

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Vliv alkoholu na disoluční chování matricových tablet na bázi karagenanu

Bakalářská práce

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

The effect of alcohol on the dissolution behaviour of carrageenan based
matrix tablets

Bachelor thesis

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lenka Navrátilová**
Osobní číslo: **C18426**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Téma práce: **Vliv alkoholu na disoluční chování matricových tablet na bázi karagenanu**
Zadávací katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši na téma Použití karagenanu pro prodloužené uvolňování léčiv.
2. Připravte různé druhy matricových tablet na bázi karagenanu s tramadol hydrochloridem jako účinnou látkou.
3. Provedte disoluční test v hydro-alkoholickém disolučním médiu.
4. Zhodnoťte vliv alkoholu na disoluční profil studovaných tablet.
5. Výsledky zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Veškerá dostupná odborná literatura.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Alena Komersová, Ph.D.**
Katedra fyzikální chemie

Datum zadání bakalářské práce: **26. února 2021**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlášení autora

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 16. 7. 2021

Lenka Navrátilová

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce doc. Ing. Aleně Komersové, Ph.D. za odborný dohled, ochotu a cenné rady při zpracování této práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině za podporu při studiu.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá matricovými tabletami na bázi karagenanu a chitosanu s účinnou látkou tramadol hydrochlorid a působením alkoholu na uvolňování této účinné látky. Cílem práce bylo prostudovat vliv alkoholu na mechanismus a rychlost uvolňování léčiva ze studovaných matricových tablet a prokázat možný „alcohol-induced dose dumping“ efekt.

Metodou přímého lisování byly připraveny 4 formulace matricových tablet s obsahem 50 a 79 % komponent tvořících polyelektrolytový komplex (chitosan a karagenan) a s různým poměrem těchto komponent. S cílem prostudovat vliv alkoholu na tvorbu polyelektrolytového komplexu a následně na rychlost a mechanismus uvolňování modelového léčiva ze studovaných tablet byly provedeny disoluční testy v médiu bez alkoholu a v médiu s obsahem 40 obj. % alkoholu. Množství uvolněné účinné látky bylo stanoveno pomocí UV/VIS spektroskopie. Na základě získaných disolučních profilů byl vyhodnocen vliv přítomnosti alkoholu v disolučním médiu na mechanismus a rychlost uvolňování modelového léčiva tramadol hydrochloridu ze studovaných formulací.

KLÍČOVÁ SLOVA

Karagenan, matricové tablety, prodloužené uvolňování, tramadol hydrochlorid, alcohol-induced dose dumping efekt, disoluční testování

TITLE

The effect of alcohol on the dissolution behaviour of carrageenan based matrix tablets

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with matrix tablets based on carrageenan and chitosan with the active substance tramadol hydrochloride and the action of alcohol on the release of this active substance. The aim of the study was to study the effect of alcohol on the mechanism and rate of drug release from the studied matrix tablets and to demonstrate the possible "alcohol-induced dose dumping" effect.

4 matrix tablet formulations containing 50 and 79 % of polyelectrolyte complex components (chitosan and carrageenan) and with different ratios of these components were prepared by direct compression. In order to study the effect of alcohol on the formation of the polyelectrolyte complex and subsequently on the rate and mechanism of release of the model drug from the studied tablets, dissolution tests were performed in a medium without alcohol and in a medium containing 40 % alcohol by volume. The amount of active substance released was determined by UV/VIS spectroscopy. Based on the obtained dissolution profiles, the effect of the presence of alcohol in the dissolution medium on the mechanism and rate of release of the model drug tramadol hydrochloride from the studied formulations was evaluated.

KEYWORDS

Carrageenan, matrix tablets, prolonged release, tramadol hydrochloride, alcohol-induced dose dumping effect, dissolution testing

OBSAH

ÚVOD	14
1 TEORETICKÁ ČÁST	15
1.1 Řízené uvolňování léčiva	15
1.1.1 Prodloužené uvolňování.....	15
1.1.2 Zpožděné uvolňování	15
1.1.3 Pulzní uvolňování	16
1.2 Matricové tablety	16
1.2.1 Polymerní nerozpustné matricové tablety.....	16
1.2.2 Lipofilní matricové tablety.....	16
1.2.3 Hydrofilní gelové matricové tablety	17
1.3 Karagenany	17
1.3.1 Chemické složení	17
1.3.2 Vlastnosti	18
1.3.3 Použití	19
1.4 Karagenany v lékových formách s prodlouženým uvolňováním.....	20
1.5 Tramadol hydrochlorid – účinná látka	23
1.5.1 Indikace	24
1.5.2 Nežádoucí účinky.....	24
1.6 Vliv alkoholu na léčiva s prodlouženým účinkem.....	25
1.7 Matematické modely použité k vyhodnocení disolučního profilu.....	26
1.7.1 Kinetika 0. řádu.....	26
1.7.2 Kinetika I. řádu.....	26
1.7.3 Model Weibull	27
2 Experimentální část.....	28
2.1 Laboratorní přístroje a pomůcky	28
2.2 Použité chemikálie	28

