

Univerzita Karlova
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutickej technológie



**Vplyv mezoporézneho nosiča na vlastnosti hydrofilných matric na
báze hypromelózy**

Effect of mesoporous carrier on the properties of hydrophilic matrix
based on hydroxypropyl methylcellulose

DIPLOMOVÁ PRÁCA

Vedúci diplomovej práce: doc. PharmDr. Barbora Vraníková, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Chiazor Ugo Ogadah

Hradec Králové, 2022

Jana Milá

Prehlásenie

Prehlasujem, že táto práca je mojím pôvodným autorským dielom. Použitá literatúra aj všetky ďalšie zdroje, z ktorých som pri spracovaní čerpala, sú uvedené v zozname použitej literatúry a v práci riadne citované. Práca nebola použitá k získaniu iného alebo rovnakého titulu.

V Hradci Králové

Jana Milá

Pod'akovanie

Na tomto mieste by som rada poďakovala mojej školiteľke doc. PharmDr. Barbore Vraníkovej, Ph.D. a konzultantke Mgr. Chiazor Ugo Ogadah za ich odborné vedenie, cenné rady a ochotu pri vypracovaní diplomovej práce. Ďakujem tiež za finančnú podporu projektu GAUK 70119/2019.

V neposlednom rade veľké ďakujem patrí mojej rodine za pomoc, podporu a trpezlivosť počas celého štúdia.

Obsah

1.	Abstrakt.....	6
2.	Abstract.....	7
3.	Cieľ práce.....	8
4.	Zoznam symbolov a skratiek.....	9
5.	Úvod.....	10
6.	Teoretická časť.....	11
6.1.	Riadené uvoľňovanie liečiv.....	11
6.1.1.	Predĺžené uvoľňovanie.....	11
6.1.2.	Oneskorené uvoľňovanie.....	12
6.1.3.	Pulzné uvoľňovanie.....	13
6.2.	Metódy cieleného prívodu liečiv do hrubého čreva.....	13
6.2.1.	Proliečivá.....	14
6.2.2.	Polymérne obaly.....	14
6.2.3.	Polymérne matrice.....	17
6.2.4.	Časovo-dependentné systémy.....	18
6.2.5.	Bioadhezívne systémy.....	19
6.2.6.	Novšie možnosti zacielenia liečiv.....	20
6.3.	LSS s modifikovaným uvoľňovaním liečiva.....	23
7.	Experimentálna časť.....	29
7.1.	Použité suroviny.....	29
7.2.	Použité prístroje.....	30
7.3.	Použité metódy.....	32
7.3.1.	Príprava tabletovín.....	32
7.3.2.	Príprava tabliet.....	32
7.3.3.	Príprava biorelevantného média simulujúceho prostredie žalúdka nalačno.....	33
7.3.4.	Príprava biorelevantného média simulujúceho prostredie tenkého čreva nalačno.....	34
7.3.5.	Príprava biorelevantného média simulujúceho prostredie hrubého čreva nalačno.....	35

7.3.6. Stanovenie indexu napučievania.....	36
7.3.7. Testovanie mukoadhézie.....	37
7.3.8. Štatistické vyhodnotenie.....	38
8. Výsledky a diskusia.....	39
8.1. Hodnotenie napučievania tabliet.....	39
8.2. Stanovenie mukoadhezívnej sily.....	45
9. Záver.....	51
10. Použitá literatúra.....	52

1. Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Farmaceutickej technológie

Školiteľ: doc. PharmDr. Barbora Vraníková, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Chiazor Ugo Ogadah

Poslucháč: Jana Milá

Názov diplomovej práce: Vplyv mezoporézneho nosiča na vlastnosti hydrofilných matric na báze hypromelózy

Cielený prívod liečiv do kolonu má dôležité postavenie v liečbe lokálnych ochorení hrubého čreva. V rámci riadeného uvoľňovania liečivej látky sa využívajú rôzne špecifické liekové systémy odolné voči kyslému prostrediu hornej časti gastrointestinálneho traktu. Okrem toho vyššiu účinnosť predovšetkým zlé rozpustných liečiv je možné dosiahnuť tiež pomocou mukoadhezívnych matricových systémov v kombinácii so systémami kvapalina v pevnej fáze (liquisolid systémy), kedy je liečivá látka väčšinou rozpustená a nemusí sa už rozpúšťať počas uvoľňovania z liekovej formy.

Cieľom predkladanej práce tak bolo štúdium vplyvu mezoporézneho nosiča Neusilinu® US2 na mukoadhezívne vlastnosti a rýchlosť napučovania tabliet na báze hypromelózy. Formulácie pripravené z modelového liečiva teofylínu, Neusilinu® US2, hypromelózy K15M (HPMC K15M) alebo ich zmesi sa podrobili testu napučovania a stanoveniu mukoadhézie v prostredí troch biorelevantných médií simulujúcich prostredie žalúdka (FaSSGF), tenkého čreva (FaSSIF) i kolonu (FaSSCoF) nalačno. Získané výsledky ukazujú, že začlenením Neusilinu® US2 do polymérnej matrice dochádza k miernemu poklesu indexu napučovania a minimalizácii vplyvu pH na mieru napučania tabliet, ktorá bola pozorovaná u tabliet tvorených samotnou HPMC K15M. V prípade matricových tabliet obsahujúcich vyšší podiel HPMC K15M bola nameraná väčšia mukoadhezívna sila, preto sa ako najvhodnejšia formulácia pre ďalšie testovanie javí vzorka s dominantným zastúpením HPMC K15M (85,4 : 14,6), pri ktorej zároveň nebol pozorovaný vplyv pH na žiadny z testovaných parametrov.

2. Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of: Pharmaceutical Technology

Mentor: doc. PharmDr. Barbora Vraníková, Ph.D.

Consultant: Mgr. Chiazor Ugo Ogadah

Student: Jana Milá

Title of Thesis: Effect of mesoporous carrier on the properties of hydrophilic matrix based on hydroxypropyl methylcellulose

Colon targeted drug delivery has an essential role in treating local colon diseases. Various specific drug delivery systems resistant to the acidic environment of the upper gastrointestinal tract are used in the controlled drug release. In addition, higher efficacy, especially of poorly soluble drugs, can also be achieved by using mucoadhesive matrix systems in combination with liquisolid systems. Within these systems, the drug is usually dissolved and, therefore, it does not need to dissolve during release from the dosage form.

The aim of the presented work was to study the effect of the mesoporous carrier Neusilin[®] US2 on the mucoadhesive properties and swelling rate of tablets based on hypromellose. Formulations containing the model drug theophylline, Neusilin[®] US2, hypromellose K15M (HPMC K15M) or their mixtures were subjected to determination of swelling and mucoadhesion strength in the environment of three biorelevant media simulating the fasted state of the stomach (FaSSGF), small intestine (FaSSIF) and colon (FaSSCoF). The obtained results showed that the incorporation of Neusilin[®] US2 into the polymer matrix slightly reduces the swelling index and minimises the effect of pH on the swelling rate. A higher mucoadhesive force was measured in the matrix tablets containing a greater proportion of HPMC K15M. Therefore, a sample with a higher amount of HPMC K15M (85,4 : 14,6) appears to be the most suitable formulation for further testing due to the pH-independent behaviour of this sample.

3. Cieľ práce

Teoretická časť tejto diplomovej práce sa zaoberá riadeným uvoľňovaním liečiv a stručne charakterizuje základné prístupy cieleného prívodu liečiv do kolonu. Detailnejšie sa teoretická časť zameriava na liquisolid systémy s modifikovaným uvoľňovaním a približuje výsledky jednotlivých odborných štúdií.

Cieľom experimentálnej časti je hodnotenie vplyvu prídavku mezoporézneho nosiča Neusilinu® US2 na vlastnosti hydrofilných matricových tabliet na báze hypromelózy v biorelevantnom médiu simulujúcom prostredie žalúdka, tenkého čreva i kolonu nalačno. Matricové tablety s obsahom modelového liečiva teofylínu sa podrobia testovaniu indexu napučovania a stanoveniu mukoadhézie. Získané výsledky by mali poskytnúť komplexnejšie informácie o správaní sa týchto polymérnych matric počas prechodu gastrointestinálnym traktom či behom nefyziologických zmien pH (napr. zápal v hrubom čreve). Nadobudnuté poznatky budú následne využité v rámci rozsiahlejšieho experimentu zaoberajúceho sa prípravou liekových systémov so zacielením liečiv do kolonu, ktorého súčasťou je i táto preformulačná štúdia.

4. Zoznam symbolov a skratiek

FaSSCoF	biorelevantné disolučné médium simulujúce tekutiny hrubého čreva nalačno (Fasted State Simulated Colonic Fluid)
FaSSGF	biorelevantné disolučné médium simulujúce stav žalúdka nalačno (Fasted State Simulated Gastric Fluid)
FaSSIF	biorelevantné disolučné médium simulujúce tekutiny tenkého čreva nalačno (Fasted State Simulated Intestinal Fluid)
GIT	gastrointestinálny trakt
GK	guarová klovatina
HPMC	hypromelóza (hydroxypropylmetylcelulóza)
HPMC K15M	hypromelóza s viskozitným stupňom 15 000 [mPa.s]
LS	liquisolid
LSS	systemy kvapalina v pevnej fáze, liquisolid systemy
MCC	mikrokryštalická celulóza
PEG	makrogól (polyetylén glykol)
PG	propylén glykol
PVP	polyvinylpyrolidón
Tg	teplota sklovitého prechodu [°C]
3D	trojrozmerný

5. Úvod

Dodávanie liečiv do kolonu nadobudlo v posledných rokoch zvýšený význam a záujem v oblasti výskumu. Je to preto, že hrubé črevo predstavuje vhodné miesto nielen na liečbu lokálnych ochorení, ale tiež zlepšenie systémovej absorpcie liečiv so zníženou stabilitou v hornom gastrointestinálnom trakte (GIT).¹ Lokálne možno liečiť črevné infekcie, kolorektálny karcinóm, syndróm dráždivého čreva, či nešpecifické črevné zápal (Crohnova choroba, ulcerózna kolitída). V prípade systémovej terapie je hrubé črevo vhodné pre vstrebávanie peptidov, proteínov a vakcín z dôvodu nižšej aktivity peptidáz a proteolitických enzýmov. Okrem toho môže byť dodávanie liečiv do kolonu mimoriadne užitočné pri onemocneniach, ktoré dosahujú vrchol symptómov skoro ráno (napr. astma, angina pectoris alebo artritída), kedy sa využíva časové oneskorenie medzi aplikáciou liečivého prípravku a jeho absorpciou.^{2,3}

K cielenému prívodu liečivých látok do kolonu sa využívajú špeciálne liekové systémy, ktorých prednosťou je dopravenie vysokej koncentrácie účinnej látky na miesto pôsobenia, čiže do hrubého čreva. Priame pôsobenie v požadovanej oblasti vedie k zvýšeniu účinnosti liečiv a k zníženiu systémových nežiaducich účinkov, ktoré by mohli nastať v prípade predčasného uvoľnenia liečivej látky a jej následnej absorpcii v hornej časti GIT.⁴ Medzi ďalšie prínosy patrí redukcia dávok, zmiernenie podráždenia žalúdka či pokles nákladov spojený so znížením frekvencie dávkovania finančne náročnejšej farmakoterapie. Oproti tomu obmedzenie cieleného prívodu liečiv môže spočívať v zložitejšom technologickom spracovaní, v nožnej metabolickej degradácii liečiva prítomnou mikroflórou, v neúplnom uvoľnení liečivej látky alebo v znížení biologickej dostupnosti v dôsledku potenciálneho viazania liečiva na zvyšky potravy, črevné sekréty, hlien a stolicu.⁵

6. Teoretická časť

6.1. Riadené uvoľňovanie liečiv

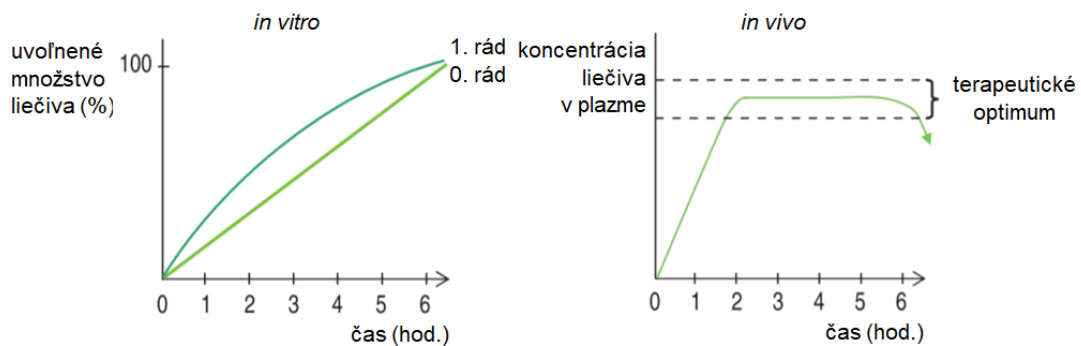
Pri podaní klasických perorálnych liečivých prípravkov dochádza k uvoľňovaniu účinnej látky zväčša ihneď po užití. Koncentrácia liečiva v plazme postupne rastie k maximu a následne pomaly klesá k nule. Aby sa udržala potrebná terapeutická plazmatická koncentrácia liečivej látky, musí sa v pravidelných intervaloch aplikovať ďalšia dávka, čo môže vyústiť v kolísanie hladiny liečiva v krvi. Preto je niekedy nutné toto kolísanie adekvátne modifikovať, s cieľom dosiahnuť najprimeranejší terapeutický profil zodpovedajúci špecifiku určitého ochorenia.⁶ Z hľadiska modifikácie uvoľňovania liečivej látky, tak možno rozlíšiť liekové formy s predĺženým, oneskoreným a pulzným uvoľňovaním.⁷

Perorálne formulácie s riadeným uvoľňovaním liečiva na rozdiel od konvenčných liekových foriem vedú k optimalizácii biofarmaceutických, farmakokinetických a farmakodynamických vlastností liečivého prípravku. Tieto formulácie znižujú frekvenciu dávkovania a udržiavajú jednotnú plazmatickú koncentráciu, čím umožňujú maximálnu využiteľnosť liečiva so znížením lokálnych a systémových vedľajších účinkov a lepšou komplianciou pacienta.⁸ Vyrábajú sa za využitia špecifických pomocných látok alebo špeciálnych postupov farmaceutickej technológie, prípadne kombináciou oboch foriem tak, aby sa dosiahlo požadovanej rýchlosti, miesta alebo času uvoľňovania účinnej látky. Medzi liekové formy zabezpečujúce riadené uvoľňovanie liečiva po perorálnom podaní patria predovšetkým matricové tablety, obalované tablety a liekové mikroformy (pelety, mikročastice a nanočastice).^{9,10}

6.1.1. Predĺžené uvoľňovanie

Liekové systémy s predĺženým uvoľňovaním poskytujú okamžité uvoľnenie časti liečiva, po ktorom nasleduje postupné a kontinuálne uvoľňovanie ďalších množstiev liečivej látky, čím sa zachováva účinok počas vopred stanoveného časového obdobia (*Obrázok 1*).⁸ Uvoľňovanie liečiva je udržiavané v rozsahu efektívnej koncentrácie a v dlhšom časovom intervale ako by bola po aplikácii

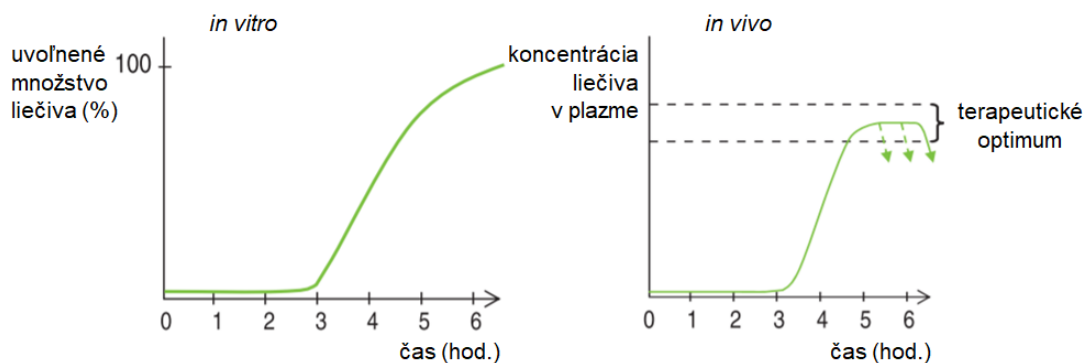
jednotlivej dávky liečiva, ktorej nástup účinku závisí od farmakokinetických vlastností (napr. väzby na bielkoviny, metabolizmu a eliminácie).^{10,11}



Obrázok 1: Schematické znázornenie predĺženého uvoľňovania liečiva *in vitro* (vľavo) a *in vivo* (vpravo).¹⁰

6.1.2. Oneskorené uvoľňovanie

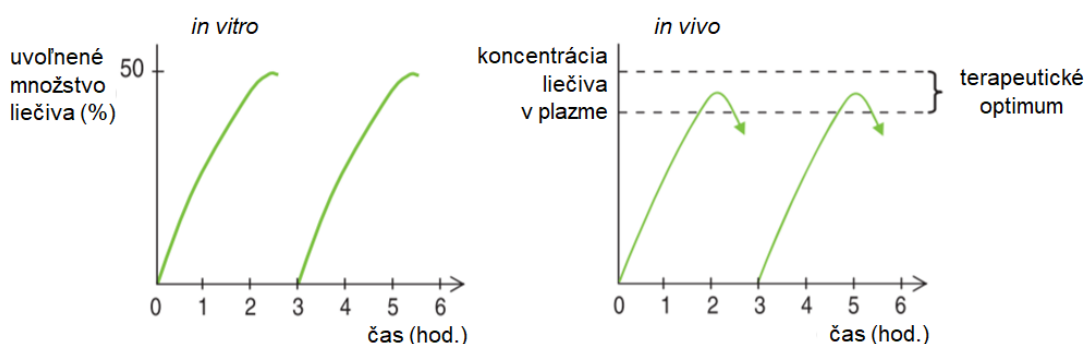
Formulácie s oneskoreným uvoľňovaním uvoľňujú bolus liečiva po určitom čase a na vopred určené miesto, t. j. neuvolňujú účinnú látku ihneď po požití (Obrázok 2).¹² Primárnym cieľom týchto produktov je ochrana liečivej látky pred žalúdočnými tekutinami, zníženie žalúdočného dráždenia alebo uľahčenie gastrointestinálneho prechodu liečivého prípravku s lepším vstrebávaním z črevného traktu alebo z jeho konkrétneho miesta, napr. kolonu^{10,12}, ktorému je detailnejšie venovaná kapitola 6.2. Oddialené pôsobenie liečiva je výhodné taktiež pri ochoreniach sprevádzaných nočnými záchvatmi (astma), nespavosťou s predčasným prebudením alebo rannými ťažkosťami (artritída, Parkinsonova choroba atď.).¹⁰



Obrázok 2: Schematické znázornenie oneskoreného uvoľňovania liečiva *in vitro* (vľavo) a *in vivo* (vpravo).¹⁰

6.1.3. Pulzné uvoľňovanie

Liečivý prípravok s pulzným uvoľňovaním zaisťuje prerušovaný účinok liečiva v opakujúcich sa intervaloch (Obrázok 3). Pulzné pôsobenie je vhodné napríklad v režime viacnásobného denného podávania liečiva (inzulín) alebo pri vzniku tolerance na podanú účinnú látku (nitráty).^{10,13}



Obrázok 3: Schematické znázornenie pulzného uvoľňovania liečiva *in vitro* (vľavo) a *in vivo* (vpravo).¹⁰

6.2. Metódy cieleného prívodu liečiv do hrubého čreva

Dodanie liečiva do hrubého čreva môže prebiehať dvomi spôsobmi, a to perorálnou alebo rektálnou cestou. Najkratšiu cestu pri zacielení liečiv do kolonu predstavuje rektálne podanie, ktoré je však náročné z hľadiska zacielenia aktívnej látky na špecifické miesto v hrubom čreve (napr. do proximálnej oblasti). Ukázalo sa, že čapíky sa zadržiavajú hlavne v konečníku, zatiaľ čo roztoky klystírov pôsobia

skôr v sigmoidálnom a zostupnom tračníku. Okrem toho môže byť rektálne podanie nepríjemné a viesť tak k zníženiu kompliance pacienta k liečbe.¹⁴⁻¹⁶

Najpreferovanejším a zároveň najpohodlnejším spôsobom aplikácie liečiva sú perorálne liekové formy, ktoré umožňujú vyššiu flexibilitu pri ich výrobe, zlepšujú adhérenciu pacienta k liečbe a nevyžadujú sterilnú prípravu. Existuje mnoho prístupov uplatňujúcich sa pri formulácii perorálnych liekových foriem uvoľňujúcich liečivo v kolone.¹⁵ Základné metódy sú bližšie predstavené nižšie.

