppoor, R. S., Marroum, P., Hussain, A. S., Augsburger, L. L., Eddington, N. D. Evaluation of “External” Predictability of an *In Vitro-In Vivo* Correlation for an Extended-Release Formulation Containing Metoprolol Tartrate. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2000, 89(10), 1354–1361.
63. Rasool, F., Ahmad, M., Murtaza, G., Khan, H. M. S., Khan, S. A., Khiljee, S., Qamar-Uz-Zaman, M. Metoprolol Tartrate-Ethylcellulose Tableted Microparticles: Development of a Validated In-vitro In-vivo Correlation. *Engineering & Technology*. 2010, 63, 140–143.
64. Eddington, N. D., Marroum, P., Uppoor, R., Hussain, A., Augsburger, L. Development and Internal Validation of an *In Vitro-In Vivo* Correlation for a Hydrophilic Metoprolol Tartrate Extended Release Tablet Formulation. *Pharmaceutical Research*, 1998, 15(3), 466–473.
65. Souliman, S., Blanquet, S., Beyssac, E., Cardot, J. A level A *in vitro/in vivo* coevaluation in fasted and fed states using different methods: Applied to solid immediate release oral dosage form. *European Journal of pharmaceutical science*. 2006, 27, 72–79.

65. Parojčić, J., Vasiljević, D., Ibrić, S., Djurić, Z. Tablet disintegration and drug dissolution in viscous media: Paracetamol IR tablets. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008, 355, 93–99.
67. Dalton, J. T., Straughn, A. B., Dickason, D. A., Grandolfi, G. P. Predictive Ability of Level A *in Vitro-in Vivo* Correlation for RingCap Controlled-Release Acetaminophen Tablets. *Pharmaceutical Research*, 2001, 18(12), 1729–1734.
68. <http://www.google.com/patents?id=VOYHAAAEBAJ&printsec=abstract&zoom=4#v=onepage&q&f=false>, staženo 17. 2. 2012  
(Wong, P. S. L., Edgren, D. E., Dong, L. C., Ferrari, V. J. Banded Prolonged Release Active Agent Dosage Form. United States Patent 6,316,028 B1. 13. 11. 2001)
69. <http://www.google.com/patents?id=qT0IAAAAEBAJ&printsec=abstract&zoom=4#v=onepage&q&f=false>, staženo 17. 2. 2012  
(Wong, P. S. L., Edgren, D. E., Dong, L. C., Ferrari, V. J. Active Agent Dosage Form Comprising a Matrix and at Least Two Insoluble Bands. United States Patent 5,534,263. 9. 6. 1996)
70. Soto, E., Haertter, S., Koenen-Bergmann, M., Staab, A., Trocóniz, I. F. Population *In Vitro-In Vivo* Correlation Model for Pramipexole Slow- Release Oral Formulation. *Pharmaceutical Research*, 2010, 27(2), 340–349.
71. <http://www.pharma-excipients.com/carbomer-941-971.html>, staženo 1. 12. 2011
72. Hernández, R. M., Gascón, A. R., Calvo, M. B., Caramella, C., Conte, U., Domínguez-Gil, A., Pedraz, J. L. Correlation of ‘in vitro’ release and ‘in vivo’ absorption characteristics of four salbutamol sulphate formulations. *International Journal of Pharmaceutics*. 1996, 139, 45–52.
73. Murtaza, G., Ahmad, M., Akhtar, N. Biowaiver study of oral tableted ethylcellulose microcapsules of a BCS class I drug. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*. 2009, 23(2), 175–186.
74. Ochoa, L., Igartua, M., Hernández, R. M., Solinís, M. Á., Gascón, A. R., Pedraz, J. L. *In vivo* evaluation of two new sustained release formulations elaborated by one-step melt granulation: Level A *in vitro-in vivo* correlation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2010, 75, 232–237.
75. Sirisuth, N., Augsburger, L. L., Eddington, N. D. Development and Validation of Non-Linear IVIVC Model for a Diltiazem Extended Release Formulation. *Biopharmaceutics & Drug disposition*. 2002, 23, 1–8.