2.3	Příprava a složení studovaných matricových tablet.....	29
2.4	Příprava disolučních médií.....	30
2.4.1	Disoluční médium o pH 1,2	30
2.4.2	Disoluční médium o pH 6,8	31
2.4.3	Disoluční médium o pH 1,2 s obsahem 40 obj.% ethanolu	31
2.5	Disoluční test.....	31
2.6	UV/VIS spektroskopie	32
2.7	Kalibrační křivky	33
2.7.1	Kalibrační přímka pro TH v kyselém prostředí pH 1,2	33
2.7.2	Kalibrační přímka pro TH v médiu o pH 6,8.....	33
2.7.3	Kalibrační přímka pro TH v kyselém prostředí o pH 1,2 s obsahem 40 obj. % alkoholu	34
3	Výsledky a diskuze	36
3.1	Formulace F1	36
3.2	Formulace F2	37
3.3	Formulace F3	40
3.4	Formulace F4	42
4	ZÁVĚR	44
5	POUŽITÁ LITERATURA.....	46

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Opakující se disacharidová jednotka/ převzato z [23].....	18
Obr. 2: Tři základní typy karagenanu, Kappa, Iota a Lambd/a převzato z [24].....	19
Obr. 3: Struktura Tramadol hydrochloridu	23
Obr. 4: Homogenizátor RETSCH MM200.....	30
Obr. 5: Disoluční aparatura SOTAX AT 7 Smart.....	32
Obr. 6: Kalibrační přímka pro TH v médiu o pH 1,2 - závislost absorbance na koncentraci TH	33
Obr. 7: Kalibrační přímka pro TH v médiu o pH 6,8 - závislost absorbance na koncentraci TH	34
Obr. 8: Kalibrační přímka pro TH v médiu o pH 1,2 s ethanolem (40 obj. %), závislost absorbance na koncentraci TH.....	35
Obr. 9: Disoluční profily formulace F1	36
Obr. 10: Disoluční profily formulace F2	38
Obr. 11: Formulace F2 po disolučním testu v médiu bez alkoholu.....	39
Obr. 12: Formulace F2 po disolučním testu v médiu s alkoholem	40
Obr. 13: Disoluční profily formulace F3	41
Obr. 14: Disoluční profily formulace F4	42

SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Složení jednotlivých formulací tablet (hm. %).....	29
Tab. 2: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F1 v médiu bez alkoholu po aplikaci kinetického modelu 0. řádu	37
Tab. 3: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F1 v médiu s alkoholem po aplikaci modelu Weibull.....	37
Tab. 4: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F2 po aplikaci kinetického modelu I. řádu	39
Tab. 5: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F2 po aplikaci modelu Weibull.....	39
Tab. 6: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F3 po aplikaci modelu Weibull.....	41
Tab. 7: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F4 po aplikaci modelu Weibull.....	43

SEZNAM ZKRATEK

LF	léková forma
SR	slow release = pomalé uvolňování
MR	modified release = modifikované uvolňování
CR	controlled release = kontrolované uvolňování
RET	retard
CNS	centrálně nervová soustava
G	3,6-anhydrogalaktóza
DA	D-galaktóza
TH	tramadol hydrochlorid
ADD	alcohol-induced dose dumping
MgSt	stearát hořečnatý
PTX	pentoxifylin
CG	karagenan
VPA	kyselina valproová
VPS	valproát sodný

ÚVOD

Mořské řasy se používají pro extrakci hydrokoloidů jako je agar, alginát a karagenan. Hydrokoloid je nekystalická, ve vodě rozpustná látka, jejím rozpuštěním vzniká viskózní roztok. První použití mořských řas, jako zdroj hydrokoloidů se datuje do roku 1658, kdy byl poprvé v Japonsku extrahován agar.¹

Původním zdrojem karagenanu je mořská řasa *Chondrus crispus*. Extrakt z této řasy byl poprvé použit jako lék na respirační onemocnění kolem roku 1810 v Irsku. Název karagenan pravděpodobně pochází z názvu mysu Carrigan v hrabství Donegal v severozápadním Irsku a byl poprvé použit v roce 1829. Karagenan je také označován jako Irský mech nebo přímo karagenanový mech.^{1,2}