6.2.1. Proliečivá

Proliečivá sú neaktívne deriváty parentnej molekuly liečiva, ktoré zostávajú neporušené pri prechode žalúdkom a tenkým črevom.¹⁷ V kolone dochádza k ich enzymatickej hydrolýze, čo vedie k uvoľneniu samotnej účinnej látky. Nie je to však veľmi flexibilná metóda, pretože vznik formulácie závisí od funkčných skupín dostupných na molekule liečiva.^{15,18}

Jednou z najviac preskúmaných skupín proliečiv sú azo konjugáty (sulfasalazín, olsalazín).^{15,19} Ďalším príkladom využitia proliečiv môže byť štúdia Kim a kol.²⁰, v ktorej sa pripravilo proliečivo metronidazolu s použitím sulfátovej skupiny, ktoré zostalo neporušené v hornej časti GIT a štiepilo sa v prostredí hrubého čreva.²⁰ Okrem vyššie uvedených možností je možné proliečivá získať tiež väzbou na nosiče, ako sú napr. cyklodextrín, glukuronid, dextrans a aminokyseliny.¹⁵

6.2.2. Polymérne obaly

Jedna z možností ako dosiahnuť dodanie molekuly liečiva do kolonu spočíva vo využití polymérnych obalov.²¹ Tento obal slúži ako ochrana pred absorpciou v horných častiach GIT a rozpadá sa až v prostredí kolonu na základe endogénnych podnetov, medzi ktoré patrí pH prostredia, prítomné enzýmy a redoxný potenciál.^{21,22}

6.2.2.1. pH-senzitívne polymérne obaly

pH-senzitívne polymérne obaly využívajú princíp postupného zvyšovania pH naprieč tráviacim traktom.²¹ pH žalúdka sa pohybuje v rozmedzí 1 – 2 na lačno a po jedle sa môže zvýšiť až na hodnotu 5. V dvanástniku je pH obvykle 6 a v distálnom ileu môže dosiahnuť až hodnotu 7,4.²³ V hrubom čreve je pH medzi 5,5 – 8.²⁴ Použitie

pH-senzitívne polyméry odolávajú nižšiemu pH žalúdka a proximálnej časti tenkého čreva. Naopak v neutrálnom alebo mierne alkalickom pH terminálneho ilea (prednostne v ileocekálnnej časti) sa rozpadajú, respektíve rozpúšťajú. Tým umožnia liekovým formám, ako sú tobolky, tablety alebo pelety oneskorené uvoľnenie a zároveň chránia účinnú látku pred pôsobením žalúdočnej šťavy.²¹

Nevýhodou tohto systému môže byť vysoká variabilita uvoľňovania liečiva *in vivo* v dôsledku veľkej inter- a intra-individuálnej rozmanitosti parametrov, ako je pH, objem tekutín, čas prechodu GIT a motilita čriev. Okrem toho môže byť rozsah pH GIT výrazne zmenený stravou, ochorením, príjmom tekutín či mikrobiálnym metabolizmom, čo môže oslabiť účinnosť systémov závislých od pH.²⁵

Medzi najčastejšie používané pH-senzitívne polyméry patria syntetické kopolyméry kyseliny metakrylovej, známe aj pod názvom Eudragit® (Evonik). Príkladom takýchto polymérov môže byť Eudragit® S 100 rozpustný pri pH > 7, Eudragit® L 100 rozpustný pri pH > 6, či Eudragit® FS 30D rozpustný pri pH > 6,8.^{21,26}

Napríklad Eudragit® FS 30D bol študovaný ako polymérny obal na ochranu a zacielenie peliet meloxicamu do hrubého čreva. Zistilo sa, že uvoľňovanie liečiva *in vitro* bolo závislé od pH média. V prípade obalených peliet sa pri pH 1,2 nepozorovalo žiadne uvoľnenie meloxicamu, zatiaľ čo pri pH 7,2 nastalo rýchle uvoľnenie liečivej látky. Štúdie *in vivo* potvrdili oneskorený nástup účinku a nižší rozsah absorpcie ako u peliet bez polymérneho obalu.²⁷

V práci Akhgari a kol.²⁸ sa hodnotil vplyv meniacich pomerov Eudragitu® L 100 a Eudragitu® S 100 na uvoľňovanie indometacínu z pripravených peliet. Výsledná formulácia, ktorej obal pozostával z Eudragitu® S 100 a Eudragitu® L 100 v pomere 4 : 1 neuvolnila žiadne liečivo pri pH 1,2 (simuluje pH žalúdka) a 6,5 (simuluje pH proximálnej časti tenkého čreva). Zvýšením pH na 6,8 (simuluje pH dolnej časti tenkého čreva) sa pozorovalo pomalé uvoľňovanie liečivej látky, zatiaľ čo pri pH 7,2 (simuluje pH terminálneho ilea) sa zistilo rýchle uvoľnenie indometacínu.²⁸

6.2.2.2. Biodegradovateľné polymérne obaly

Žalúdok a tenké črevo predstavujú prostredie s veľmi nízkou mikrobiálnou aktivitou. Naopak hrubé črevo je bohato osídlené mikroorganizmami, ktoré sa zúčastňujú rozkladných procesov, čo sa využíva aj pri aplikácii liekových foriem potiahnutých biodegradovateľnými polymérnymi obalmi. Najviac preskúmanou skupinou sú azopolyméry založené na redukcii azo väzby ($-N=N-$) enzýmom azoreduktázou.²¹ Príkladom týchto látok môžu byť kopolyméry styrénu s 2-hydroxyetylmetakrylátom zosieťované divinylazobenzénom²⁹, segmentované polyuretány obsahujúce azo väzby³⁰, poly(éter-ester) azopolyméry³¹, či terpolyméry 2-hydroxyetylmetakrylátu, metylmetakrylátu a kyseliny metakrylovej zosieťované derivátom azobenzénu.³²

Ďalej sa môžu použiť polysacharidy, napr. pektín, chitosan, guarová klovatina (GK) a amyulóza.³³ Výhodou týchto látok je veľká dostupnosť v prírode, pomerne nízke náklady, nízka toxicita a vysoká znášateľnosť s biologickým prostredím. Mnohé polysacharidy navyše vykazujú tiež mukoadhezívne vlastnosti, čím predlžujú kontakt medzi povrchom sliznice a liekovým systémom. Ich potenciálne nevýhody spočívajú v širokom rozsahu molekulových hmotností a chemickej premenlivosti. Nízka rozpustnosť v organických rozpúšťadlách totiž obmedzuje možnosti ich chemickej modifikácie, zatiaľ čo hydrofilné vlastnosti a nadmerná rozpustnosť vo vode môžu spôsobiť skoré a nežiaduce uvoľnenie liečiva v hornej časti GIT.²⁵

Napríklad v práci Rabišková a kol.³⁴ boli pelety obsahujúce chitosan ako matricotvornú látku v množstve 45 % a rutín, ktorý je štiepený glukozidázami v hrubom čreve obalené vrstvou chitosanu a alginátu sodného. Pelety obalené 95 % alginátu sodného a 5 % chitosanu, po tom, čo vydržali testovanie v médiu s pH 3,0, 6,8 a 7,5 bez enzýmov, uvoľnili väčšinu svojho obsahu v médiu s pH 6,0 obsahujúcom β -glukozidázy.³⁴

6.2.2.3. Redox-senzitívne polymérne obaly

Jedným z polymérov citlivých na zmeny redoxného potenciálu indukovaného črevnou mikroflórou sú azopolyméry. V tomto prípade má hrubé črevo najnižší redoxný potenciál a azo väzby sú neenzymaticky hydrolyzované enzymaticky produkovanými flavínmi. Ich slabou stránkou sú vznikajúce vedľajšie produkty

(aromatické amíny a hydrazozlúčeniny), ktoré vykazujú toxické vlastnosti. Okrem toho ich nízka rozpustnosť vo vode vedie k spomalenej degradácii. Vhodnou alternatívou k azopolymérom môžu byť polyméry, ktoré vo svojej štruktúre obsahujú disulfidové väzby.^{21,22} Doteraz boli syntetizované rôzne disulfidové polyméry na báze cystamínu, kyseliny trimesinovej, cysteínu či kyseliny propán-1,2,3-trikarboxylovej, avšak ich potenciál ako filmotvorných látok pri formuláciách cielených do kolonu bol zatiaľ preskúmaný len obmedzene.^{22,35,36,37}

6.2.3. Polymérne matrice

Ďalšou z techník cieleného uvoľňovania liečiva do oblasti kolonu môže byť zabudovanie liečiva do polymérnej matrice. Aby sa podané liečivo uvoľnilo na požadovanom mieste, mali by byť používané polyméry schopné degradácie v hrubom čreve.²¹

6.2.3.1. pH-senzitívne polymérne matrice

Základom je pH-senzitívny polymérny matrix tvorený napríklad Eudragitom[®] S 100 alebo Eudragitom[®] L 100, ktorý môže byť navyše pokrytý vrstvou enterosolventného polyméru. Tento prístup umožňuje kontrolované uvoľňovanie liečiva pri prechode distálnym ileom a hrubým črevom a naopak minimálne uvoľnenie v proximálnom tenkom čreve. Aj preto sa zdajú byť výhodnejšie oproti samotným polymérnym obalom, ktoré môžu viesť k skoršiemu alebo k žiadnemu uvoľneniu liečiva.^{38,39}

V práci Asghar a kol.⁴⁰ bol sledovaný vplyv Eudragitu[®] L 100 alebo Eudragitu[®] S 100 na uvoľňovanie indometacínu z matric obsahujúcich xantánovú gumu. Pridanie pH-senzitívnych polymérov viedlo k veľmi nízkemu uvoľňovaniu indometacínu v kyslom až slabokyslom prostredí (pH 1,2 – 4,5). Zvýšením pH média na 7,4 sa pozorovalo vyššie a predĺžené uvoľňovanie liečivej látky (14 – 16 hodín).⁴⁰

6.2.3.2. Biodegradovateľné matrice a hydrogély

Podstatou formulácií založených na biodegradovateľných matriciach je liečivo rovnomerne dispergované v polymérnej matrici, ktorá po dosiahnutí kolonu a pôsobení bakteriálnych polysacharidáz degraduje. Pri ich príprave sa využívajú

prírodné polysacharidy, napr. pektín, GK, inulín, amyulóza, cyklodextríny a ďalšie. Pretože sú tieto polysacharidy zvyčajne rozpustné vo vode, musí sa ich rozpustnosť zredukovať zosieťovaním či hydrofóbnou derivatizáciou, aby sa predišlo pomalému uvoľňovaniu liečiva v hornej časti GIT. Dôležitý je tiež optimálny pomer hydrofilných a hydrofóbných skupín a množstvo voľných hydroxylových skupín polyméru.⁴¹

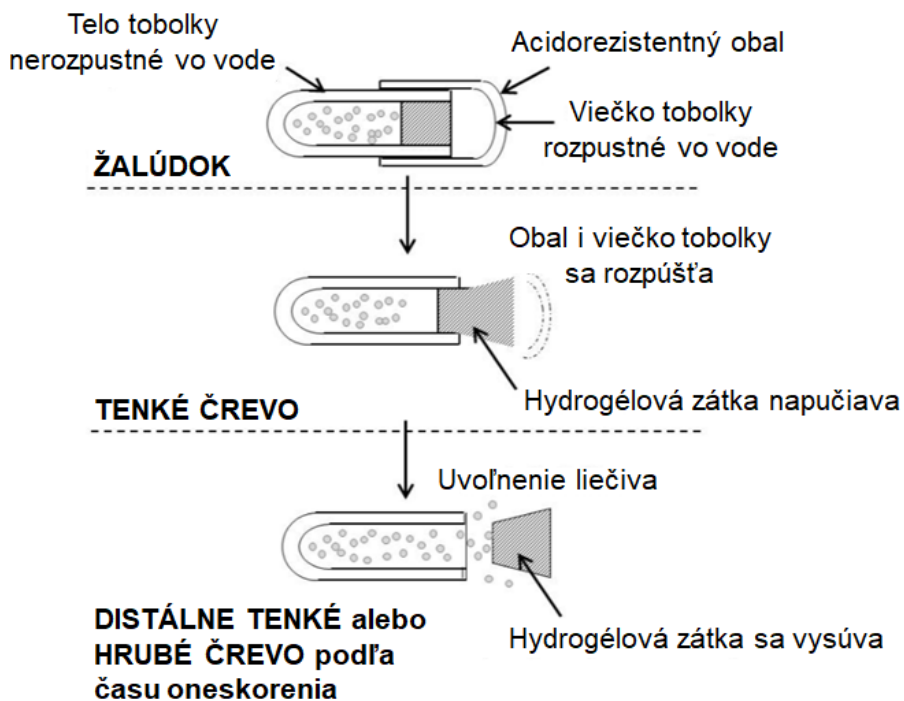
Biodegradovateľné hydrogély sa zvyčajne získavajú kovalentným zosieťovaním lineárnych hydrofilných polymérov za vzniku polymérnej siete schopnej absorbovať vodu a napučiavať. Stupeň napučovania riadi rýchlosť uvoľňovania liečivej látky.²¹ Brondsted a Kopeček⁴² pripravili radikálovou polymerizáciou niekoľko typov azo-aromatických biodegradovateľných hydrogélů tvorených N-substituovaným metakrylamidom, N-terc-butylakrylamidom a kyselinou akrylovou. Syntetizované polyméry dosiahli v hrubom čreve najvyšší stupeň napučovania (pH-dependentné), tým sprístupnili priečne väzby azoreduktázam a následne sa degradovali za uvoľnenia liečiva.⁴²

Hydrogély získané chemickou modifikáciou prírodných polymérov umožnili penetráciu enzýmov do polymérnej siete, čo viedlo k celkovej degradácii hydrogélu (namiesto degradácie povrchovej) a rýchlejšiemu uvoľneniu liečivej látky. Príkladom môže byť hydrogél inulínu získaný radikálovou polymerizáciou alebo hydrogél na báze dextránu zosieťovaný pomocou diizokyanátu.^{43,44}

6.2.4. Časovo-dependentné systémy

Časovo-dependentné systémy sú založené na princípe oneskoreného uvoľňovania liečiva, kým sa nedostane do hrubého čreva. Hoci vyprázdňovanie žalúdka je z časového hľadiska veľmi variabilné, prechod tenkým črevom je relatívne konštantný (približne 3 – 4 hodiny). Čas oneskorenia (zvyčajne 5 hodín) je v tomto prípade doba potrebná na prechod liekového systému z úst do hrubého čreva. Tieto systémy sú užitočné pri liečbe chorôb závislých od cirkadiánnych rytmov, avšak nehodia sa pri ochoreniach so zrýchlenou pasážou hrubým črevom (napr. karcinoidný syndróm, hnačka, ulcerózna kolitída).⁴⁵ Príkladom takéhoto systému môže byť formulácia zvaná Pulsincap (*Obrázok 4*), ktorá pozostáva z nerozpustného tela tobolky, rozpustného uzáveru, hydrogélovej zátky a vonkajšieho

enterosolventného obalu. Pri vstupe do tenkého čreva sa tento obal rozpustí, hydrogélová zátka začne napučiavať a po vypudení z tobolky vedie k rýchlemu uvoľneniu liečiva. Dĺžka zátky v tomto prípade určuje časové oneskorenie.^{45,46}



Obrázok 4: Schematické znázornenie systému Pulsincap.⁴⁷

V práci Abraham a kol.⁴⁸ sa pripravili formulácie Pulsincapu obsahujúce pelety metronidazolu. Ako hydrogélové zátky sa použili polyméry GK, hypromelózy (HPMC), sodnej soli karboxymetylcelulózy a alginátu sodného v množstve 20 mg, 30 mg alebo 40 mg a ako enterosolventný obal slúžil acetátftalát celulózy. Výsledky hodnotenia ukázali, že počas prvých 5 hodín (pri pH 1,2 a 7,4) nedošlo k významnému uvoľneniu metronidazolu, to nastalo až pri pH 6,8 (simulovaná tekutina hrubého čreva).⁴⁸