76. Kortejärvi, H., Mikkola, J., Bäckman, M., Antila, S., Marvola, M. Development of Level A, B and C in vitro-in vivo correlations for modified-release levosimendan capsules. *International Journal of Pharmaceutics*. 2002, 241, 87–95.
77. Kannan, K., Manavalan, R., Karar, P. K. In vitro In Vivo correlation of sustained release capsules of Metoprolol. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2010, 2(9), 562–566.
78. Siddique, S., Khanam, J., Bigoniya, P. Development of Sustained Release Capsules Containing “Coated Matrix Granules of Metoprolol Tartrate”. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(3), 1306–1314.
79. Nozaki, Y., Ohta, M., Chien, Y. W. Transmucosal controlled systematic delivery of isosorbide dinitrate: in vivo/in vitro correlation. *Journal of Controlled Release*. 1997, 43, 105–114.
80. Aamir, M. N., Ahmad, M., Akhtar, N., Murtaza, G., Khan, S. A., Zaman, S., Nokhodchi, A. Development and *in vitro-in vivo* relationship of controlled-release microparticles loaded with tramadol hydrochloride. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011, 407, 38–43.
81. Lassoued, M. A., Khemiss, F., Sfar, S. Comparative Study of Two *In Vitro* Methods for Assessing Drug Absorption: Sartorius SM 16750 Apparatus Versus Everted Gut Sac. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2011, 14(1), 117–127.
82. Kumar, P., Singh, S., Mishra, B. Development and biopharmaceutical evaluation of extended release formulation of tramadol hydrochloride based on osmotic technology. *Acta Pharmaceutica*. 2009, 59, 15–30.
83. Mutalik, S., Manoj, K., Reddy, M. S., Kushtagi, P., Usha, A. N., Anju, P., Ranjith, A. K., Udupa, N. Chitosan and Enteric Polymer Based Once Daily Sustained Release Tablets of Aceclofenac: *In Vitro* and *In Vivo* Studies. *AAPS PharmSciTech*, 2008, 9(2), 651–659.
84. Soni, T., Nagda, Ch., Gandhi, T., Chotai, N. P. Development of Discriminating Method for Dissolution of Aceclofenac Marketed Formulations. *Dissolution Technologies*. 2008, 15, 31–35.
85. Emami, J. Comparative in vitro and in vivo evaluation of three tablet formulations of amiodarone in healthy subjects. *DARU*. 2010, 18(3), 193–199.
86. Dressman, J. B., Reppas, C. In vitro-in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2000, 11, 73–80.



87. Abdelbary, A. A., Elshafeey, A. H., El-Nabarawi, M., Ellassasy, A., Li, X., Jasti, B. Comparative *In vivo* Evaluation of Aripiprazole Coprecipitate, Nanoparticles and Marketed Tablets in Healthy Human Volunteers and *In vitro-In vivo* Correlation. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 2011, 5(4), 1397–1409.
88. Fakes, M. G., Vakkalagadda, B. J., Quian, F., Desikan, S., Gandhi, R. B., Lai, Ch., Hsieh, A., Franchini, M. K., Toale, H., Brown, J. Enhancement of oral bioavailability of an HIV-attachment inhibitor by nanosizing and amorphous formulation approaches. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009, 370, 167–174.
89. Lake, O. A., Olling, M., Barends, D. M. In vitro/in vivo correlations of dissolution data of carbamazepine immediate release tablets with pharmacokinetic data obtained in healthy volunteers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 1999, 48, 13–19.
90. Volpato, N. M., Silva, R. L., Brito, A. P. P., Gonçalves, J. C. S., Vaisman, M., Noël, F. Multiple level C in vitro/in vivo correlation of dissolution profiles of two L-thyroxine tablets with pharmacokinetics data obtained from patient treated for hypothyroidism. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2004, 21, 655–660.
91. Jinno, J., Kamada, N., Miyake, M., Yamada, K., Mukai, T., Odomi, M., Toguchi, H., Liversidge, G. G., Higaki, K., Kimura, T. In vitro-in vivo correlation for wet-milled tablet of poorly water-soluble cilostazol. *Journal of Controlled Release*. 2008, 130, 29–37.
92. Khan, M. K., Khan, M. F., Khan, H., Mustafa, G. Bioavailability of ciprofloxacin tablets in humans and its correlation with the dissolution rates. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009, 22(3), 329–334.
93. Zhang, Z., Wang, C., Sun, G., Li, N., Peng, B., Pan, W. Pharmacokinetics of two modified release system of dipyridamole in beagle dogs. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*. 2008, 17, 297–302.
94. Jogia, H., Mehta, T., Patel, M. Evaluation of Dissolution Media Containing a Novel Synthetic Surfactant by In Vitro Testing of BCS Class II Drugs. *Dissolution Technologies*. 2009, 16, 14–19.
95. Rossi, R. C., Dias, C. L., Bajerski, L., Bergold, A. M., Fröhlich, P. E. Development and validation of discriminating method of dissolution for fosamprenavir tablets based on in vivo data. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2011, 54, 439–444.