Karagenany mají řadu využití, po dlouhou dobu jsou používány v potravinářství zejména pro svou schopnost tvořit gely. Mají také mnohé využití v kosmetice a ve farmaceutickém průmyslu. Jsou používány v různých lékových formách, jako jsou tablety, pelety, mikročástice, nanočástice. Plní funkci stabilizátoru, pojiva, matrice a také jsou používány pro řízené uvolňování léčiv.⁹ V matricových tabletách bývá často kombinován s dalšími polymery, pro dosažení lepšího profilu uvolňování. Díky přítomnosti negativně nabitých sulfátových skupin tvoří polyelektrolytové komplexy s kladně nabitými polymery.¹²

Cílem této práce je prostudovat vliv alkoholu na uvolňování modelového léčiva z matricových tablet na bázi karagenanu, který tvoří polyelektrolytový komplex s chitosanem.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Řízené uvolňování léčiva

Pojem řízené uvolňování se začal objevovat v 70. letech 20. století. Kromě výrazu řízené uvolňování se však objevovalo i pojmenování modifikované uvolňování, postupné uvolňování a prodloužené uvolňování.³ Řízené uvolňování se dále dělí na prodloužené, zpožděné a pulzní uvolňování léčiva.^{3,5}

Lékové formy s řízeným uvolňováním účinnou látku uvolňují tak, aby bylo docíleno účinné plazmatické koncentrace po potřebný časový interval. Tyto lékové formy mají celou řadu výhod oproti klasickým perorálním lékovým formám, patří k nim například snížená frekvence dávkování (např. jednou denně), čímž se zvýší „compliance“ nemocného, zajištění stálé hladiny léčiva v krvi, méně nežádoucích účinků a efektivnější terapie. Na druhou stranu, nevýhodou těchto LF jsou vyšší náklady spojené s jejich výrobou, což znamená i vyšší cenu.³⁻⁵

1.1.1 Prodloužené uvolňování

U těchto přípravků se můžeme často setkat s označením RET (retard), CR (controlled release – kontrolované uvolňování) nebo SR (slow release – pomalé uvolňování).^{3,5}

Působením léčiva s prodlouženým účinkem dochází k navození terapeutické hladiny léčivé látky v krevní plazmě po potřebnou dobu, která je delší, než by byla po aplikaci jednotlivé dávky léčiva.³⁻⁵

Prodloužené uvolňování je umožněno zvolením vhodné lékové formy, nejčastěji se používají matricové tablety nebo pelety. Pro delší působení látky se také používají různé pomocné látky – excipienty.^{3,5}

1.1.2 Zpožděné uvolňování

Použití léčivých přípravků se zpožděným uvolňováním zajišťuje uvolnění účinné látky z LF až po určité, předem stanovené době. Oddálení uvolnění léčiva je výhodné u pacientů, u nichž se vyskytují např. noční astmatické záchvaty nebo nespavost. Opožděný účinek se používá také v případě, kdy je výhodné, aby léčivo začalo působit v určité části trávicího traktu.³⁻⁵

1.1.3 Pulzní uvolňování

Při použití léčivých přípravků s pulzním uvolňováním dochází k dvoufázovému či vícefázovému uvolnění léčiva. Pulzní účinek je vhodný pro fyziologické opakované denní podání léčiva (inzulin) nebo při vzniku tolerance na podávanou účinnou látku (nitráty).^{3,5}

1.2 Matricové tablety

Matricové tablety patří mezi jednoduché lékové formy, používané zejména pro prodloužené uvolňování léčiv. Neobsahují částice, fungují jako jeden celek, účinná látka je zde zabudovaná do matricové struktury.⁵⁻⁷ Vlastnosti účinné látky, nosné pomocné látky a dalších použitých excipientů, ovlivňují konečné vlastnosti matricových tablet. Podle typu nosiče, který tvoří matici, dělíme matricové tablety na:

- polymerní nerozpustné,
- lipofilní,
- hydrofilní gelové,
- směsné matricové tablety.^{5,6}

1.2.1 Polymerní nerozpustné matricové tablety

Polymerní nerozpustné matrice jsou složeny z účinné látky, která je dispergovaná v nerozpustných polymerech (např. polyakrylát, celulóza). Tyto matrice se označují také jako skeletové tablety, protože nosný nerozpustný polymer tvoří pevnou strukturu, obsahující póry – skelet. Právě díky pórovitému skeletu dochází v gastrointestinálním traktu (GIT) k pomalému rozpouštění léčivé látky a následně k jeho prodlouženému uvolňování z tablety.^{5,6}