6.2.5. Bioadhezívne systémy

Bioadhézia je proces, pri ktorom lieková forma zostáva v kontakte s orgánmi, tkanivami alebo bunkami počas dlhšieho časového obdobia, a tým prispieva k zvýšeniu lokálnej koncentrácie, ako aj k zlepšeniu absorpcie slabo vstrebateľných aktívnych látok. Tento princíp možno využiť aj pri formuláciách cielených do

kolonu. Spojenie bioadhézie a systému špecifického pre dodanie liečiva do hrubého čreva, tak môže prispieť k efektívnejšiemu účinku a zlepšeniu orálnej biologickej dostupnosti látok, ako sú napr. proteíny a peptidy.^{2,49}

V práci Situ a kol.⁴⁹ sa pripravili mikročastice inzulínu potiahnuté vrstvou bioadhezívneho filmu škrob-glykoproteín. Vytvorené formulácie vykazovali *in vivo* lepšie zacielenie na hrubé črevo a udržiavali účinok inzulínu počas 44 – 52 hodín.⁴⁹

6.2.6. Novšie možnosti zacielenia liečiv

6.2.6.1. Časticové systémy

Časticové systémy sú perorálne liekové formy s dávkou liečiva rozdelenou v rámci niekoľkých samostatných podjednotiek (granule, pelety, mikročastice a minitablety). Pozostávajú z mnohých častíc s priemernou veľkosťou od 0,05 do 2,00 mm. V snahe podať celkovú dávku liečiva sa tieto časticové systémy lisujú do tabliet, plnia do vreciek alebo toboliek.^{50,51} Vzhľadom na ich malú veľkosť a skutočnosť, že sa skladajú z viacerých jednotiek prejde formulácia GIT ľahko a nezávisle od rýchlosti vyprázdňovania žalúdka, čo vedie k zníženiu variability prechodu GIT. Súčasne s homogénnejšou distribúciou konformácie viacerých podjednotiek pozdĺž GIT vyvolávajú menšie lokálne podráždenie, zlepšujú biologickú dostupnosť liečiva a znižujú riziko systémovej toxicity.^{51,52}

Na zlepšenie terapeutického účinku kurkumínu a cyklosporínu A boli v práci Desai a kol.⁵³ vyvinuté bioadhezívne pelety obalené vrstvou Eudragitu® S 100. Výsledky hodnotenia *in vitro* preukázali, že uvoľnenie liečiv z pripravených peliet bolo závislé od pH média. Štúdie *in vivo* odhalili, že pelety s Carbopolom® 940 a hydroxypropylcelulózou v pomere 1 : 1 poskytli vynikajúcu bioadhéziu, čím predĺžili čas zotrvania v hrubom čreve. Kombinácia kurkumínu a cyklosporínu A navyše vykazovala lepšiu účinnosť v porovnaní s jednotlivými podanými liečivami.⁵³

6.2.6.2. Samoemulgujúce systémy

Ďalším inovatívnym prístupom k cieleniu liečiv do kolonu sú samoemulgujúce systémy (z angl. self-emulsifying drug delivery systems, SEDDS) zložené zo zmesi olejov, povrchovo aktívnych látok a niekedy aj z kosurfaktantov a kosolventov. Tieto formulácie vo vodnom prostredí GIT samoemulgujú (t. j. dochádza k ich spontánnej

emulgácii) a aj vďaka črevnej peristaltike vedú k vzniku mikro- alebo nanoemulzii typu o/v. Ľahšie prechádzajú cez sliznicu, a tým zlepšujú vstrebávanie liečiv s nízkou biologickou dostupnosťou (t. j. látok s nízkou rozpustnosťou vo vode).^{52,54} Zvýšenie permeability môže súvisieť s prítomnosťou polyetylén glykolových derivátov, ktoré modulujú povrchové vlastnosti kvapiek oleja (napr. klzký povrch), alebo s použitím mukolytického činidla, ktoré oslabuje viskozitu hlienu.⁵⁵ Na zlepšenie rozpúšťania a orálnej absorpcie kurkumínu bol napr. Ramshankarom a kol.⁵⁶ sformulovaný samoemulgujúci systém, ktorý umožnil uvoľňovanie a pôsobenie kurkumínu v hrubom čreve.⁵⁶

6.2.6.3. Ligand-receptor sprostredkované systémy

Ako vynikajúci spôsob dodávania liečiva do cieľového miesta sa ukázalo použitie rôznych ligandov konjugovaných s nosičmi. Cieľová špecifickosť tohto systému je podmienená selektívnou interakciou medzi ligandom na povrchu nosiča (napr. protilátky, peptidy, kyselina listová a kyselina hyalurónová) a receptormi exprimovanými v mieste ochorenia.²³ Handali a kol.⁵⁷ napríklad zaznamenali, že lipozómy konjugované s kyselinou listovou (prirodzený ligand folátových receptorov) obsahujúce 5-fluorouracil mali vyššiu cytotoxickú aktivitu a významne redukovali objem nádoru v porovnaní s voľnou frakciou liečiva.⁵⁷

6.2.6.4. Trojrozmerná tlač

Trojrozmerné (3D) tlačiarne sa používajú na výrobu 3D objektov z digitálnej predlohy ukladaním jednej vrstvy po druhej. Stroj opakuje vrstvenie materiálov do doby, až kým nevznikne navrhnutý objekt.⁵⁸ Vďaka svojej flexibilitě v geometrii, dávke, uvoľňovaní liečiv atď. sa 3D tlač stala zaujímavým nástrojom v personalizácii farmaceutických formulácií, čomu nie je inak ani v oblasti cielenia prívodu liečiv do kolonu.^{58,59} Prostredníctvom tejto metódy je možné získať tablety s modifikovaným uvoľňovaním, ktoré odolávajú kyslému pH žalúdka a uvoľňujú liečivo počas dlhšieho časového obdobia.⁵²

Príkladom môže byť práca Goyanes a kol.⁶⁰, kde sa skombinovala technológia 3D tlače spolu s metódou extrúzie a zakončila sa aplikáciou enterosolventného obalu. Vytvorená formulácia sa testovala v dynamickom disolučnom systéme *in vitro*

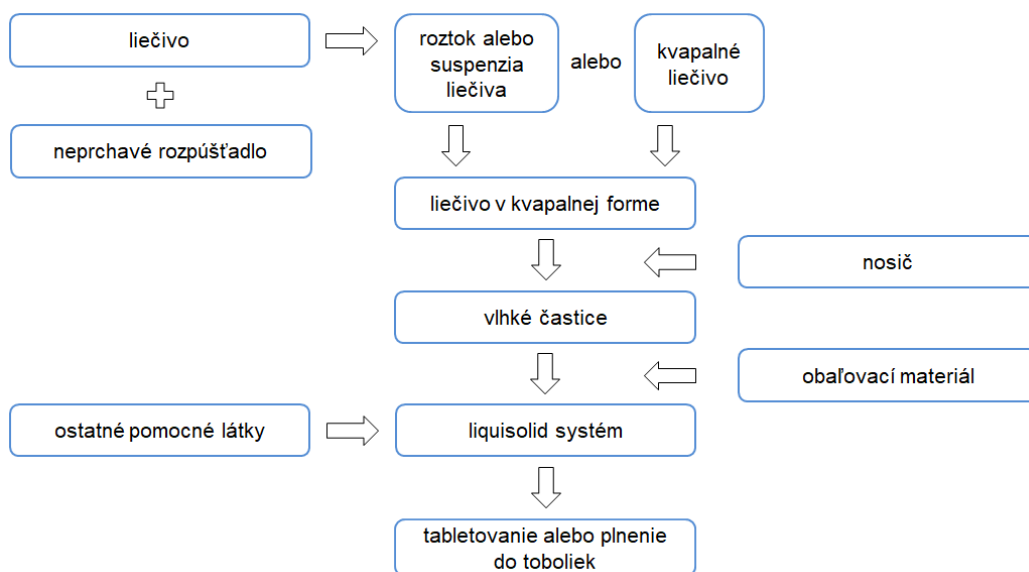
a porovnávala sa s dvomi komerčne dostupnými prípravkami Cortiment® a Entocort®. Uvoľňovanie budezonidu z prípravku Entocort® bolo v hornej časti tenkého čreva rýchle, zatiaľ čo uvoľňovanie liečiva z Cortimentu® bolo oneskorené a veľmi pomalé. Pripravená nová formulácia budezonidu začala uvoľňovanie liečiva v strede tenkého čreva a pokračovala predĺženým uvoľňovaním budezonidu v distálnom tenkom čreve a kolone, čo naznačuje jej potenciál v liečbe zápalového ochorenia čriev.⁶⁰

6.2.6.5. Liquisolid systémy (LSS)

Princíp systémov kvapalina v pevnej fáze alebo tiež liquisolid systémov (z angl. liquisolid systems, LSS) spočíva v premene liečiva v kvapalnej forme (t. j. kvapalného liečiva, roztoku alebo suspenzie liečiva) na suché, neprilnavé, voľne tečúce a stlačiteľné práškové zmesi pridaním špecifických pomocných látok, ktoré sú všeobecne označované ako nosiče a obalovacie materiály. Pretože je liečivá látka v kvapalnej fáze väčšinou rozpustená, nemusí sa počas uvoľňovania z liekovej formy rozpúšťať. Prítomnosť kvapalného liečiva na celom povrchu nosiča a lepšie zmáčanie povrchu liekovej formy vedú k zrýchlenému uvoľňovaniu a následne k zvýšenej biologickej dostupnosti liečiva, čo sa využíva i v rámci cieleného prívodu liečiv do kolonu (nižší obsah tekutín). Okrem toho boli skúmané aj ako nástroje predĺženého uvoľňovania liečiv, prostriedky minimalizujúce vplyv pH na liberáciu liečivej látky a k zlepšeniu fotostability liečiv v pevných liekových formách.⁶¹⁻⁶³

Príprava LSS pozostáva z niekoľkých krokov (*Obrázok 5*). Najprv dochádza k rozpusteniu alebo dispergácii liečiva v potrebnom množstve neprchavého rozpúšťadla. Následne sa vzniknutá disperzia postupne sorbuje na presne vypočítané množstvo nosiča. Na dosiahnutie rovnomerného rozloženia liečivej látky možno využiť nástrek disperzie liečiva vo fluidnom zariadení alebo miešaním vo vysokoobrátkových mixéroch. Miešanie sa uskutočňuje v troch základných fázach. V priebehu prvej z nich dochádza k premiešavaniu zmesi konštantnou rýchlosťou, aby sa zabezpečilo homogénne rozmiestnenie liečiva v kvapalnej fáze v rámci celého množstva práškového nosiča. V ďalšom kroku sa vytvorená zmes nechá ustáť, aby došlo k úplnej sorpcii liečiva na nosný materiál. Počas poslednej tretej fázy sú častice

nosiča s liečivom obalené vhodným obalovacím materiálom a následne sa pridávajú ďalšie pomocné látky dôležité pre vznik finálnej liekovej formy.⁶¹



Obrázok 5: Schematické znázornenie prípravy LSS.⁶²

Na rozpustenie alebo dispergáciu liečiva sa používajú organické neprchavé rozpúšťadla, ktoré sú bezpečné po perorálnom podaní a miešateľné s vodou (napr. propylénglykol – PG, kvapalné makrogóly – PEG alebo polysorbáty). Nosiče predstavujú porézne materiály s veľkým špecifickým povrchom a vysokou absorpčnou kapacitou. Používajú sa napríklad deriváty celulózy (mikrokryštalická celulóza – MCC), sacharidy (bezvodá laktóza), silikáty (magnézium aluminometasilikáty) či bezvodý hydrogénfosforečnan vápenatý. Ako obalovacie materiály možno použiť látky s veľmi jemnými časticami (0,01 – 5 μm) a vysokými absorpčnými vlastnosťami (napr. koloidný oxid kremičitý, amorfný silikagél alebo kremičitan vápenatý).^{61,62}

6.3. LSS s modifikovaným uvoľňovaním liečiva

Liquisolid (LS) technika bola pôvodne navrhnutá na zvýšenie rýchlosti uvoľňovania liečiv s obmedzenou rozpustnosťou vo vode. Avšak rozsiahle štúdie posledných rokov naznačili vysoký potenciál tejto techniky tiež v prípade formulácií s predĺženým uvoľňovaním liečiv.⁶² Veľkú výhodu v tomto prípade predstavujú LSS s kinetikou uvoľňovania nultého radu, jednoduchosť prípravy, nízka cena a vhodnosť

priemyselnej výroby.^{62,64} V porovnaní s tým jej zásadné obmedzenie spočíva v obťažnom začlenení vysokých dávok liečiv. Získanie práškoveho materiálu s dobrými tokovými vlastnosťami a stlačiteľnosťou si vyžaduje použitie vyššieho množstva kvapalného vehikula, nosiča i obalovacieho materiálu, čo následne môže zvýšiť hmotnosť tablety a spôsobiť problémy s prehĺtaním.⁶²

Predĺžené uvoľňovanie liečiv z LSS možno dosiahnuť začlenením hydrofóbných nosičov (Eudragitu® RL a RS) namiesto hydrofilných nosičov alebo retardačných činidiel, ako je napr. HPMC. Hydrofóbné materiály môžu viesť k horším zmáčacím vlastnostiam, a tým pádom k nedokonalému vstupu hydrofilných rozpúšťadiel do štruktúry LS kompaktu, čo spôsobí predĺženie uvoľňovania liečiva. Uskutočnilo sa viacero pokusov s dôrazom na optimalizáciu LS formulácií s predĺženým uvoľňovaním liečiva.^{62,64}

V jednej z prvých prác, ktorej autormi boli Javadzadeh a kol.⁶⁵ sa pripravili tablety, kde sa ako rozpúšťadlo použil polysorbát 80. Ako retardačná zložka a zároveň nosič boli použité Eudragity® RL a RS. Tablety obsahovali tiež oxid kremičitý, ktorý plnil funkciu obalovacieho materiálu. Pri hodnotení Eudragitov® RL a RS ako nosičov sa modelové liečivo propranolol HCl uvoľňovalo viac z tabliet obsahujúcich Eudragit® RL než Eudragit® RS. Je to spôsobené tým, že Eudragit® RL je hydrofilnejší, a tým prístupnejší pre prienik vody, čo má za následok rýchlejšie uvoľňovanie liečivej látky z matrice. Aby sa dosiahlo lepších retardačných vlastností, využila sa metóda vlhkej granulácie. S použitím vlhkej granulácie došlo k zmene výsledkov a pomalšie uvoľňovanie propranololu HCl bolo pozorované u LS tabliet obsahujúcich Eudragit® RL. Hlavnú úlohu v dosiahnutí pomalšieho uvoľňovania tu však zohráva polysorbát 80, ktorý pôsobí ako tzv. plastifikátor. Plastifikátory majú schopnosť znížiť teplotu sklovitého prechodu (T_g) polyméru a ovplyvniť väzby medzi polymérnymi reťazcami, čím zvyšujú flexibilitu polyméru. Pri teplote nad T_g dochádza k lepšej koalescencii polymérnych častíc, vytvára sa jemná sieť a matrica s nízkou pórovitosťou, čo vedie k nižšej difúzii liečiva. Práve zníženie teploty sklovitého prechodu môže mať za následok predĺžené uvoľňovanie liečiva.⁶⁵

V práci Gonjari a kol.⁶⁶, zaoberajúcej sa spracovaním tramadolu HCl do podoby LSS s predĺženým uvoľňovaním, sa pripravili tablety, ktoré pozostávali z PG (rozpúšťadlo), Avicelu® PH 102 (nosič), Aerosilu® 200 (obalovací materiál)

a HPMC (retardačná zložka). Výsledky hodnotenia ukázali, že zvýšenie koncentrácie liečiva v disperzii viedlo k pomalšiemu uvoľňovaniu liečivej látky. Zistilo sa tiež, že vyššie množstvo Aerosilu® 200 a HPMC v tabletách spomaľuje uvoľňovanie tramadolu HCl. Všetky pripravené LS formulácie vykazovali lepší retardačný efekt než komerčne dostupné tablety.⁶⁶

V ďalšej štúdii skúmali Nokhodchi a kol.⁶⁷ vplyv typu rozpúšťadla a rôznej koncentrácie HPMC (0 – 15 %; w/w) na uvoľňovanie liečiva z LS tabliet. Na dispergáciu alebo rozpustenie teofylínu sa použili rozličné kvapalné vehikulá – polysorbát 80 a 20, PG, PEG 600 a 200. Ako nosiče sa použili Eudragit® RL alebo RS a ako obalovací materiál slúžil oxid kremičitý. Hodnotenie vytvorených LS tabliet ukázalo, že typ rozpúšťadla mal významný vplyv na rýchlosť uvoľňovania liečiva, a že jeho zmenou je možné dosiahnuť požadovaný profil uvoľňovania. Pri začlenení HPMC do LS formulácií sa pozorovalo pomalšie uvoľňovanie teofylínu než u klasických priamo lisovaných tabliet. Vyššie množstvo HPMC viedlo k zníženiu rýchlosti uvoľňovania liečivej látky, napr. LS kompakty obsahujúce 6, 10 a 15 % HPMC (w/w) po 5 hodinách uvoľnili 39,5, 31,3 a 26,9 % liečiva. Ďalšie skúšanie ukázalo, že HPMC má pravdepodobne rovnaký vplyv na uvoľňovanie liečiva z LS kompaktoov bez ohľadu na použité rozpúšťadlo.⁶⁷