96. Grbic, S., Parojcic, J., Ibric, S., Djuric, Z. *In Vitro-In Vivo* Correlation for Gliclazide Immediate-Release Tablets Based on Mechanistic Absorption Simulation. *AAPS PharmSciTech*. 2011, 12(1), 165–171.
97. Demirtürk, E., Öner, L. Solubility and Dissolution Properties of Gliclazide. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2004, 29, 21–25.
98. Ning, X., Sun, J., Han, X., Wu, Y., Yan, Z., Han, J., He, Z. Strategies to improve dissolution and oral absorption of glimepiride tablets: solid dispersion versus micronization techniques. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2011, 37(6), 727–736.
99. He, Z., Zhong, D., Chen, X., Liu, X., Tang, X., Zhao, L. Development of a dissolution medium for nimodipine tablets based on bioavailability evaluation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2004, 21, 487–491.
100. Ghosh, A., Bhaumik, U. K., Bose, A., Mandal, U., Gowda, V., Chatterjee, B., Chakrabarty, U. S., Pal, T. K. Extended Release Dosage Form of Glipizide: Development and Validation of a Level A *In Vitro-in Vivo* Correlation. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2008, 31(10), 1946–1951.
101. Sankalia, J. M., Sankalia, M. G., Mashru, R. C. Drug release and swelling kinetics of directly compressed glipizide sustained-release matrices: Establishment of level A IVIVC. *Journal of Controlled Release*. 2008, 129, 49–58.
102. Shah, H. J., Subbaiah, G., Patel, D. M., Patel, C. N. *In Vitro-In Vivo* Correlation of Modified Release Dosage Form of Lamotrigine. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. 2009, 30, 542–531.
103. Okumu, A., DiMaso, M., Löbenberg, R. Dynamic Dissolution Testing To Establish *In Vitro/In Vivo* Correlations for Montelukast Sodium, a Poorly Soluble Drug. *Pharmaceutical Research*. 2008, 25(12), 2778–2785.
104. Macha, S., Yong, C., Darrington, T., Davis, M. S., MacGregor, T. R., Castles, M., Krill, S. L. *In Vitro-In Vivo* Correlation for Nevirapine Extended Release Tablets. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. 2009, 30, 542–550.
105. Badshah, A., Subhan, F., Rauf, K. Controlled Release Matrix Tablets of Olanzapine: Influence of Polymers on the *In Vitro* Release and Bioavailability. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(3), 1397–1404.
106. Sunesen, V. H., Pedersen, B. L., Kristensen, H. G., Müllertz, A. In vivo in vitro correlations for a poorly soluble drug, danazol, using the flow-through dissolution

- method with biorelevant dissolution media. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2005, 24, 305–313.
107. Rouini, M., Ardakani, Y. H., Mirfazaelian, A., Hakemi, L., Baluchestani, M. Investigation on Different Levels of *In Vitro-In Vivo* Correlation: Gemfibrozil Immediate Release Capsule. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. 2008, 29, 349–355.
  108. Reddy, Y. D., Sankar, V. R., Dachinamoorthy, D., Rao, A. N., Sekhar, K. B. C. Conception and evaluation of Gemfibrozil as immediate drug delivery system. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2010, 2(2), 590–297.
  109. Donato, E. M., Martins, L. A., Fröhlich, P. E., Bergold, A. M. Development and validation of dissolution test for lopinavir, a poorly water-soluble drug, in soft gel capsules, based on *in vivo* data. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2008, 47, 547–552.
  110. Rao, B. S., Seshasayana, A., Saradhi, S. V. P., Kumar, N. R., Narayan, C. P. S., Murthy, K. V. R. Correlation of ‘in vitro’ release and ‘in vivo’ absorption characteristics of rifampicin from ethylcellulose coated nonpareil beads. *International Journal of Pharmaceutics*. 2001, 230, 1–9.
  111. Tamilvanan, S., Sa, B. In Vitro and In Vivo Evaluation of Single-Unit Commercial Conventional Tablet and Sustained-Release Capsules Compared With Multiple-Unit Polystyrene Microparticle Dosage Forms of Ibuprofen. *AAPS PharmSciTech*, 2006, 7(3), 1–9.
  112. Ishii, K., Saitou, Y., Yamada, R., Itai, S., Nemoto, M. Novel Approach for Determination of Correlation between *in Vivo* and *in Vitro* Dissolution Using the Optimization Technique. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1996, 44(8), 1550–1555.
  113. Eroglu, H., Burul-Bozkurt, N., Uma, S., Oner, L. Preparation and *In Vitro/In vivo* Evaluation of Microparticle Formulations Containing Meloxicam. *AAPS PharmSciTech*. 2011, 13(1), 46–62.
  114. Khan, S. A., Ahmad, M., Murtaza, G., Aamir, M. N., Kousar, R., Rasool, F., Zaman, S. *In vitro-in vivo* correlation study on nimesulide loaded hydroxypropylmethylcellulose microparticles. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2010, 45(6), 772–777.
  115. Jantratid, E., De Maio, V., Ronda, E., Mattavelli, V., Vertzoni, M., Dressman, J. B. Application of biorelevant dissolution tests to the prediction of *in vivo* performance of diclofenac sodium from an oral modified-release pellet dosage form. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2009, 37, 434–441.

