VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE

LABORATOŘ OBORU
Výroba léčiv

Ústav organické technologie (111)

V

Sledování dezintegrace tablet za pomoci optického mikroskopu

Vedoucí práce:

Ing. Iryna Danylo, PhD
Ing. Lukáš Koláčný
Ing., Mgr. Jan Vomočil

Umístění práce:
A72a

Úvod

Dezintegrace tablety je výsledkem komplexního destruktivního procesu, na který má vliv spousta faktorů (složení tablety, způsob její výroby, použité médium…). Všechny tyto faktory vedou k tomu, že studium procesu dezintegrace je značně komplikované a do dnes neexistuje lékopisná metoda, která by dokázala tento proces kvantitativně popsat. Výsledkem lékopisného testu je tak pouze informace, zdali se tableta rozpadne do předepsaného času či nikoliv.

Vzhledem ke zvyšujícímu se počtu léčiv se špatnou rozpustností, je ovšem hlubší znalost mechanismu dezintegrace žádoucí. Rychlost dezintegrace tablety je jedním z limitujících kroků pro následný proces disoluce, který je zodpovědný za navození a udržování efektivní koncentrace léčiva v těle. Lze tedy např. ovlivnit rychlost nástupu účinku léčiva správnou úpravou jeho mechanismu dezintegrace. Zároveň lze na základě způsobu dezintegrace tablety učinit předpoklady o způsobu její výroby. Tato informace může být užitečná pro generické firmy při jejich výzkumu.

Existuje několik metod zkoumání mechanismu dezintegrace tablet (např. laserová difrakce), nicméně výhodou optické mikroskopie je její jednoduchost a nenáročnost na přípravu vzorků. Zároveň zde nedochází k destrukci počátečních fragmentů tablety přítomností míchadla jako např. u metody laserové difrakce. Nevýhodou této metody je však omezený počet analyzovaných částic. Lze tak tedy využít tuto metodu v kombinaci s dalšími metodami pro získání přesnějšího pochopení procesu dezintegrace tablet.

Úkoly

1. Proveďte rozpad dvou komerčně dostupných tablet se stejnou účinnou látkou a porovnejte průběh desintegrace
2. Ve vybraných časových intervalech pořiďte tři mikroskopické snímky suspenze částic ve vodě.
3. Označte a vyhodnoťte částice na pořízených snímcích z definovaných časových intervalů v softwaru NIS Elements
4. Sestavte graf závislosti změny střední velikosti ekvivalentního průměru částic na čase a pozorujte rozdíly mezi jednotlivými formulacemi.
5. Sestavte histogram velikosti částic pro obě formulace pro určený čas.
6. Vyhodnoťte tytéž pořízené snímky ve volně dostupném komerčním softwaru ImageJ a porovnejte výsledky
7. Pomocí libovolného nástroje umělé inteligence vytvořte skript pro software MATLAB, který bude automaticky provádět kroky zpracování obrazu a porovnejte výsledky.
8. Diskutujte příčinu rozdílných výsledků v závislosti na použitém softwaru.
9. Diskutujte rozdílný průběh desintegrace dvou komerčně dostupných tablet. Porovnejte složení těchto léčiv (vyhledat na internetu) a také navrhněte parametry výroby, které by mohli rozdílný rozpad léčiva způsobovat.
10. Před započetím úlohy si zjistěte význam pojmů: binarizace obrazu a segmentace obrazu.

Postup práce

Nepředpokládá se žádná znalost práce s optickým mikroskopem ani softwarem NIS Elements, ImageJ a MATLAB. Všechny dílčí úkoly budou nejprve demonstrovány.

Rozpad tablety

1) Umístěte tabletu do připravené Petriho misky pod mikroskopem, zaostřete mikroskop na tabletu a pomalu přilejte vodu, než bude tableta celým objemem ponořena.
2) Vyčkejte, než dojde k rozpadu tablety a pozorujte, jak dochází k rozpadu tablety.
3) Stejný proces desintegrace tablety provedeme s ¼ tablety a menším množstvím vody, kvůli snížení koncentrace částic v rozpouštědle. Po kompletní desintegraci ¼ tablety pořiďte 3 snímky uvolněných částic z tablety. Tyto 3 snímky budou představovat počáteční stav experimentu (t = 0 min).
4) Obsah Petriho misky přelijte do kádinky s míchadlem a postavte na magnetickou míchačku.
5) Suspenzi nechte míchat předem dohodnutý čas.
6) Poté suspenzi opět přelijte do vyčištěné Petriho misky, vložte pod mikroskop a pořiďte 3 snímky.
7) Opakujte kroky 4-6 až do dosažení celkového času míchání 30 minut.

Obrazová analýza

1) Na pořízeném snímku vyberte oblast zájmu (ROI = region of interest).
2) Označte částice nacházející se uvnitř zvoleného ROI pomocí nástrojů v programu NIS Elements.
3) Pomocí automatického vyhodnocení označených částic získejte údaje o jejich ekvivalentním průměru a kruhovitosti.
4) Vyexportujte údaje do Excelu.
5) Uložte pořízený snímek.
6) Pomocí softwaru ImageJ vytvořte binární obraz, který následně poloautomaticky vyhodnotíte.
7) Vyexportujte údaje do Excelu.
8) Pomocí softwaru MATLAB vytvořte binární obraz, který následně automaticky vyhodnotíte.
9) Tento postup zopakujte pro každý pořízený snímek zkoumané formulace.

V rámci časové úspory je doporučeno začít s tímto procesem během míchání suspenze na magnetické míchačce k využití tohoto volného času.

Vyhodnocení rozpadu tablety

1) Spojte získané údaje z tří analyzovaných mikroskopických snímků jedné formulace z konkrétního času do jedné tabulky.
2) Spočítejte průměr a rozptyl získaných hodnot z výše získané distribuce a určete horní a dolní decil.
3) Sestavte graf závislosti střední hodnoty ekvivalentního průměru na čase.
4) Vytvořte histogram pro určený čas, pro obě formulace
5) Porovnejte grafy obou formulací a diskutujte jejich rozdíly.
6) Porovnejte výsledky z softwarů a diskutujte rozdíly

Protokol

Každý protokol by měl obsahovat:

- Stručný postup práce a její cíle
- Krátké zhodnocení rozpadu tablety na počátku měření
- Příklad provedeného označení částic pro každou formulaci. Export snímků z NIS Elements.
- Stručný popis práce se softwary
- Přehledně zobrazené výsledky
- Graf získané závislosti střední hodnoty ekvivalentního průměru na čase
- Histogram distribuce velikosti částic
- Diskusi výsledků a porovnání výše uvedených grafů se zaměřením na vysvětlení jejich rozdílů
- Ke každému protokolu bude přiložen přehledný soubor Excel se získanými daty, tak aby bylo možné ověřit provedení výpočtů.