V práci Elkordy a kol.⁶⁸ sa taktiež sledoval vplyv rôznych kvapalných vehikul na uvoľňovanie grizeofulvínu z vytvorených LS tabliet. Pri príprave tabliet so zrýchleným uvoľňovaním liečiva boli použité tri neiónové povrchovo aktívne látky (Cremophor® EL, Synperonic® PE/L61 a Capryol™ 90), zatiaľ čo na dosiahnutie predĺženého uvoľňovania grizeofulvínu bol použitý Kollicoat® SR 30D. Hodnotenie pripravených formulácií ukázalo, že Cremophor® EL poskytol najlepšie zrýchlenie uvoľňovania liečivej látky. Vysvetlením môže byť vyššia rozpustnosť grizeofulvínu v tomto rozpúšťadle, čo zvýšilo množstvo liečiva dostupného vo forme molekulárnej disperzie. Výsledky tiež ukázali, že rýchlosť disolúcie bola ovplyvnená zmenou pomeru nosiča (MCC) k obalovaciemu materiálu (koloidný oxid kremičitý) a koncentráciou liečiva. Nižšia koncentrácia liečivej látky a vyšší pomer nosiča k obalovaciemu materiálu viedli k lepšiemu uvoľňovaniu liečiva. V prípade formulácií obsahujúcich Kollicoat® SR 30D sa zistilo pomalšie uvoľňovanie liečiva oproti konvenčným priamo lisovaným tabletám. Po 5 minútach sa z LS tabliet

uvoľnilo 0,94 % a 0,44 % grizeofulvínu, zatiaľ čo z bežných tabliet to bolo 3,42 %. Výsledky štúdie tak naznačujú, že neprchavé kvapalné vehikulum Kollicoat® SR 30D má potenciál udržať uvoľňovanie liečivej látky dokonca i v prítomnosti hydrofilného nosiča.⁶⁸

V inej práci sa Khanfar a kol.⁶⁹ zaoberali prípravou tabliet s predĺženým uvoľňovaním liečiva venlafaxínu HCl a určením faktorov, ktoré toto predĺžené uvoľňovanie vyvolávajú a ovplyvňujú. Hodnotenie pripravených LS tabliet ukázalo, že typ použitého kvapalného vehikula sa významným spôsobom podieľa na uvoľňovaní liečiva z LSS. Najlepší retardačný účinok liečiva vykazoval polysorbát 80, čo mohlo byť dané nižšou rozpustnosťou venlafaxínu HCl v tomto rozpúšťadle. Taktiež sa zistilo, že LS tablety s obsahom Avicelu® PH 101 ako nosiča a HPMC ako retardačného činidla dokázali predĺžiť uvoľňovanie liečivej látky až na 12 hodín, zatiaľ čo LS tablety s obsahom Eudragitu® RS ako nosiča iba na 9 hodín. Tento rozdiel vznikol v dôsledku prítomnej HPMC, ktorá po kontakte s médiom napučovala a vytvorila gélovú vrstvu na povrchu matrice, čím spomalila uvoľňovanie venlafaxínu HCl. Ďalším dôležitým parametrom rýchlosti uvoľňovania liečivej látky z LS tabliet bola koncentrácia liečiva. U oboch nosičov sa preukázalo, že LS formulácie obsahujúce 30 % venlafaxínu HCl vykazovali pomalšie uvoľňovanie než formulácie so 40 % a 50 % liečiva. Pri štúdiu vplyvu pomeru nosiča a obalovacieho materiálu sa ukázalo, že väčšie množstvo nosiča a menšie množstvo obalovacieho materiálu vedie k zníženému uvoľňovaniu liečiva z LS formulácií. Spomalenie môže byť zapríčinené pomalou difúziou kvapalného liečiva cez veľké množstvo vysoko porézneho nosného materiálu a tiež v dôsledku napučievania HPMC (tvorba gélovej vrstvy).⁶⁹

V práci Adibkia a kol.⁷⁰ sa hodnotilo pôsobenie rozpúšťadla na profil uvoľňovania diltiazemu HCl z LS formulácií. Zistilo sa, že druh neprchavého rozpúšťadla a jeho fyzikálno-chemické vlastnosti (napr. tvorba micel, dielektrická konštanta a hydrofilno-lipofilná rovnováha), ako aj rozpustnosť liečiva v danom rozpúšťadle zohrávajú dôležité postavenie pri uvoľňovaní liečiva z LS kompakto. Pri štúdiu rozpustnosti diltiazemu HCl sa použili rôzne neprchavé rozpúšťadla (PEG 200 a 400, glycerol, polysorbát 20 a 80 a PG), z ktorých najnižšiu schopnosť rozpúšťať diltiazem HCl vykazoval polysorbát 20. Naopak najvyššia rozpustnosť

diltiazemu HCl bola zistená v polysorbáte 80, čo zároveň viedlo k najnižšej rýchlosti uvoľňovania liečiva z LS tabliet. Pripisuje sa to vyššej schopnosti rozpúšťadla zadržiavať molekuly liečiva, čo následne znižuje uvoľňovanie liečivej látky v disolučnom médiu. Okrem toho sú polysorbát 20 a 80 povrchovo aktívne látky schopné vytvárať micely, pričom zachytením liečiva vo vnútri vzniknutých miciel by sa mohla znížiť rýchlosť uvoľňovania liečivej látky do média.⁷⁰

Snahou štúdie Hussain a kol.⁷¹ bolo vyvinúť formuláciu s predĺženým uvoľňovaním aceklofenaku pomocou LS techniky. Na dispergáciu liečiva sa zvolilo kvapalné vehikulum s najnižšou rozpustnosťou aceklofenaku (glycerol). Eudragit® L 100 alebo Eudragit® RS 100 sa použili samostatne ako nosné materiály a Aerosil® 200 slúžil ako obalovací materiál. Štúdium uvoľňovania liečiva *in vitro* ukázalo, že zvýšenie množstva nosného materiálu viedlo k pomalšiemu uvoľňovaniu aceklofenaku. Taktiež sa zistilo, že Eudragit® L 100 poskytol viacej predĺžené uvoľňovanie liečiva v porovnaní s Eudragitom® RS 100. To je pravdepodobne spôsobené schopnosťou Eudragit® L 100 obaľovať častice liečiva účinnejšie, a tým znižovať priamy kontakt liečivej látky s disolučným médiom, čo následne spomaľuje uvoľňovanie liečiva.⁷¹

Cieľom práce Ali a kol.⁷² bolo modifikovať (t. j. zvýšiť a udržať) uvoľňovanie klopidogrelu pomocou LS techniky a objasniť vplyv materiálu nosiča na rýchlosť uvoľňovania liečiva. Pripravilo sa niekoľko LS formulácií s konštantným množstvom rozpúšťadla a rôznou koncentráciou (40, 30 a 20 %; w/w) nosného materiálu (MCC, škrob, polyvinylpyrolidón – PVP a HPMC). Výsledky štúdie ukázali, že uvoľňovanie liečiva z LS tabliet bolo riadené povahou a množstvom materiálu nosiča. Najrýchlejšie uvoľňovanie klopidogrelu bolo pozorované u MCC a škrobu. Tieto polyméry lepšie absorbovali vodu, a tým zvyšovali interakciu liečivo-voda. Naopak polyméry PVP a HPMC tvorili pri styku s disolučným médiom gél, čím viedli k predĺženému uvoľňovaniu liečivej látky. Ďalším skúmaním sa tiež zistilo, že zvyšujúca sa koncentrácia PVP aj HPMC predlžovala uvoľňovanie liečiva.⁷²

Elkhodairy a kol.⁶³ sa vo svojej práci zamerali na formuláciu LS tabliet špecifických pre dodávanie indometacínu do hrubého čreva. Príprava LS tabliet spočívala vo využití biodegradovateľných polysacharidov (GK, pektín a chitosan) a časovo závislých polymérov (Eudragit® RL 100). Výsledkom bolo, že pridaný

Eudragit® RL 100 zlepšil tokové vlastnosti a stlačiteľnosť všetkých LS formulácií. Pripravené tablety sa vyznačovali zanedbateľným uvoľňovaním liečiva v počiatkovej fáze (t. j. počas 2 hodín pri pH 1,2), po ktorej nasledovalo riadené uvoľňovanie v priebehu 24 hodín pri pH 6,8. Vysvetlením získaných výsledkov môže byť nízka rozpustnosť indometacínu (pKa 4,5) v kyslom prostredí a znížený stupeň napučievania a permeability Eudragitu® RL 100 v tomto médiu. Ďalej sa zistilo, že LSS zrýchľovali uvoľňovanie liečiva v porovnaní s tabletami získanými priamym lisovaním. Napríklad LS tablety na báze pektínu uvoľnili 42,67 % obsahu liečiva po 4 hodinách, zatiaľ čo bežné tablety uvoľnili len 14,32 %, čo je spôsobené prítomnosťou liečiva v LS tabletách už v rozpustenom stave.⁶³

V ďalšej zo štúdií sa Kumar a kol.⁷³ zaoberali prípravou LS tabliet s obsahom kurkumínu špecifických v liečbe rakoviny hrubého čreva. Štúdie *in vitro* ukázali zrýchlené uvoľňovanie kurkumínu z neobalených LS tabliet oproti priamo lisovaným tabletám v simulovanej žalúdočnej aj črevnej tekutine. Napríklad v simulovanej žalúdočnej tekutine sa z LS tabliet uvoľnilo po 90 minútach viac ako 70 % kurkumínu, zatiaľ čo z klasických tabliet to bolo maximálne 48,63 %. Ďalej sa hodnotili LS tablety pokryté vrstvou zmesi Eudragitu® L 100 a GK v rôznych pomeroch (10 : 30, 10 : 40, 10 : 50 a 10 : 60). Neobalená LS formulácia kurkumínu uvoľnila viac ako 90 % liečiva počas 1 hodiny v kyslom prostredí, zatiaľ čo formulácie zamerané na hrubé črevo minimalizovali uvoľňovanie liečivej látky v simulovaných podmienkach žalúdka a tenkého čreva.⁷³

7. Experimentálna časť

7.1. Použité suroviny

- Teofylín
Výrobca: Dr. Kulich Pharma, s.r.o., Česká republika
Šarža: TAM/13053R
- Neusilin® US2
Výrobca: Fuji Chemicals Industry Co., Ltd., Japonsko
Šarža: 610030
- Methocel™ K15M Premium CR Grade Hydroxypropylmethylcelulosa
Výrobca: Colorcon, Lmt., Veľká Británia
Šarža: DT366117/000001
- Chlorid sodný
Výrobca: Dr. Kulich Pharma, s.r.o., Česká republika
Šarža: CRS100310
- Kyselina chlorovodíková 35 % p.a.
Výrobca: PENTA s.r.o., Česká republika
Šarža: 1804150413
- Prášok na prípravu biorelevantného média FaSSIF/FeSSIF/FaSSGF
Výrobca: Biorelevant.com, Veľká Británia
Šarža: FFF-0221-E
- Hydroxid sodný
Výrobca: PENTA s.r.o., Česká republika
Šarža: 2212201217
- Dihydrogénfosforečnan sodný dihydrát
Výrobca: Dr. Kulich Pharma, s.r.o., Česká republika
Šarža: B28996B
- Kyselina maleínová
Výrobca: Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Nemecko
Šarža: SLCC7827

- Trometamol
Výrobca: Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Nemecko
Šarža: SLCD9753
- Prášok na prípravu biorelevantného média FaSSCoF
Výrobca: Biorelevant.com, Veľká Británia
Šarža: COFAS-0620-A
- Mucín (hlien z prasacieho žalúdka, typ III, viazaná kyselina sialová 0,5 – 1,5 %, čiastočne vyčistený prášok)
Výrobca: Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Nemecko
Šarža: 111M7000V
- Čistená voda

7.2. Použité prístroje

- Laboratórne váhy
Typ: KERN 440-35N
Výrobca: KERN & SOHN GmbH, Nemecko
- Miešacie zariadenie
Typ: Turbula® T2F
Výrobca: Willy A. Bachhofen AG, Švajčiarsko
- Analytické váhy
Typ: HR-20
Výrobca: HELAGO, s.r.o., Česká republika
- Matrica a razidlá
Typ: Adamus HT
Výrobca: Machine Factory Group, Poľsko
- Zariadenie na lisovanie tabliet
Typ: Zwick/Roell T1-FRO 50
Výrobca: Zwick GmbH, Nemecko
- Prístroj na hodnotenie pevnosti tabliet
Typ: Tablet Tester 8M
Výrobca: Dr. Schleuniger® Pharmatron AG, Švajčiarsko

- Magnetická miešačka
Typ: MR 3001
Výrobca: Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, Nemecko
- pH-meter
Typ: HI 221
Výrobca: Hanna Instruments, USA
- Vodný kúpeľ
Typ: Grant JB series
Výrobca: Grant Instruments, Ltd., Veľká Británia
- Zariadenie na meranie adhézie
Upravené rovnoramenné váhy

7.3. Použité metódy

7.3.1. Príprava tabletovín

Celkovo sa pripravilo 5 tabletovacích zmesí, ktorých označenie a zloženie je uvedené v *Tabuľke 1*. Tabletovacie zmesi sa pripravili zmiešaním Neusilinu® US2 a/alebo hypromelózy K15M (HPMC K15M) a modelového liečiva teofylínu pomocou trojosového homogénizátora Turbula® T2F. Pred samotnou homogénizáciou sa všetky suroviny presievali cez sito s veľkosťou ok 400 µm, čím sa dosiahlo rozbitie všetkých zhlukov. Miešanie prebiehalo po dobu 10 minút rýchlosťou 34 otáčok za minútu.

Tabuľka 1: Zloženie práškových zmesí.

Vzorka	HPMC K15M [g]	Neusilin® US2 [g]	Teofylín [g]
100 : 0	10,00	-	10,00
85,4 : 14,6	8,54	1,46	10,00
50 : 50	5,00	5,00	10,00
14,6 : 85,4	1,46	8,54	10,00
0 : 100	-	10,00	10,00

7.3.2. Príprava tabliet

Z každej tabletovacej zmesi sa lisovalo 60 tabliet s priemerom 7 mm. Pred lisovaním sa na analytických váhach navážilo $200,0 \pm 1,0$ mg tabletoviny, ktorá sa následne kvantitatívne premiestnila do lisovacieho prípravku Adamus HT určeného k lisovaniu tabliet. K samotnému lisovaniu sa využil prístroj Zwick/Roell T1-FRO 50 spolu so softvérom TestXpert III- V1.2. Lisovacia sila sa u každej zmesi nastavila experimentálne tak, aby sa získali tablety s pevnosťou v rozmedzí 60 – 80 N (*Tabuľka 2*). Pred ďalším hodnotením sa tablety uchovávali v uzatvárateľných polyetylénových vreckách po dobu minimálne 24 hodín.

Tabuľka 2: Hodnoty použitých lisovacích síl.

Vzorka	Lisovacia sila [kN]
100 : 0	1,75
85,4 : 14,6	2,25
50 : 50	2,5
14,6 : 85,4	1,75
0 : 100	2

7.3.3. Príprava biorelevantného média simulujúceho prostredie žalúdka nalačno

Nasledujúci postup sa vzťahuje k príprave 1 litra biorelevantného disolučného média simulujúceho stav žalúdka nalačno (z angl. Fasted State Simulated Gastric Fluid, FaSSGF), ktorého zloženie a základné charakteristiky sú uvedené v *Tabuľke 3*. V prvej fáze sa na analytických váhach navážilo 1,999 g chloridu sodného a kvantitatívne previedlo do kadičky s približne 900 ml čistenej vody. Po úplnom rozpustení chloridu sodného sa pH vzniknutého roztoku upravilo na hodnotu 1,6 pomocou 1 M roztoku kyseliny chlorovodíkovej. Následne sa objem tlmivého roztoku v odmernej banke doplnil čistenou vodou do 1 000 ml. V ďalšom kroku sa navážené množstvo práškovej zmesi FaSSGF (0,0597 g) kvantitatívne prenieslo do odmernej banky o objeme 1 000 ml a doplnilo po rysku pripraveným tlmivým roztokom. Banka sa následne umiestnila na magnetickú miešačku a ponechala sa tam až do kompletného rozpustenia FaSSGF prášku. Pripravené biorelevantné médium FaSSGF sa uchovávalo pri izbovej teplote a používalo sa maximálne po dobu 48 hodín.

Tabuľka 3: Zloženie biorelevantného média FaSSGF.⁷⁴

Zloženie	FaSSGF
Pepsín [mg/ml]	0,1
Taurocholát sodný [μ M]	80,0
Lecitín [μ M]	20,0
Chlorid sodný [mM]	34,2
Vlastnosti	
Osmolalita [mOsm/kg]	120,7 \pm 2,5
pH	1,6

7.3.4. Príprava biorelevantného média simulujúceho prostredie tenkého čreva nalačno

Biorelevantné disolučné médium simulujúce tekutiny tenkého čreva nalačno (z angl. Fasted State Simulated Intestinal Fluid, FaSSIF) v množstve 1 liter sa pripravilo navážením 0,420 g hydroxidu sodného, 4,470 g dihydrogénfosforečnanu sodného dihydrátu a 6,186 g chloridu sodného. Všetky tieto zložky sa rozpustili v približne 900 ml čistenej vody. Následne sa pH roztoku upravilo na hodnotu 6,5 pomocou 1 M hydroxidu sodného alebo 1 M kyseliny chlorovodíkovej. Tlmivý roztok sa doplnil čistenou vodou do celkového objemu 1 000 ml a previedol sa do 1 000 ml odmernej banky obsahujúcej 2,240 g prášku FaSSIF. Pripravené médium sa pred ďalším použitím nechalo odstáť aspoň 2 hodiny, čím došlo k vzniku opalescencie spôsobenej tvorbou micel. Biorelevantné médium FaSSIF, ktorého zloženie a základné charakteristiky sú uvedené v *Tabuľke 4* sa po príprave uchovávalo maximálne 48 hodín pri izbovej teplote.

Tabuľka 4: Zloženie biorelevantného média FaSSIF.⁷⁴

Zloženie	FaSSIF
Taurocholát sodný [mM]	3,0
Lecitín [mM]	0,2
Hydroxid sodný [mM]	34,8
Chlorid sodný [mM]	68,6
Kyselina maleínová [mM]	19,12
Vlastnosti	
Osmolalita [mOsm/kg]	180,0 ± 10,0
pH	6,5

7.3.5. Príprava biorelevantného média simulujúceho prostredie hrubého čreva nalačno

Jeden liter biorelevantného disolučného média simulujúceho tekutiny hrubého čreva nalačno (z angl. Fasted State Simulated Colonic Fluid, FaSSCoF) sa pripravil rozpustením 4,800 g hydroxidu sodného, 8,800 g kyseliny maleínovej a 5,500 g trometamolu v približne 900 ml čistenej vody. pH roztoku sa upravilo 1 M hydroxidom sodným alebo 1 M kyselinou chlorovodíkovou na hodnotu 7,8 a doplnilo čistenou vodou do 1 000 ml. Pripravený tlmivý roztok sa následne pridal k 0,340 g prášku FaSSCoF v odmernej banke o objeme 1 000 ml. Vzniknuté médium, ktorého zloženie a základné vlastnosti sú zhrnuté v *Tabuľke 5* sa pred ďalším použitím nechalo 1 hodinu odstáť a uchovávalo sa po dobu maximálne 48 hodín pri izbovej teplote.