116. Balan, G., Timmins, P., Greene, D. S., Marathe, P. H. *In Vitro-In vivo* Correlation (IVIVC) Models for Metformin after Administration of Modified-Release (MR) Oral Dosage Forms to Healthy Human Volunteers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2001, 90(8), 1176–1185.
117. Khiljee, S., Ahmad, M., Murtaza, G., Madni, A., Akhtar, N., Akhtar, M. Bioequivalence evaluation of norfloxacin tablets based on *in vitro-in vivo* correlation. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2011, 24(4), 421–426.
118. Breda, S. A., Kairuz, A. F. J., Manzo, R. H., Olivera, M. E. Solubility behavior and biopharmaceutical classification of novel high-solubility ciprofloxacin and norfloxacin pharmaceutical derivatives. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009, 371, 106–113.
119. Rossi, R. C., Dias, C. L., Donato, E. M., Martins, L. A., Bergold, A. M., Fröhlich, P. E. Development and validation of dissolution test for ritonavir soft gelatin capsules based on *in vivo* data. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007, 338, 119–124.
120. Yasir, M., Asif, M., Kumar, A., Aggarwal, A. Biopharmaceutical Classification System: An Account. *International Journal of PharmTech Research*. 2010, 2(3), 1681–1690.

### 13 Seznam použitých zkratek

ADS	umělý trávicí systém
AUC	plocha pod křivkou plazmatických koncentrací léčivé látky (v diplomové práci jsou uvedeny AUC pro různé časové údaje)
BCS	Biofarmaceutický klasifikační systém
c	plazmatická koncentrace
C <sub>max</sub>	maximální plazmatická koncentrace
CV	variační koeficient
D10	procentuální množství léčiva rozpuštěného po 10 minutách (v diplomové práci jsou uvedena procentuální množství léčiva rozpuštěného za různé časové údaje)
dDu/dt	rychlost vylučování léčiva do moči
Du <sub>∞</sub>	kumulativní množství léčiva vyloučeného močí
EC	ethylcelulosa
EMEA	Evropská léková agentura
FaSSGF	žaludeční tekutina simulující stav na lačno
FaSSIF	střevní tekutina simulující stav nalačno
FDA	Úřad pro potraviny a léčiva
FeSSIF	střevní tekutina simulující stav po jídle
FIP	Mezinárodní farmaceutická federace
HPMC	hypromelosa
IVIVC	<i>in vitro-in vivo</i> korelace
K <sub>a</sub>	rychlostní konstanta absorpce
MCC	mikrokrytalická celulosa
MDT	střední doba disoluce <i>in vitro</i>
MIT	střední doba absorpce <i>in vivo</i>
MRT	střední retenční doba <i>in vivo</i>
PE	chyba odhadu
PEG 6000	polyethylenglykol 6000
PEO	polyethylenoxid
PVP	povidon
r	korelační koeficient
r <sup>2</sup>	koeficient determinace

SCoF	tekutina simulující tračník
SGF	umělá žaludeční šťáva
SIF	umělá střevní šťáva
SLS	natrium-lauryl-sulfát
$t_{1/2}$	poločas eliminace
T30%	doba, za kterou se uvolní 30 % léčiva (v diplomové práci jsou uvedeny doby, za které se uvolní různá procenta léčiv)
$T_{max}$	čas, který uběhne mezi podáním léčivého přípravku a okamžikem, kdy je pozorována $C_{max}$
USP	Pharmacopeia Spojených států amerických