1.2.2 Lipofilní matricové tablety

Účinná látka je u lipofilních matric také dispergována v nosné látce. Retardující látky jsou zde lipofilního charakteru, jsou založeny na tucích a voscích, nejčastěji jsou používány mastné alkoholy, mastné kyseliny a jejich estery. Léčivá látka se z těchto matric uvolňuje erozí, kdy dochází k postupnému zmenšování tablety, které je způsobené hydrolyzou a rozpouštěním tuků a vosků, které může být vyvoláno vlivem změny pH v GIT nebo působením enzymů.^{5,6}

1.2.3 Hydrofilní gelové matricové tablety

Hydrofilní matricové tablety patří v současnosti mezi nejčastěji používané. Retardující látky jsou zde hydrofilního charakteru, používají se celulosové deriváty (např. hypromelosa), karbomery, modifikované škroby, povidon, přírodní látky (přírodní gumy, želatina, kyselina alginová).^{5,6}

Při kontaktu s vodným prostředím nebo s žaludečními šťávami dochází u hydrofilních matric ke zvlhčení a uvolnění počáteční dávky rozpuštěné léčivé látky z povrchu tablety. Hydratací polymeru vzniká gelová vrstva, která umožňuje kontinuální vstup vody do tablety a řídí další uvolnění léčiva. Gelová vrstva udržuje celistvost tablety a zabraňuje jejímu předčasnému rozpadu. Postupně se původní gelová vrstva rozpouští a nahrazuje ji nová. Léčivé látky dobře rozpustné ve vodě se uvolňují difuzí gelovou vrstvou, naopak léčiva špatně rozpustná ve vodě se uvolňují převážně erozí tablety.^{5,6}

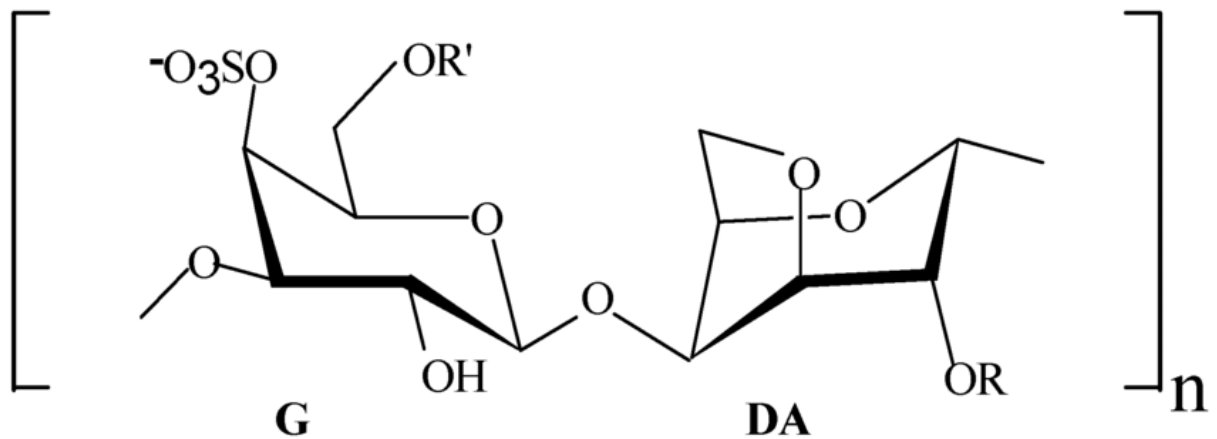
1.3 Karagenany

Karagenany jsou polysacharidy, které jsou stejně jako Agary a Furcellaran získané extrakcí z červených mořských řas čeledi *Rhodophyceae*. Tyto polysacharidy jsou deriváty lineárních galaktanů.⁸⁻¹¹ Karagenany jsou pro komerční účely především extrahovány z řas rodů *Euchema*, *Chondrus* a *Gigartina*.^{1,8,9}

Řasy *Chondrus crispus* byly pro extrakci karagenanu využity jako první. Původně se tento druh vyskytoval v Irsku, odtud se rozšířil do Francie, Kanady a Španělska. *Chondrus Crispus* obsahuje Kappa i Lambda karagenan. Nyní je však využíván v limitovaném množství, protože je extrakce z této řasy ekonomicky nevýhodná. Řasy rodu *Euchema* (*E. cottonii*, *E. spinosum*) rostou na korálových útesech na Filipínách a v Indonésii.^{1,2}