Tabuľka 5: Zloženie biorelevantného média FaSSCoF.⁷⁵

Zloženie	FaSSCoF
Cholát sodný [mM]	0,15
Lecitín [mM]	0,3
Oleát sodný [mM]	0,1
Kyselina maleínová [mM]	75,8
Trometamol [mM]	45,4
Hydroxid sodný [mM]	120
Vlastnosti	
Osmolalita [mOsm/kg]	217
pH	7,8

7.3.6. Stanovenie indexu napučievania

Miera napučania tabliet sa stanovila u šiestich tabliet z každej vzorky v prostredí troch biorelevantných médií. Tablety sa jednotlivo vložili do vopred zvážených disolučných košíčkov. Každý košíček s tabletou sa zvážil a následne umiestnil do kadičky obsahujúcej $75,0 \pm 0,5$ g biorelevantného média (FaSSGF, FaSSIF alebo FaSSCoF) vytemperovaného na $37 \pm 0,5$ °C vo vodnom kúpeli Grant JB series. Kadičky sa v priebehu experimentu prekryli hliníkovou fóliou, aby nedochádzalo k odparovaniu média. V stanovených časových intervaloch (15, 30, 60, 120, 180, 240, 360, 480 minút) sa košíčky s tabletami vybrali z kadičiek, opatrne osušili absorpčným papierom a zvážili na analytických váhach. Percentuálna zmena hmotnosti tabliet sa vypočítala ako index napučievania (z angl. Swelling Index, SI) pomocou *Rovnice 1*.

$$SI = \frac{w_t - w_0}{w_0} \cdot 100 \quad (1)$$

SI – index napučievania [%]

w_0 – hmotnosť suchej tablety v čase 0 [g]

w_t – hmotnosť tablety v čase t [g]

7.3.7. Testovanie mukoadhézie

K testovaniu mukoadhézie sa použili upravené rovnoramenné váhy (Obrázok 6). Z každej vzorky sa v prítomnosti jednotlivých biorelevantných médií hodnotilo 5 tabliet. Testovaná tableta sa pripevnila pomocou obojstrannej lepiacej pásky na špeciálny závesný nástavec z nerezovej ocele, ktorý sa následne umiestnil na pravé rameno rovnoramenných váh. Ramená rovnoramenných váh sa zdvihli a vyrovnali do vodorovnej polohy pridaním závaží na miskú váh, ktoré zodpovedalo hmotnosti nalepenej tablety. Následne sa 50 μ l 2 % disperzie mucínu v biorelevantnom médiu FaSSIF, FaSSGF alebo FaSSCoF nanieslo na základňu, ktorá sa vopred nastavila prostredníctvom závitú do výšky kontaktu s tabletou upevnenou na závesnom nástavci. Základňa sa opatrne vložila pod nástavec s tabletou, tak aby došlo ku kontaktu s disperziou mucínu bez vytvorenia tlaku na tabletu. Po 5 minútach sa na rameno s miskou pridávalo po malých prírastkoch závažia až do doby, kým nedošlo k odtrhnutiu tablety od základne pokrytej vrstvou mucínu. Hmotnosť potrebná k odtrhnutiu tablety od mucínovej vrstvy sa zaznamenala a použila na výpočet mukoadhezívnej sily podľa Rovnice 2.

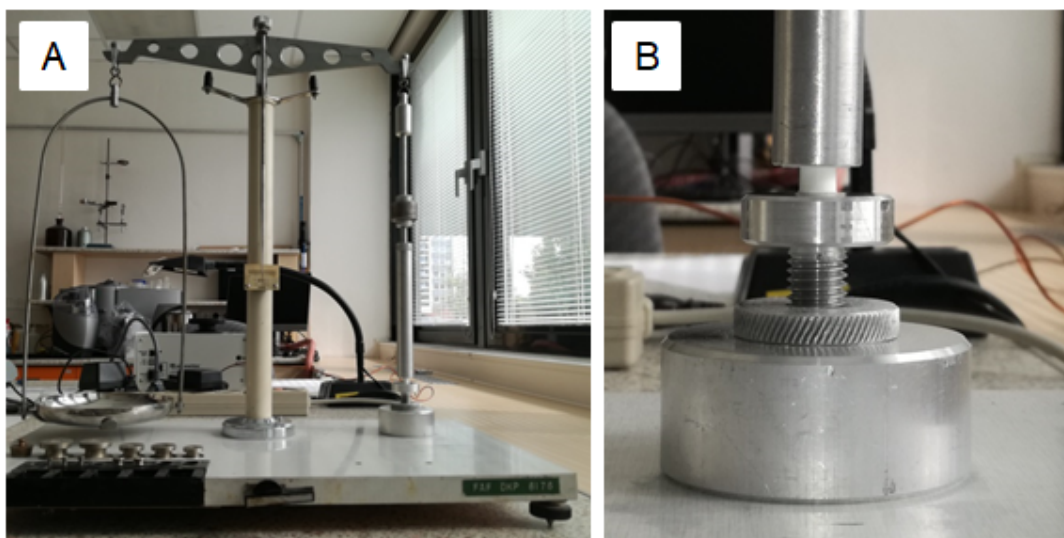
$$F = \frac{m \cdot g}{A} \quad (2)$$

F – mukoadhezívna sila [mN/mm²]

m – hmotnosť pridaného závažia, ktorá spôsobila odtrhnutie tablety [g]

g – gravitačné zrýchlenie [m/s²]

A – povrch tablety [mm²]



Obrázok 6: A) Upravené rovníramenné váhy, B) detail kontaktu nástavca s tabletou so základňou pokrytou disperziou mucínu.

7.3.8. Štatistické vyhodnotenie

Na vyhodnotenie štatistických rozdielov (t. j. jednosmerná ANOVA nasledovaná post hoc testovaním na základe Tukeyho viacnásobného porovnania) sa použil softvér GraphPad Prism 8.2.0 (GraphPad software, San Diego, USA). Výsledky boli považované za významné, ak hladina významnosti bola nižšia ako 0,05 ($p < 0,05$).

8. Výsledky a diskusia

Cielený prívod liečiva do kolonu predstavuje pri príprave perorálnych pevných liekových foriem jednu z formulačných výziev, pretože väčšina používaných systémov so sebou prináša isté nevýhody. Obzvlášť problematické je potom zacielenie zlé rozpustných liečivých látok (napr. cyklosporínu A), ktoré v lokálnej terapii ochorení hrubého čreva zastávajú významnú úlohu. Príprava LSS v kombinácii s mukoadhezívnymi matricami, ktoré sú schopné predĺžiť dobu zotrvania celého systému na určitom mieste GIT^{15,52,76}, predstavujú jednu zo sľubných techník zacielenia obmedzene rozpustných liečiv nielen do oblasti hrubého čreva. LSS sú však založené na adsorpcii/absorpcii liečiva v kvapalnej podobe na vysoko porézne nosiče⁶¹, ktoré môžu s ohľadom na vysokú absorpčnú kapacitu ovplyvniť správanie mukoadhezívnych polymérov. Z tohto dôvodu sa v rámci experimentálnej časti predkladanej diplomovej práce skúmal vplyv prídavku mezoporézneho nosiča Neusilinu® US2 na mukoadhezívne vlastnosti a rýchlosť napučievania tabliet, ktorá ako ukázali predchádzajúce práce Karolíny Johnovej⁷⁷ a Miroslava Janouška⁷⁸, ovplyvňuje rýchlosť a priebeh uvoľňovania liečiva z matrice.

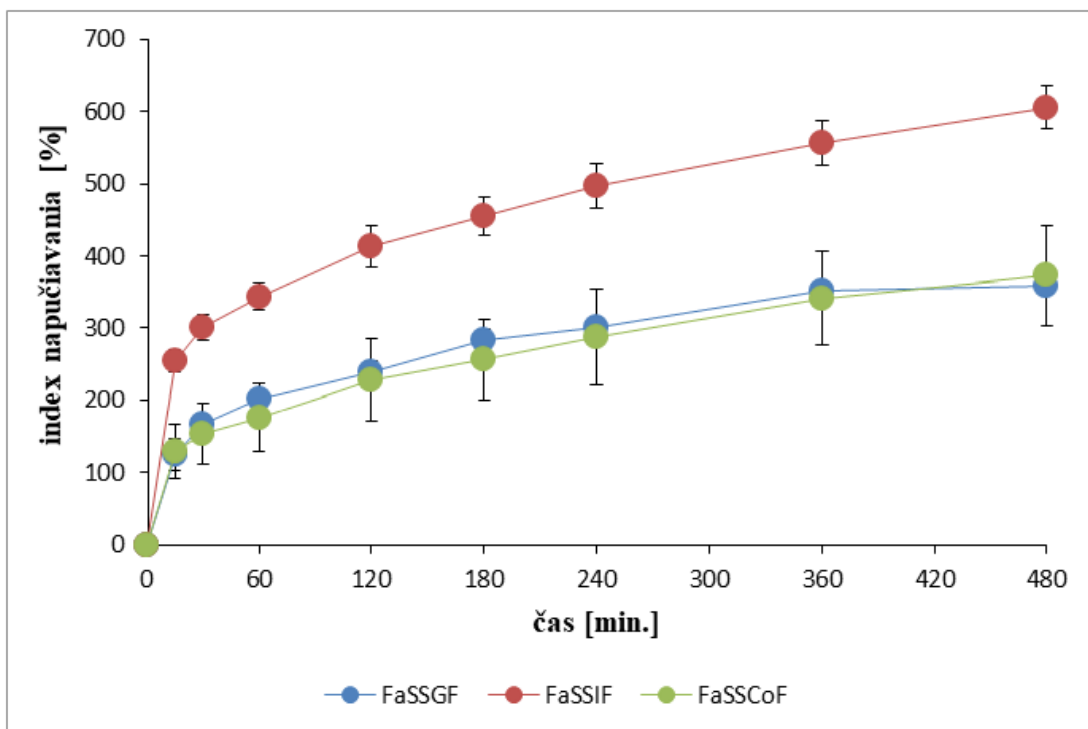
Za týmto účelom sa z Neusilinu® US2, hypromelózy K15M (HPMC K15M) alebo ich zmesí a modelového liečiva teofylínu (*Tabuľka 1*) pripravili tablety, ktoré sa následne podrobili hodnoteniu indexu napučievania a testovaniu mukoadhezívnej sily. Hodnotenie matricových tabliet prebiehalo v prostredí troch biorelevantných disolučných médií (FaSSGF, FaSSIF a FaSSCoF) tak, aby sa získali komplexné informácie o chovaní formulácie v priebehu prechodu celým GIT.

8.1. Hodnotenie napučievania tabliet

Po vystavení hydrofilných matricových tabliet vodnému prostrediu (gastrointestinálnym tekutinám) dochádza najskôr k zvlhčeniu ich povrchu, hydratácii polyméru a následnému napučievaniu. Tým sa na povrchu formulácie vytvára gélová vrstva, ktorá plní funkciu bariéry riadiacej uvoľňovanie liečivej látky. Rýchlosť napučania polyméru a hrúbka gélovej vrstvy tak zohrávajú dôležitú úlohu pri riadenom uvoľňovaní liečiv z hydrofilných matric.⁷⁹ Prídavok Neusilinu® US2, ktorý netvorí vo vodnom prostredí gél, ale vyznačuje sa vysokou absorpčnou kapacitou⁸⁰, môže viesť k určitému poklesu napučania polyméru.⁸¹

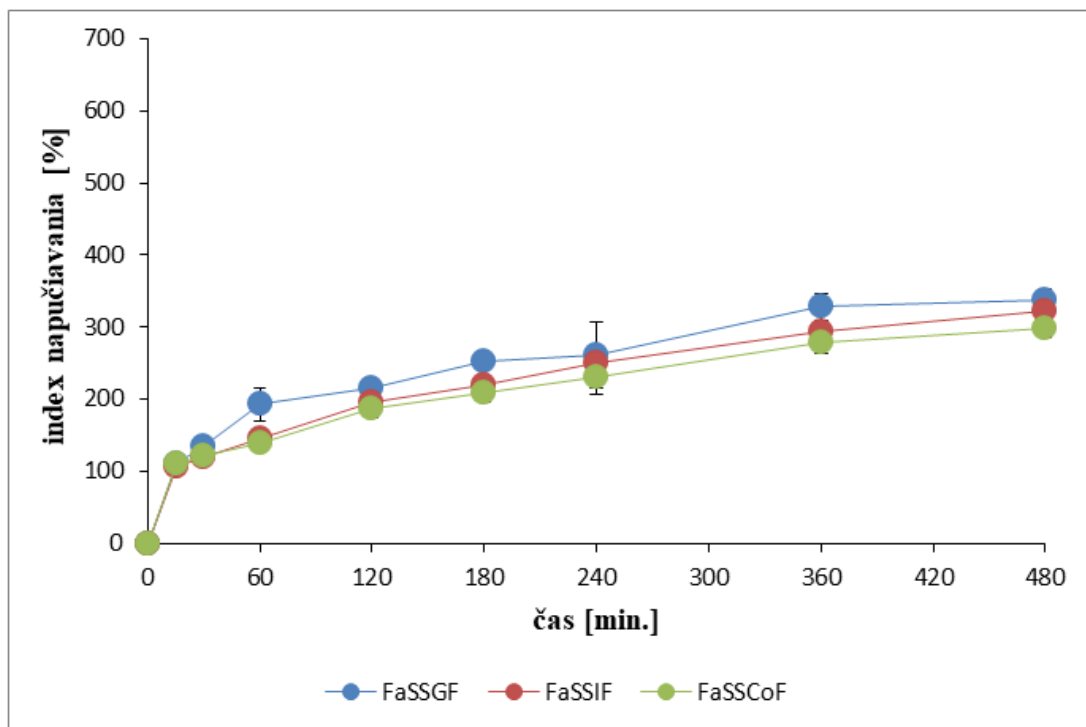
Preto bolo jedným z cieľov tejto práce stanoviť index napučovania, čiže mieru napučania polyméru HPMC K15M v kombinácii s mezoporéznym nosičom Neusilinom® US2 v prostredí žalúdka, tenkého čreva i kolonu.

Ako možno vidieť na *Obrázku 7*, tablety zložené čisto z HPMC K15M (100 : 0) vykazovali rýchly nárast hmotnosti po prvých 15 minútach skúšky, čo je spojené s iniciálnou absorpciou vody. Prvotné napučanie vo FaSSGF a FaSSCoF bolo porovnateľné a pohybovalo sa okolo 127 %, zatiaľ čo najvyšší nárast hmotnosti sa zaznamenal v prostredí média FaSSIF (index napučovania $254,34 \pm 15,08$ % po 15 minútach). Tento rozdiel v miere prvotného napučania je spôsobený vplyvom pH média, ako ukázala i práca Tritt-Goc a kol.⁸², kde sa zistilo, že HPMC K15M hydratuje rýchlejšie v roztoku s pH 6 než pri pH 2.⁸² Zo zistených výsledkov je potom možné predpokladať, že ďalšie zvýšenie pH nad 7 vedie k opätovnému poklesu indexu napučovania. Následná hydratácia a napučovanie tablety prebiehali po prvotnej relatívne rýchlej hydratácii tablety vo všetkých troch médiách konštantne a nebolo u nich počas 8 hodín skúšky pozorované dosiahnutie maximálneho napučania nasledovaného postupnou eróziou matrice. Odborná literatúra⁸³ uvádza, že po 7 hodinách dochádza k dosiahnutiu maximálneho stupňa napučania, ktoré sa udržiava až po dobu 16 hodín.⁸³ Podobný trend napučovania sa sledoval v práci Khizer a kol.⁸⁴, kde pokles indexu napučovania 3D tlačených glipizidových matric na báze HPMC K15M, ktorý sa pripisuje erózii matrice, sa pozoroval približne po 18 hodinách testovania pri pH 6,8.⁸⁴



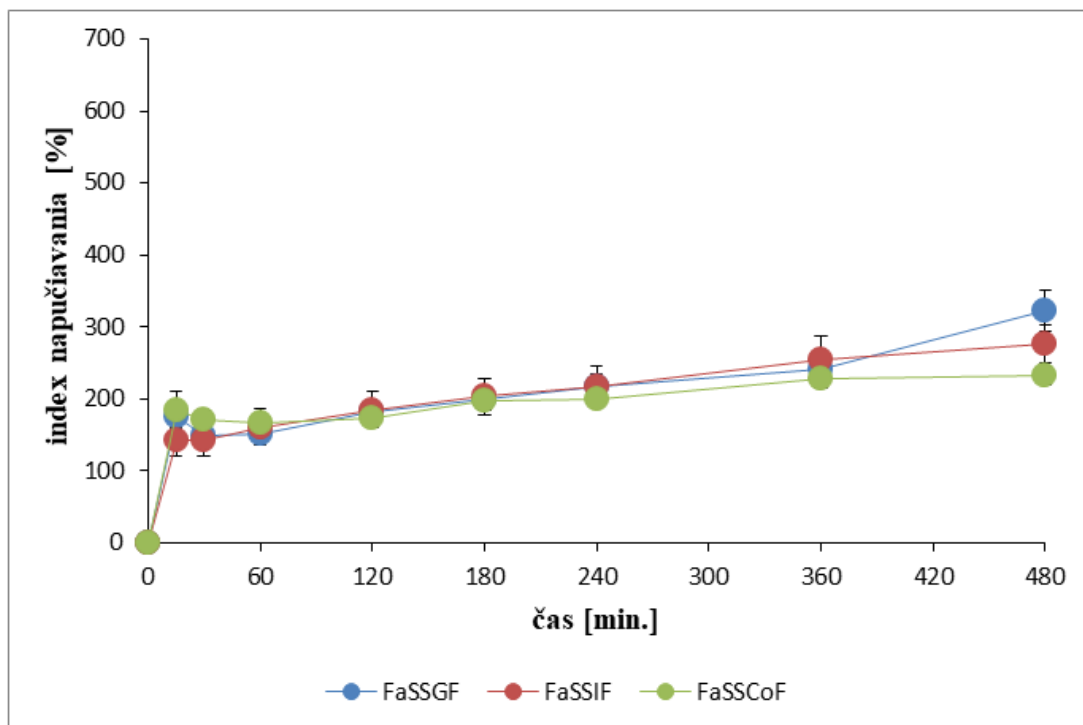
Obrázok 7: Index napučievania tabliet 100 : 0 v prostredí biorelevantného média FaSSGF, FaSSIF a FaSSCoF.

Vzorka s najmenším prídavkom Neusilinu[®] US2 (85,4 : 14,6) sa rovnako ako vzorka 100 : 0 vyznačovala rýchlym nárastom hmotnosti po prvých 15 minútach testovania a následným postupným pozvoľným zvýšením indexu napučievania (Obrázok 8). Zvýšenie hmotnosti tablety však bolo v porovnaní so samotnou HPMC K15M nižšie (približne 110 %), a to predovšetkým v prípade použitia média FaSSIF (106,25 ± 9,82 %). Dôvodom je pravdepodobne prítomnosť nerozpustného Neusilinu[®] US2, ktorý má vysokú absorpčnú kapacitu, čím sa znižuje napučanie polyméru. Neusilin[®] US2 je navyše schopný aktívne sorbovať vodu do tablety, čím zaisťujú rovnomerné napučanie prítomného polyméru, čo sa prejavilo následným postupným nárastom indexu napučievania. Prídavok Neusilinu[®] US2 navyše viedol k minimalizácii vplyvu pH na mieru napučania tabliet, ktorá bola pozorovaná u tabliet zo samotnej HPMC K15M (Obrázok 7). Obdobne ako v prípade vzorky 100 : 0 nebolo ani u vzorky 85,4 : 14,6 pozorované dosiahnutie maximálneho napučania ani erózia matrice.



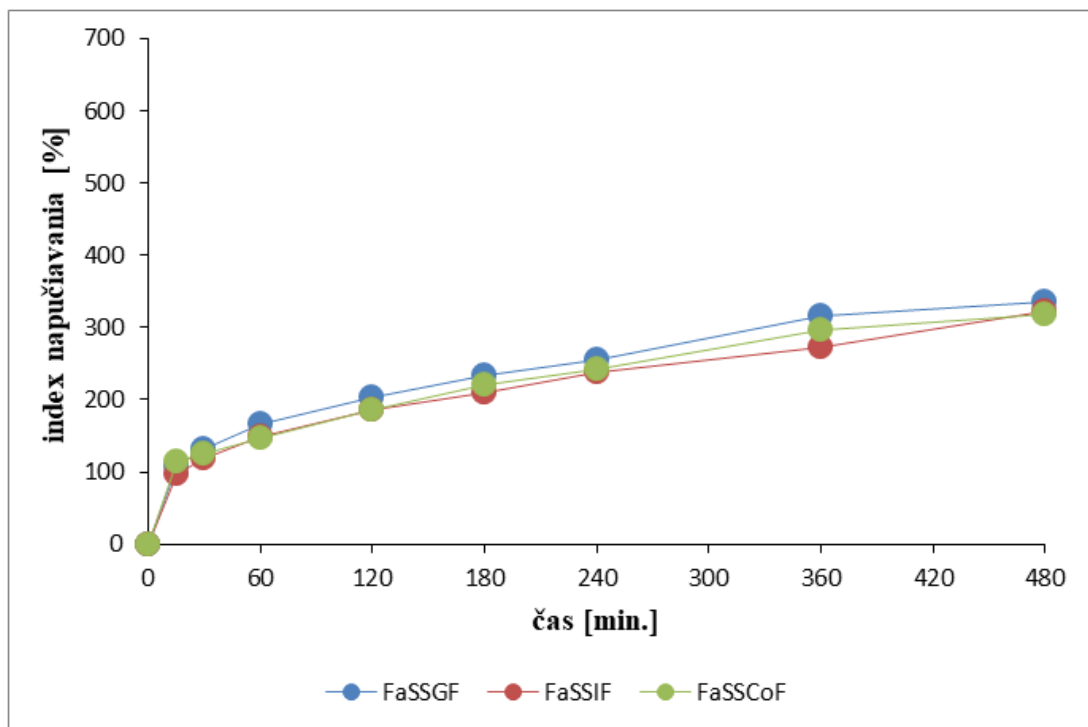
Obrázok 8: Index napučíavania tabliet 85,4 : 14,6 v prostredí biorelevantného média FaSSGF, FaSSIF a FaSSCoF.

S ďalším prídavkom Neusilinu[®] US2 sa u matric 50 : 50 (Obrázok 9) pozoroval vyšší nárast hmotnosti po prvých 15 minútach skúšky (až $182,88 \pm 26,63$ % vo FaSSCoF) v porovnaní s vyššie diskutovanou vzorkou 85,4 : 14,6 a v prípade FaSSIF a FaSSGF aj v porovnaní so vzorkou 100 : 0. Vysvetlením môže byť vyššie zastúpenie Neusilinu[®] US2, ktoré vedie k výraznejšej absorpcii tekutiny, predovšetkým v počiatočnej fáze testu. Avšak vyššie zastúpenie Neusilinu[®] US2 v tablete vedie zároveň k narušeniu integrity gélovej vrstvy, ktorá sa prejavila eróziou matrice po počiatočnom napučaní. Výrazná hydratácia vonkajších vrstiev polyméru totiž vedie k prevahe erózneho pôsobenia v povrchovej vrstve matrice, a tým i poklesu hmotnosti tabliet.⁸⁵ Od 30 minúty skúšky sa vzorky rovnako ako v predchádzajúcich prípadoch vyznačovali postupným nárastom hmotnosti, čo súvisí s prevahou hydratácie a napučania polyméru nad eróziou celej matrice. Avšak celkové napučanie tablety po 8 hodinách je nižšie v porovnaní s tabletami zo samotného polyméru HPMC K15M.



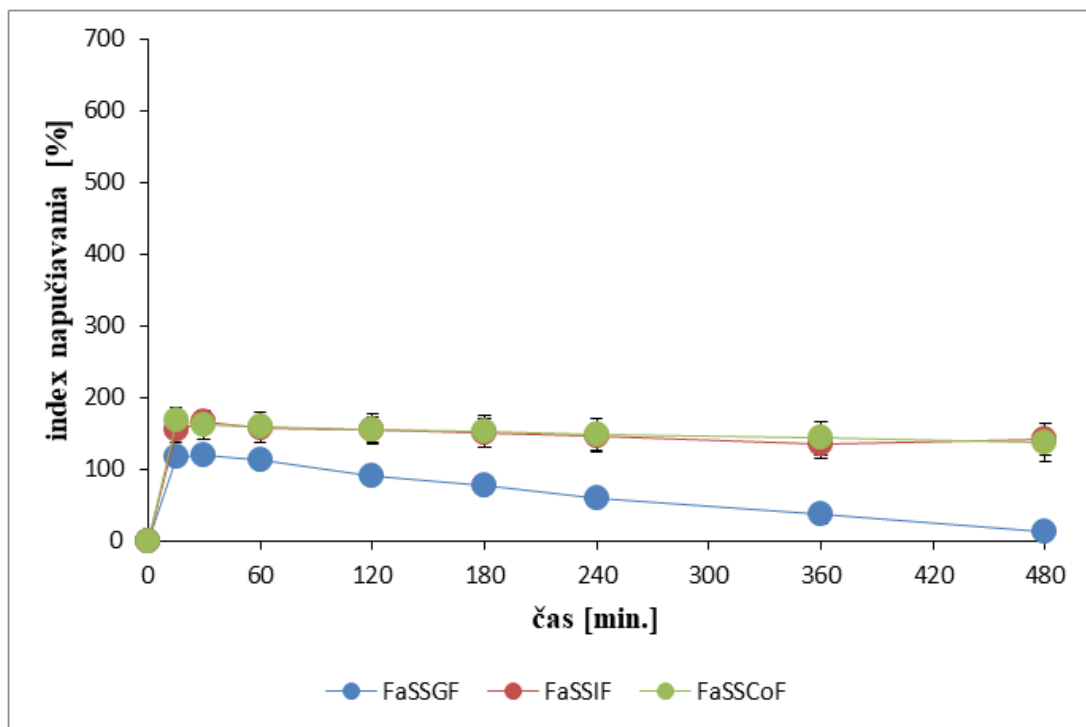
Obrázok 9: Index napučievania tablet 50 : 50 v prostredí biorelevantného média FaSSGF, FaSSIF a FaSSCoF.

Vzorky 14,6 : 85,4 (Obrázok 10) vykazovali nárast hmotnosti po 15 minútach testovania až na $113,87 \pm 8,45$ % (FaSSCoF). Vo zvyšnom čase sa matrice vyznačovali konštantným nárastom hmotnosti a podobnými hodnotami indexu napučievania vo všetkých troch médiách. V porovnaní s tabletami tvorenými samotným polymérom sa pozoroval nižší hmotnostný prírastok počas 8 hodín testovania. Stupeň napučievania sa najviac približoval vzorke 85,4 : 14,6. To je spôsobené vyšším obsahom vysoko absorpčného Neusilinu® US2 v tablete, ktorá je potom schopná v počiatočných fázach zvýšiť svoju hmotnosť obdobne ako vzorky s vyšším zastúpením HPMC K15M. Avšak celkové napučanie je v tomto prípade nižšie práve z dôvodu nižšieho množstva HPMC K15M v matrici a obmedzené absorpčnou schopnosťou Neusilinu® US2. Zároveň pri tejto vzorke nebola pozorovaná erózia matrice, čo je spôsobené vznikom gélu HPMC K15M, ktorý v tomto prípade funguje pravdepodobne ako spojivo držiace jednotlivé častice Neusilinu® US2 pohromade.



Obrázok 10: Index napučievania tabliet 14,6 : 85,4 v prostredí biorelevantného média FaSSGF, FaSSIF a FaSSCoF.

Tablety obsahujúce výlučne Neusilin® US2 (0 : 100) sa po prvotnej absorpcii média vyznačovali postupným poklesom hmotnosti (Obrázok 11). Tento jav možno vysvetliť značným kapilárnym nasávaním média do poréznej štruktúry nosného materiálu a následným pozvoľným rozpúšťaním liečiva do prostredia média, ktoré je spojené s čiastočným rozpadom tablety.⁸⁶ Najvýraznejší pokles hmotnosti sa zaznamenal v prostredí média FaSSGF (zo $119,13 \pm 5,75$ % po 30 minútach na $12,42 \pm 10,18$ % po 8 hodinách). Teofylín má povahu slabej zásady⁸⁷, a preto je dobre rozpustný v prostredí žalúdka. Jeho rozpustnosť však s rastúcou hodnotou pH v oblasti tenkého čreva výrazne klesá a liečivo sa z liekovej formy uvoľňuje pomalšie⁸⁸, čo súvisí i s menším úbytkom hmotnosti tabliet v priebehu skúšky.



Obrázok 11: Index napučíavania tabliet 0 : 100 v prostredí biorelevantného média FaSSGF, FaSSIF a FaSSCoF.

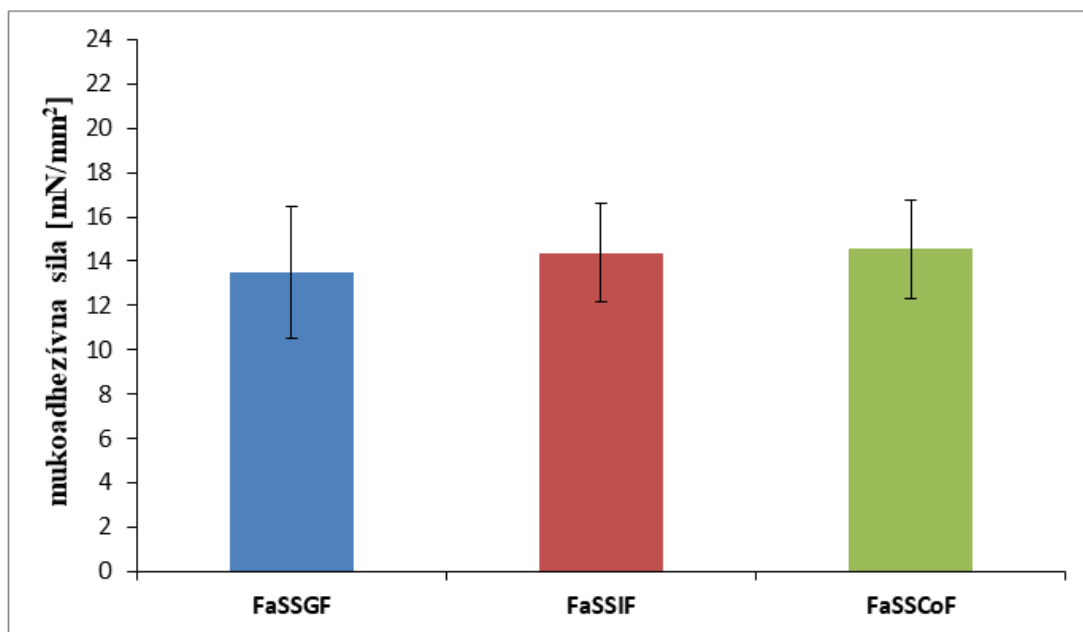
8.2. Stanovenie mukoadhezívnej sily

Princíp mukoadhézie spočíva v prichytení adhezívneho materiálu k slizničnému epitelu pokrytému tenkou vrstvou slizu a jeho dočasnom zotrvaní na určitom mieste.⁸⁹ Pri tomto procese dochádza najprv k zvlhčeniu a napučaniu polyméru, čím sa zabezpečí tesnejší kontakt s hlienovou vrstvou. V ďalšej fáze nastáva prepletenie reťazcov polyméru s glykoproteínmi mucínu, čo umožňuje vznik chemických väzieb (napr. vodíkové väzby, Van der Waalsove sily) sprostredkujúcich spojenie mukoadhezívneho polyméru so sliznicou.⁹⁰ Začlenením Neusilinu® US2 do hydrofilnej polymérnej matrice dochádza, ako bolo popísané vyššie, k poklesu stupňa napučíavania mukoadhezívneho polyméru a možno tak predpokladať i jeho vplyv na mieru mukoadhézie.

Za účelom stanovenia miery mukoadhézie sa vykonala odtrhávacia skúška, ktorá umožnila výpočet mukoadhezívnej sily matricových tabliet po kontakte s 2 % disperziou mucínu v biorelevantnom médiu FaSSGF, FaSSIF alebo FaSSCoF.

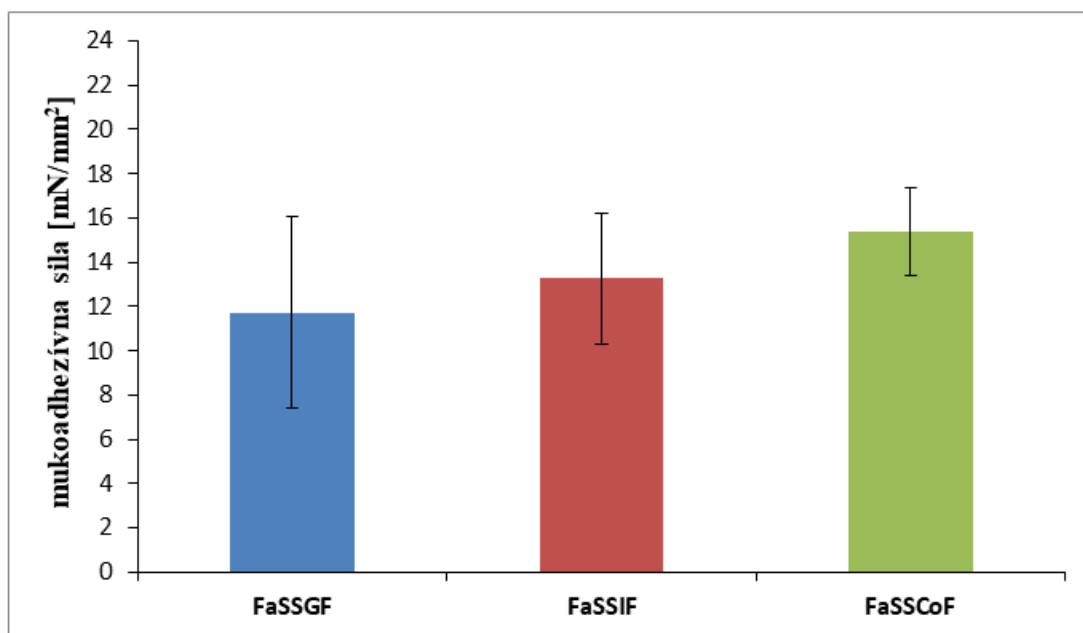
Výsledky mukoadhezívnej sily tabliet tvorených samotným polymérom HPMC K15M (100 : 0) sú znázornene na Obrázku 12. Matrice sa vyznačovali vysokými

hodnotami mukoadhezívnej sily (až $14,54 \pm 2,25$ mN/mm² vo FaSSCoF). Vo všetkých troch prípadoch sa zaznamenala podobná veľkosť mukoadhézie spôsobená schopnosťou neiónového polyméru HPMC K15M tvoriť vodíkové väzby a adherovať k mucínu⁹¹ bez ohľadu na pH okolitého prostredia.



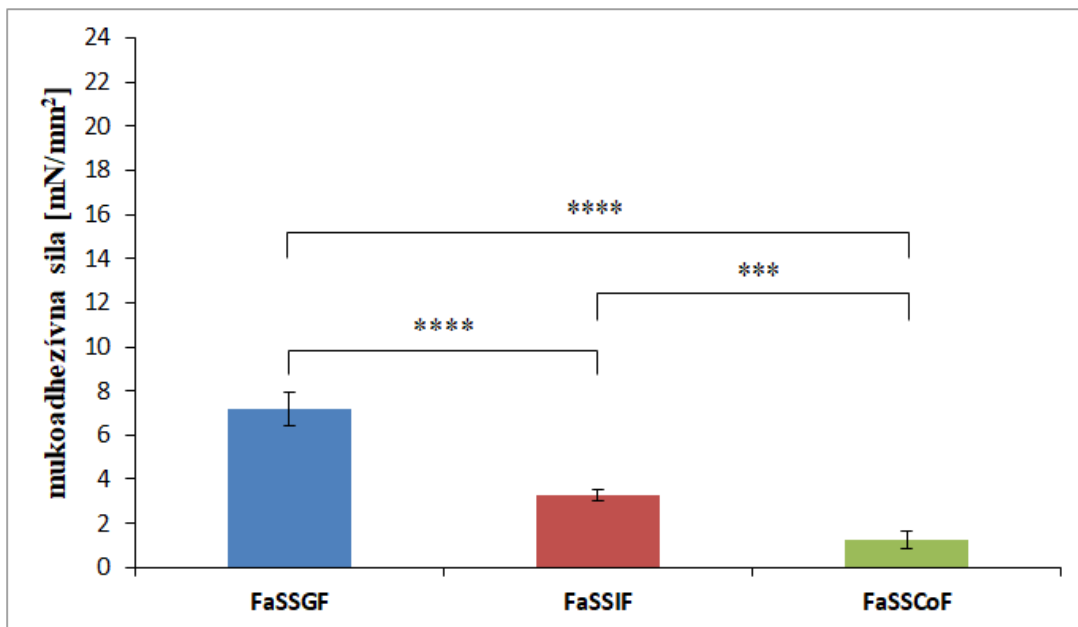
Obrázok 12: Mukoadhezívna sila tabliet 100 : 0 v prítomnosti 2 % disperzie mucínu v biorelevantnom médiu FaSSGF, FaSSIF a FaSSCoF.

U vzoriek s prídavkom Neusilinu[®] US2 (85,4 : 14,6) sa pozoroval mierny pokles mukoadhezívnej sily v prípade použitia FaSSGF a FaSSIF ako dispergačného prostredia pre mucín (Obrázok 13). Tento pokles môže súvisieť so zníženým zastúpením HPMC K15M a začlenením vysoko absorpčného materiálu Neusilinu[®] US2, ktorý absorbuje tekutiny a ovplyvňuje tak mieru hydratácie polyméru dôležitú pre spojenie s mucínom. Získané hodnoty potom naznačujú, že mukoadhezívna sila sa zvyšuje so zvyšujúcim sa pH mucínovej disperzie, respektíve s pH použitého disolučného média. So zvyšujúcim sa pH dochádza v tomto prípade pravdepodobne k zvýšeniu interakcií medzi mucínom a HPMC K15M, a tým k nárastu mukoadhezívnej sily až na $15,4 \pm 1,97$ mN/mm² pri použití disperzie mucínu vo FaSSCoF. Avšak je nutné konštatovať, že rozdiely medzi zistenými hodnotami nie sú signifikantné.



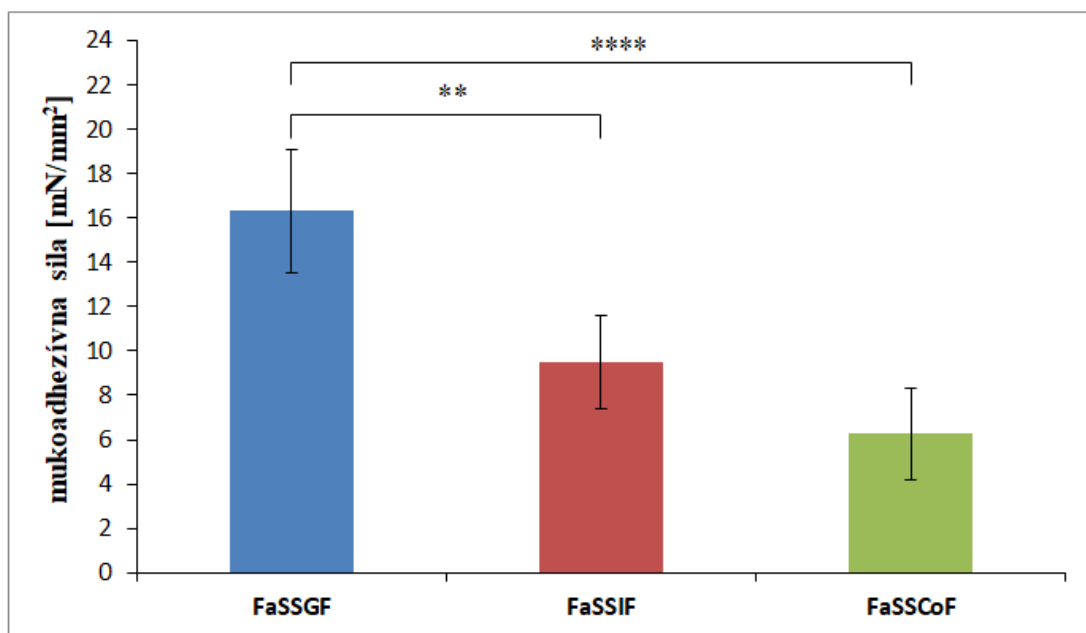
Obrázok 13: Mukoadhezívna sila tabliet 85,4 : 14,6 v prítomnosti 2 % disperzie mucínu v biorelevantnom médiu FaSSGF, FaSSIF a FaSSCoF.

Formulácie 50 : 50 (Obrázok 14) sa vyznačovali nižšou mukoadhezívnou silou v porovnaní so vzorkami 100 : 0 a 85,4 : 14,6. Vysvetlením môže byť nižšie množstvo hydroxylových skupín dostupných pre vznik vodíkových väzieb vďaka obmedzenému množstvu prítomného polyméru a vyššiemu zastúpeniu Neusilinu® US2, ktorý absorbuje tekutiny, čím znižuje hydratáciu polymérnych reťazcov potrebných k prepleteniu s mucínom. Tieto tablety navyše vykazovali po prvotnom napučaní istú mieru erózie matrice, ktorá sa v tomto prípade môže odrážať tiež v nameraných nižších hodnotách mukoadhezívnej sily. S rastúcim pH 2 % disperzie mucínu sa na rozdiel od vzorky 85,4 : 14,6 pozoroval štatisticky významný pokles mukoadhémie ($p < 0,05$). Vysvetlením môže byť vznik neväzbových interakcií typu Van der Waalsových síl medzi mucínom a Neusilinom® US2 pri vyššom pH, čím dôjde k zníženiu dostupného počtu skupín tvoriacich vodíkové väzby s polymérom HPMC K15M. Výsledkom je znížené prepletenie polymérnych reťazcov s vrstvou mucínu a oslabenie priľnavosti polyméru k slizničnej membráne⁹² podporené navyše zníženým množstvom polyméru v matrici.



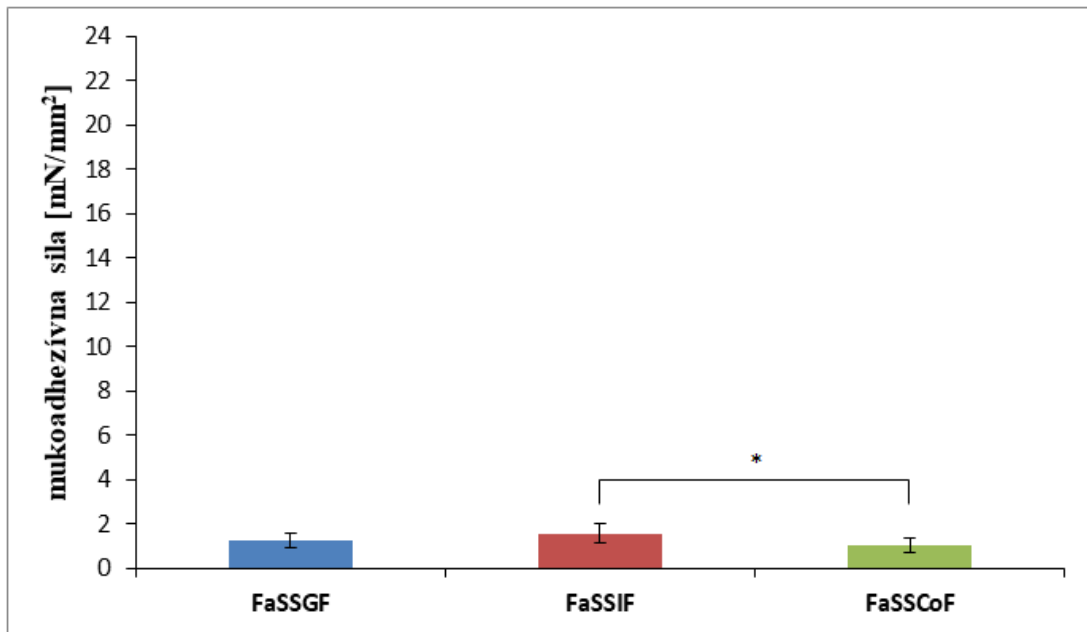
Obrázok 14: Mukoadhezívna sila tabliet 50 : 50 v prítomnosti 2 % disperzie mucínu v biorelevantnom médiu FaSSGF, FaSSIF a FaSSCoF.

S ďalším nárastom množstva Neusilinu[®] US2 v tablete (vzorka 14,6 : 85,4) sa pozoroval opätovný nárast mukoadhezívnej sily (Obrázok 15). Dôvodom je pravdepodobne lepšia hydratácia tablety spôsobená vyšším zastúpením vysoko absorpčného materiálu Neusilinu[®] US2. Matrice 14,6 : 85,4 vykazovali najvyššiu mukoadhezívnu silu v prítomnosti 2 % disperzie mucínu v médiu FaSSGF ($16,32 \pm 2,79$ mN/mm²). So zvýšením pH 2 % disperzie mucínu došlo k zníženiu mukoadhézie, ktoré je pravdepodobne spojené so vznikom interakcií medzi Neusilinom[®] US2 a mucínom, ako už bolo diskutované vyššie.



Obrázok 15: Mukoadhezívna sila tabliet 14,6 : 85,4 v prítomnosti 2 % disperzie mucínu v biorelevantnom médiu FaSSGF, FaSSIF a FaSSCoF.

Výsledky hodnotenia mukoadhézie tabliet obsahujúcich iba Neusilin® US2 a modelové liečivo teofylín ukázali, že samotný silikátový nosič nemá výrazné mukoadhezívne vlastnosti (Obrázok 16). Najvyššia mukoadhezívna sila bola v tomto prípade zistená v prostredí FaSSIF a dosahovala hodnotu $1,58 \pm 0,41$ mN/mm². Táto hodnota je potom výrazne nižšia ako hodnoty zistené vo vyššie spomínaných vzorkách obsahujúcich HPMC K15M.



Obrázok 16: Mukoadhezívna sila tabliet 0 : 100 v prítomnosti 2 % disperzie mucínu v biorelevantnom médiu FaSSGF, FaSSIF a FaSSCoF.

9. Záver

Predložená práca je súčasťou rozsiahlejšieho experimentu zaoberajúceho sa prípravou liquisolid systémov s mukoadhezívnymi vlastnosťami, ktoré budú schopné cieleného prívodu obmedzene rozpustných liečiv do oblasti kolonu. Formulácia LSS spočíva v inkorporácii kvapalného liečiva do poréznej štruktúry nosného materiálu, ktorý môže vzhľadom na svoju vysokú absorpčnú kapacitu ovplyvniť chovanie mukoadhezívnych polymérov. Vzhľadom na túto skutočnosť bolo cieľom tejto práce hodnotenie vplyvu mezoporézneho nosiča Neusilinu® US2 na vlastnosti hydrofilných polymérnych matric na báze hypromelózy v biorelevantnom médiu simulujúcom prostredie žalúdka (FaSSGF), tenkého čreva (FaSSIF) i kolonu (FaSSCoF) nalačno.

Hodnotenie indexu napučievania ukázalo, že s prídavkom Neusilinu® US2 dochádza k miernemu poklesu indexu napučievania a minimalizácii vplyvu pH na mieru napučania tabliet. V prípade tabliet 50 : 50 sa pozoroval vyšší nárast indexu napučievania v úvodnej fáze testu, čo následne viedlo k zníženiu hmotnosti z dôvodu rozvoľnenia a postupnému vzniku erózie plne hydratovaných vonkajších vrstiev matrice. S ďalším navýšením množstva Neusilinu® US2 v tablete sa zaznamenal podobný stupeň napučievania ako v prípade vzoriek s vyšším zastúpením HPMC K15M, čo je spôsobené práve prítomnosťou vysoko absorpčného Neusilinu® US2 v tablete, ktorý je schopný v počiatočných fázach zvýšiť hmotnosť tablety obdobne ako vzorky s dominantným zastúpením polyméru HPMC K15M.

Z výsledkov stanovenia mukoadhézie vyplýva, že najsilnejšie spojenie s mucínom vytvárali tablety s dominantným zastúpením HPMC K15M (100 : 0 a 85,4 : 14,6). S navýšením množstva Neusilinu® US2 sa u matric pozoroval pokles mukoadhezívnej sily, pričom tablety so samotným Neusilinom® US2 vykazovali iba zanedbateľné hodnoty mukodhezívnej sily.

V rámci tejto práce sa ako najvhodnejšia formulácia pre ďalšie štúdium javí vzorka 85,4 : 14,6. Dôvodom je jej konštantná miera napučania v priebehu celého testovania, a to vo všetkých testovaných médiách, a zároveň relatívne vysoká mukoadhezívna sila porovnateľná s matricami so samotnou HPMC K15M.

10. Použitá literatúra

1. ALVAREZ-FUENTES, J., M. FERNÁNDEZ-ARÉVALO, M. L. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. CIRRI a P. MURA. Development of enteric-coated timed-release matrix tablets for colon targeting. *Journal of Drug Targeting*. 2008, **12**(9-10), s. 607-612. ISSN 1061-186X.
2. PATEL, A., N. BHATT, K. R. PATEL, N. M. PATEL a M. R. PATEL. Colon targeted drug delivery system: a review system. *Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research*. 2011, **1**(1), s. 37-49. ISSN 2277-3681.
3. RAVI, V., SIDDARAMAIAH a T. M. P. KUMAR. Influence of natural polymer coating on novel colon targeting drug delivery system. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2008, **19**(5), s. 2131-2136. ISSN 0957-4530.
4. MAITY, S. a B. SA. Compression-coated tablet for colon targeting: impact of coating and core materials on drug release. *AAPS PharmSciTech*. 2016, **17**(2), s. 504-515. ISSN 1530-9932.
5. SINGH, N. a R. C. KHANNA. Colon targeted drug delivery systems – A Potential Approach. *The Pharma Innovation*. 2012, **1**(2), s. 40-47. ISSN 2277-7695.
6. SABADKOVÁ, D., A. FRANC, J. MUSELÍK, D. NEUMANN a D. VETCHÝ. Lieky s mechanizmom pulzného uvoľňovania. *Chemické listy*. 2015, **109**(5), s. 353-359. ISSN 1213-7103.
7. MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR. *Český lékopis 2017*. GRADA Publishing, a.s., 2017. ISBN 859-404-924-045-6.

8. UMMADI, S., B. SHRAVANI, N. G. R. RAO, M. S. REDDY a B. S. NAYAK. Overview on controlled release dosage form. *International Journal of Pharma Sciences*. 2013, **3**(4), s. 258-269. ISSN 2320-6810.
9. RABIŠKOVÁ, M. *Lékové formy a biofarmacie*. Vyd. 2., přeprac. a rozš. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2009, 73 s. ISBN 978-80-7305-071-9.
10. RABIŠKOVÁ, M. a V. FRIČOVÁ. Perorální formy s řízeným uvolňováním léčiv. *Praktické lékařství*. 2008, **4**(4), s. 186-190. ISSN 1803-5329.
11. WANG, L. a X. LIU. Sustained release technology and its application in environmental remediation: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2019, **16**(12). ISSN 1660-4601.
12. RAMU, S., P. C. G. REDDY, D. S. RAO a G. RAMAKRISHNA. Formulation and evaluation of lansoprazole delayed release pellets. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*. 2015, **5**(4), s. 860-878. ISSN 2249-9504.
13. MARONI, A., L. ZEMA, M. CEREJA, A. FOPPOLI, L. PALUGAN a A. GAZZANIGA. Erodible drug delivery systems for time-controlled release into the gastrointestinal tract. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2016, **32**, s. 229-235. ISSN 1773-2247.
14. PHILIP, A. K. a B. PHILIP. Colon targeted drug delivery systems: a review on primary and novel approaches. *Oman Medical Journal*. 2010, **25**(2), s. 70-78. ISSN 2070-5204.
15. AMIDON, S., J. E. BROWN a V. S. DAVE. Colon-targeted oral drug delivery systems: design trends and approaches. *AAPS PharmSciTech*. 2015, **16**(4), s. 731-741. ISSN 1530-9932.

16. KRISHNAIAH, Y. S. R. a M. A. KHAN. Strategies of targeting oral drug delivery systems to the colon and their potential use for the treatment of colorectal cancer. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2012, **17**(5), s. 521-540. ISSN 1083-7450.
17. KUMAR, M., A. ALI, P. KALDHONE, A. SHIRODE a V. J. KADAM. Report on pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems. *Journal of Pharmacy Research*. 2010, **3**(3), s. 470-473. ISSN 0974-6943.
18. SINGH, A. a A. SHARMA. Novel approaches for colon targeted drug delivery system. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*. 2014, **3**(2), s. 877-886. ISSN 2278-0238.
19. DHANESHWAR, S. S. Colon-specific prodrugs of 4-aminosalicylic acid for inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*. 2014, **20**(13). ISSN 1007-9327.
20. KIM, H., Y. LEE, H. YOO, J. KIM, H. KONG, J. H. YOON, Y. JUNG a Y. M. KIM. Synthesis and evaluation of sulfate conjugated metronidazole as a colon-specific prodrug of metronidazole. *Journal of Drug Targeting*. 2011, **20**(3), s. 255-263. ISSN 1061-186X.
21. CHOURASIA, M. K. a S. K. JAIN. Pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2003, **6**(1), s. 33-66. ISSN 1482-1826.
22. NG, Y. M., S. N. A. MAT YUSUF, H. I. CHIU a V. LIM. Redox-sensitive linear and cross-linked cystamine-based polymers for colon-targeted drug delivery: design, synthesis, and characterisation. *Pharmaceutics*. 2020, **12**(5). ISSN 1999-4923.

23. KURAKULA, M., S. GORITYALA a K. MOHARIR. Recent trends in design and evaluation of chitosan-based colon targeted drug delivery systems: Update 2020. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2021, **64**. ISSN 1773-2247.
24. BAK, A., M. ASHFORD a D. J. BRAYDEN. Local delivery of macromolecules to treat diseases associated with the colon. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2018, **136-137**, s. 2-27. ISSN 0169-409X.
25. LEE, S. H., R. BAJRACHARYA, J. Y. MIN, J. W. HAN, B. J. PARK a H. K. HAN. Strategic approaches for colon targeted drug delivery: an overview of recent advancements. *Pharmaceutics*. 2020, **12**(1). ISSN 1999-4923.
26. ZEESHAN, M., H. ALI, S. KHAN, S. A. KHAN a B. WEIGMANN. Advances in orally-delivered pH-sensitive nanocarrier systems; an optimistic approach for the treatment of inflammatory bowel disease. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019, **558**, s. 201-214. ISSN 0378-5173.
27. GAO, C., J. HUANG, Y. JIAO, L. SHAN, Y. LIU, Y. LI a X. MEI. In vitro release and in vivo absorption in beagle dogs of meloxicam from Eudragit® FS 30 D-coated pellets. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006, **322**(1-2), s. 104-112. ISSN 0378-5173.
28. AKHGARI, A., H. A. GAREKANI, F. SADEGHI a M. AZIMAIE. Statistical optimization of indomethacin pellets coated with pH-dependent methacrylic polymers for possible colonic drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2005, **305**(1-2), s. 22-30. ISSN 0378-5173.
29. SAFFRAN, M., G. S. KUMAR, C. SAVARIAR, J. C. BURNHAM, F. WILLIAMS a D. C. NECKERS. A new approach to the oral administration of insulin and other peptide drugs. *Science*. 1986, **233**(4768), s. 1081-1084. ISSN 0036-8075.

30. KIMURA, Y., Y. MAKITA, T. KUMAGAI, H. YAMANE, T. KITAO, H. SASATANI a S. I. KIM. Degradation of azo-containing polyurethane by the action of intestinal flora: its mechanism and application as a drug delivery system. *Polymer*. 1992, **33**(24), s. 5294-5299. ISSN 0032-3861.
31. KALALA, W., R. KINGET, G. VAN DEN MOOTER a C. SAMYN. Colonic drug-targeting: In vitro release of ibuprofen from capsules coated with poly(ether-ester) azopolymers. *International Journal of Pharmaceutics*. 1996, **139**(1-2), s. 187-195. ISSN 0378-5173.
32. VAN DEN MOOTER, G., C. SAMYN a R. KINGET. In vivo evaluation of a colon-specific drug delivery system: an absorption study of theophylline from capsules coated with azo polymers in rats. *Pharmaceutical Research*. 1995, **12**(2), s. 244-247. ISSN 0724-8741.
33. KOSARAJU, S. L. Colon targeted delivery systems: review of polysaccharides for encapsulation and delivery. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2005, **45**(4), s. 251-258. ISSN 1040-8398.
34. RABIŠKOVÁ, M., T. BAUTZOVÁ, J. GAJDZIOK, K. DVOŘÁČKOVÁ, A. LAMPRECHT, Y. PELLEQUER a J. SPILKOVÁ. Coated chitosan pellets containing rutin intended for the treatment of inflammatory bowel disease: In vitro characteristics and in vivo evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012, **422**(1-2), s. 151-159. ISSN 0378-5173.
35. MAT YUSUF, S. N. A., Y. M. NG, A. D. AYUB, S. H. NGALIM a V. LIM. Characterisation and evaluation of trimesic acid derivatives as disulphide cross-linked polymers for potential colon targeted drug delivery. *Polymers*. 2017, **9**(8). ISSN 2073-4360.
36. LIM, V., K. K. PEH a S. SAHUDIN. Synthesis, characterisation, and evaluation of a cross-linked disulphide amide-anhydride-containing polymer based on

- cysteine for colonic drug delivery. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013, **14**(12), s. 24670-24691. ISSN 1422-0067.
37. LAU, Y. a V. LIM. Colon targeted drug delivery of branch-chained disulphide cross-linked polymers: design, synthesis, and characterisation studies. *Chemistry Central Journal*. 2016, **10**(1), s. 1-19. ISSN 1752-153X.
38. KROGARS, K., J. HEINÄMÄKI, J. VESALAHTI, M. MARVOLA, O. ANTIKAINEN a J. YLIRUUSI. Extrusion–spherionization of pH-sensitive polymeric matrix pellets for possible colonic drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2000, **199**(2), s. 187-194. ISSN 0378-5173.
39. ASGHAR, L. F. A. a S. CHANDRAN. Design and evaluation of pH modulated controlled release matrix systems for colon specific delivery of indomethacin. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008, **63**(10), s. 736-742. ISSN 0031-7144.
40. ASGHAR, L. F., C. B. CHURE a S. CHANDRAN. Colon specific delivery of Indomethacin: effect of incorporating pH sensitive polymers in xanthan gum matrix bases. *AAPS PharmSciTech*. 2009, **10**(2), s. 418-429. ISSN 1530-9932.
41. KUMAR, R., M. B. PATIL, S. R. PATIL a M. S. PASCHAPUR. Polysaccharides based colon specific drug delivery: a review. *International Journal of PharmTech Research*. 2009, **1**(2), s. 334-346. ISSN 0974-4304.
42. BRØNDSTED, H. a J. KOPEČEK. Hydrogels for site-specific oral drug delivery: synthesis and characterization. *Biomaterials*. 1991, **12**(6), s. 584-592. ISSN 0142-9612.
43. VERVOORT, L., P. ROMBAUT, G. VAN DEN MOOTER, P. AUGUSTIJNS a R. KINGET. Inulin hydrogels. II. In vitro degradation study. *International Journal of Pharmaceutics*. 1998, **172**(1-2), s. 137-145. ISSN 0378-5173.

44. HOVGAARD, L. a H. BRØNDSTED. Dextran hydrogels for colon-specific drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 1995, **36**(1-2), s. 159-166. ISSN 0168-3659.
45. REDDY, R. B. D., K. MALLESWARI, G. PRASAD a G. PAVANI. Colon targeted drug delivery system: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2013, **4**(1), s. 42-54. ISSN 0975-8232.
46. BILASKAR, V. V., I. S. PATIL, O. A. PATIL, G. R. MANDKE a S. K. MOHITE. Design, development and optimization of pulsatile drug delivery of antihypertensive drug. *International Research Journal of Pharmaceutical and Biosciences*. 2018, **4**(6), s. 1-18. ISSN 2394-5834.
47. DVOŘÁČKOVÁ, K., A. FRANC a M. KEJDUŠOVÁ. Směrování léčiv do tlustého střeva. *Chemické listy*. 2013, **107**(7), s. 522-529. ISSN 1213-7103.
48. ABRAHAM, S. a M. S. SRINATH. Development of modified pulsincap drug delivery system of metronidazole for drug targeting. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2007, **69**(1). ISSN 0250-474X.
49. SITU, W., X. LI, J. LIU a L. CHEN. Preparation and characterization of glycoprotein-resistant starch complex as a coating material for oral bioadhesive microparticles for colon-targeted polypeptide delivery. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015, **63**(16), s. 4138-4147. ISSN 0021-8561.
50. SARDO, H. S., F. SAREMNEJAD, S. BAGHERI, A. AKHGARI, H. A. GAREKANI a F. SADEGHI. A review on 5-aminosalicylic acid colon-targeted oral drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*. 2019, **558**, s. 367-379. ISSN 0378-5173.

51. MANSOORI, S., A. DEV a S. GUPTA. An overview of pelletization techniques used in multiparticulate drug delivery system. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2017, **6**(8), s. 720-741. ISSN 2277-7105.
52. ARÉVALO-PÉREZ, R., C. MADERUELO a J. M. LANAO. Recent advances in colon drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*. 2020, **327**, s. 703-724. ISSN 0168-3659.
53. DESAI, N. a M. MOMIN. Colon targeted bioadhesive pellets of curcumin and cyclosporine for improved management of inflammatory bowel disease. *Drug Delivery and Translational Research*. 2020, **10**(5), s. 1288-1301. ISSN 2190-393X.
54. SEO, E. B., L. H. DU PLESSIS a J. M. VILJOEN. Solidification of self-emulsifying drug delivery systems as a novel approach to the management of uncomplicated malaria. *Pharmaceuticals*. 2022, **15**(2). ISSN 1424-8247.
55. ABDULKARIM, M., P. K. SHARMA a M. GUMBLETON. Self-emulsifying drug delivery system: Mucus permeation and innovative quantification technologies. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2019, **142**, s. 62-74. ISSN 0169-409X.
56. RAMSHANKAR, Y. V., S. SURESH a K. DEVI. Novel self-emulsifying formulation of curcumin with improved dissolution, antiangiogenic and anti-inflammatory activity. *Clinical Research and Regulatory Affairs*. 2008, **25**(4), s. 213-234. ISSN 1060-1333.
57. HANDALI, S., E. MOGHIMIPOUR, M. REZAEI, et al. A novel 5-Fluorouracil targeted delivery to colon cancer using folic acid conjugated liposomes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018, **108**, s. 1259-1273. ISSN 0753-3322.

58. ELKASABGY, N. A., A. A. MAHMOUD a A. MAGED. 3D printing: An appealing route for customized drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*. 2020, **588**. ISSN 0378-5173.
59. ALMEIDA, A., V. LINARES, G. MORA-CASTAÑO, M. CASAS, L. CARABALLO a B. SARMENTO. 3D printed systems for colon-specific delivery of camptothecin-loaded chitosan micelles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2021, **167**, s. 48-56. ISSN 0939-6411.
60. GOYANES, A., H. CHANG, D. SEDOUGH, G. B. HATTON, J. WANG, A. BUANZ, S. GAISFORD a A. W. BASIT. Fabrication of controlled-release budesonide tablets via desktop (FDM) 3D printing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015, **496**(2), s. 414-420. ISSN 0378-5173.
61. VRANÍKOVÁ, B., J. GAJDZIOK, D. VETCHÝ, B. KRATOCHVÍL a L. SEILEROVÁ. Systémy kapalina v pevné fázi jako moderní trend zvyšování biologické dostupnosti léčiva. *Chemické listy*. 2013, **107**(9), s. 681-687. ISSN 1213-7103.
62. LU, M., H. XING, J. JIANG, X. CHEN, T. YANG, D. WANG a P. DING. Lquisolid technique and its applications in pharmaceutics. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017, **12**(2), s. 115-123. ISSN 1818-0876.
63. ELKHODAIRY, K. A., H. A. ELSAGHIR a A. M. AL-SUBAYIEL. Formulation of indomethacin colon targeted delivery systems using polysaccharides as carriers by applying lquisolid technique. *BioMed Research International*. 2014, **2014**, s. 1-17. ISSN 2314-6133.
64. VRANÍKOVÁ, B. a J. GAJDZIOK. Lquisolid systems and aspects influencing their research and development. *Acta Pharmaceutica*. 2013, **63**(4), s. 447-465. ISSN 1846-9558.

65. JAVADZADEH, Y., L. MUSAALREZAEI a A. NOKHODCHI. Liquisolid technique as a new approach to sustain propranolol hydrochloride release from tablet matrices. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008, **362**(1-2), s. 102-108. ISSN 0378-5173.
66. GONJARI, I. D., A. B. KARMARKAR a A. H. HOSMANI. Evaluation of in vitro dissolution profile comparison methods of sustained release tramadol hydrochloride liquisolid compact formulations with marketed sustained release tablets. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2009, **4**(4), s. 651-661. ISSN 1842-3582.
67. NOKHODCHI, A., R. ALIAKBAR, S. DESAI a Y. JAVADZADEH. Liquisolid compacts: the effect of cosolvent and HPMC on theophylline release. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010, **79**(1), s. 262-269. ISSN 0927-7765.
68. ELKORDY, A. A., E. A. ESSA, S. DHUPPAD a P. JAMMIGUMPULA. Liquisolid technique to enhance and to sustain griseofulvin dissolution: Effect of choice of non-volatile liquid vehicles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012, **434**(1-2), s. 122-132. ISSN 0378-5173.
69. KHANFAR, M., M. SHEIKH SALEM a F. KADDOUR. Preparation of sustained-release dosage form of Venlafaxine HCl using liquisolid technique. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2014, **19**(1), s. 103-115. ISSN 1097-9867.
70. ADIBKIA, K., J. SHOKRI, M. BARZEGAR-JALALI, M. SOLDUZIAN a Y. JAVADZADEH. Effect of solvent type on retardation properties of diltiazem HCl form liquisolid tablets. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014, **113**, s. 10-14. ISSN 0927-7765.
71. HUSSAIN, Y., A. UR. REHMAN a M. N. SHAH. Liquisolid Technique: a Novel Tool to Develop Aceclofenac-Loaded Eudragit L-100 and RS-100-Based

Sustained Release Tablets. *Journal of Pharmaceutical Innovation*. 2021, **16**(4), s. 659-671. ISSN 1872-5120.

72. ALI, B., A. KHAN, H. S. ALYAMI, M. ULLAH, A. WAHAB, M. BADSHAH a A. NAZ. Evaluation of the effect of carrier material on modification of release characteristics of poor water soluble drug from liquisolid compacts. *Plos One*. 2021, **16**(8). ISSN 1932-6203.
73. KUMAR, V. S., J. RIJO a M. SABITHA. Guargum and Eudragit® coated curcumin liquid solid tablets for colon specific drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018, **110**, s. 318-327. ISSN 0141-8130.
74. VRANÍKOVÁ, B., A. FRANC, J. GAJZIOK a D. VETCHÝ. Biorelevantní disoluční media simulující podmínky trávicího traktu. *Chemické listy*. 2016, **110**(2), s. 126-132. ISSN 1213-7103.
75. GEORGAKA, D., J. BUTLER, F. KESISOGLOU, C. REPPAS a M. VERTZONI. Evaluation of dissolution in the lower intestine and its impact on the absorption process of high dose low solubility drugs. *Molecular Pharmaceutics*. 2017, **14**(12), s. 4181-4191. ISSN 1543-8384.
76. PATEL, D. a S. WAIRKAR. Recent advances in cyclosporine drug delivery: challenges and opportunities. *Drug Delivery and Translational Research*. 2019, **9**(6), s. 1067-1081. ISSN 2190-393X.
77. JOHNOVÁ, K. *Studium vlivu kombinace mukoadhezivních polymerů na chování matricových systémů v prostředí žaludku*. 2021. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.
78. JANOUŠEK, M. *Studium vlivu kombinace mukoadhezivních polymerů na chování matricových systémů v prostředí tenkého střeva*. 2021. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.

79. MAŠKOVÁ, E., K. KUBOVÁ a J. MAŠEK. Modulation of drug release from modern oral and oral hydrophilic matrix systems based on hypromellose. *Chemické listy*. 2019, **113**(8), s. 491-499. ISSN 1213-7103.
80. BÍLIK, T., J. VYSLOUŽIL, M. NAISEROVÁ, et al. Exploration of Neusilin® US2 as an Acceptable Filler in HPMC Matrix Systems—Comparison of Pharmacopoeial and Dynamic Biorelevant Dissolution Study. *Pharmaceutics*. 2022, **14**(1). ISSN 1999-4923.
81. NAISEROVÁ, M., K. KUBOVÁ, J. VYSLOUŽIL, et al. Investigation of Dissolution Behavior HPMC/Eudragit®/Magnesium Aluminometasilicate Oral Matrices Based on NMR Solid-State Spectroscopy and Dynamic Characteristics of Gel Layer. *AAPS PharmSciTech*. 2018, **19**(2), s. 681-692. ISSN 1530-9932.
82. TRITT-GOC, J. a N. PIŚLEWSKI. Magnetic resonance imaging study of the swelling kinetics of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) in water. *Journal of Controlled Release*. 2002, **80**(1-3), s. 79-86. ISSN 0168-3659.
83. CONTI, S., L. MAGGI, L. SEGALE, E. O. MACHISTE, U. CONTE, P. GRENIER a G. VERGNAULT. Matrices containing NaCMC and HPMC: 2. Swelling and release mechanism study. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007, **333**(1-2), s. 143-151. ISSN 0378-5173.
84. KHIZER, Z., M. R. AKRAM, R. M. SARFRAZ, et al. Plasticiser-free 3D printed hydrophilic matrices: Quantitative 3D surface texture, mechanical, swelling, erosion, drug release and pharmacokinetic studies. *Polymers*. 2019, **11**(7). ISSN 2073-4360.
85. LESKINEN, J. T. T., M. A. HAKULINEN, M. KUOSMANEN, J. KETOLAINEN, S. ABRAHMSÉN-ALAMI a R. LAPPALAINEN. Monitoring of swelling of hydrophilic polymer matrix tablets by ultrasound

- techniques. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011, **404**(1-2), s. 142-147. ISSN 0378-5173.
86. RUHLAND, T., S. D. NIELSEN, P. HOLM a C. H. CHRISTENSEN. Nanoporous magnesium aluminometasilicate tablets for precise, controlled, and continuous dosing of chemical reagents and catalysts: applications in parallel solution-phase synthesis. *Journal of Combinatorial Chemistry*. 2007, **9**(2), s. 301-305. ISSN 1520-4766.
87. AL-HAIDARI, R. A., N. A. ABDALLAH, M. M. AL-OQAIL, E. S. AL-SHEDDI, S. M. AL-MASSARANI a N. N. FARSHORI. Nanoparticles based solid contact potentiometric sensor for the determination of theophylline in different types of tea extract. *Inorganic Chemistry Communications*. 2020, **119**. ISSN 1387-7003.
88. MAŠKOVÁ, E., K. KUBOVÁ a D. VETCHÝ. Využití (meth)akrylátových kopolymerů v technologii matricových tablet s řízeným uvolňováním léčiva. *Chemické listy*. 2015, **109**(1), s. 14-20. ISSN 1213-7103.
89. PECHOVÁ, V., J. GAJDZIOK a D. VETCHÝ. Texturní analýza jako moderní přístup k hodnocení lékových forem a zdravotnických prostředků. *Chemické listy*. 2017, **111**(10), s. 622-627. ISSN 1213-7103.
90. GAJDZIOK, J. Mukoadheze a její uplatnění při aplikaci léku do dutiny ústní. *Praktické lékařství*. 2016, **12**(3), s. 105-107. ISSN 1803-5329.
91. KARAVAS, E., E. GEORGARAKIS a D. BIKIARIS. Application of PVP/HPMC miscible blends with enhanced mucoadhesive properties for adjusting drug release in predictable pulsatile chronotherapeutics. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2006, **64**(1), s. 115-126. ISSN 0939-6411.

92. PONGJANYAKUL, T., W. KHUNAWATTANAKUL, C. J. STRACHAN, K. C. GORDON, S. PUTTIPIATKHACHORN a T. RADES. Characterization of chitosan–magnesium aluminum silicate nanocomposite films for buccal delivery of nicotine. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2013, **55**, s. 24-31. ISSN 0141-8130.