1.3.1 Chemické složení

Karagenany se skládají z opakujících se lineárních řetězců jednotek D-galaktózy a 3,6-anhydrogalaktózy. Tyto hexózy jsou střídavě spojeny $\alpha(1,3)$ a $\beta(1,4)$ glykosidickými vazbami. Součástí těchto polysacharidů jsou také síranové skupiny (Obr. 1).⁸⁻¹⁴



Obr. 1: Opakující se disacharidová jednotka/ převzato z [23]

Jednotlivé typy karagenanů se liší obsahem 3,6-anhydrogalaktózy a počtem či polohou sulfátových skupin.⁸⁻¹⁴ Zastoupení těchto složek má vliv na pevnost gelu, jeho texturu, rozpustnost a teplotu tání, proto se vlastnosti jednotlivých typů karagenanu liší.^{12,13}

κ -karagenan obsahuje 25 % sulfátových skupin, ι -karagenan 32 % a λ -karagenan 35 %.^{8,9} Obsah 3,6-anhydrogalaktózy je v κ -karagenanu 33%, v ι -karagenanu 26% a λ -karagenan obsahuje malé nebo žádné množství 3,6-anhydrogalaktózy.^{12,13}

1.3.2 Vlastnosti

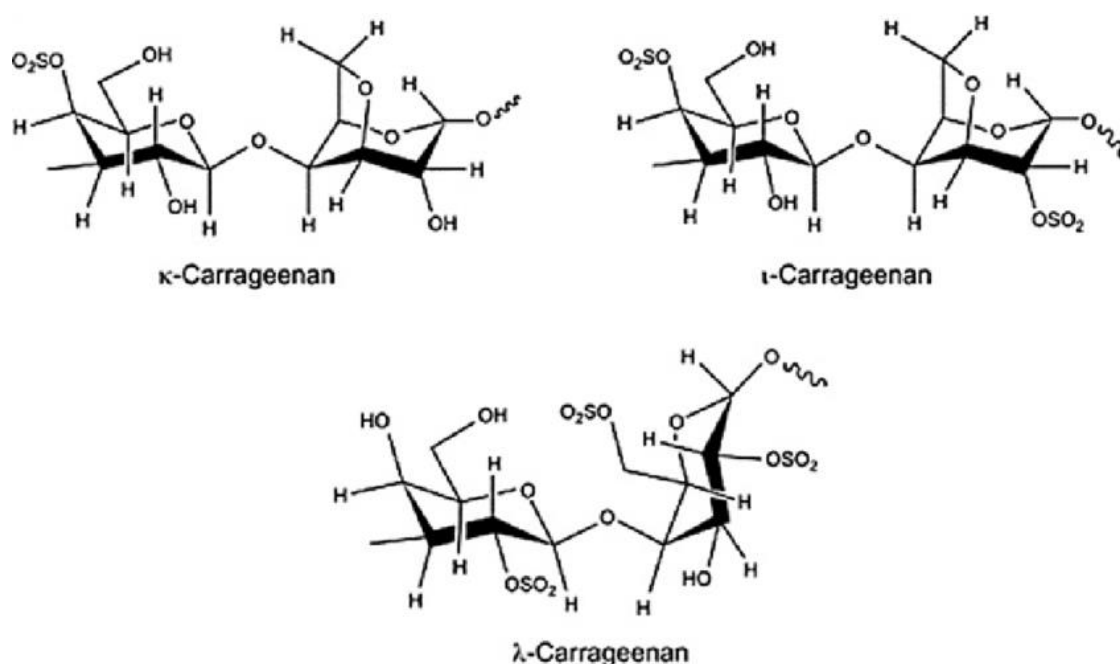
Podle polohy sulfátových skupin a přítomnosti anhydrogalaktózy, rozlišujeme 6 typů karagenanů: Kappa (κ -), Iota (ι -), Lambda (λ -), Mí (μ -), Ný (ν -) a Theta (θ -).⁸⁻¹⁴ Mí- a Ný-karagenany jsou prekurzory Kappa- a Iota- karagenanů.⁸ Komerčně nejdůležitější jsou karagenany κ , ι a λ (Obr. 2).⁸⁻¹⁴

Rozpustnost karagenanů je ovlivněna mnoha faktory – pH, teplotou, typem karagenanu, přítomností dalších látek a jejich asociovaných kationtů. Všechny typy karagenanů jsou rozpustné v horké vodě, avšak pouze sodné soli κ - a ι -karagenanu jsou rozpustné ve studené vodě. Karagenany jsou nerozpustné také v organických rozpouštědlech, jako jsou alkoholy, ethery a oleje. κ - a ι -karagenany tvoří v přítomnosti monovalentních a divalentních solí gely.¹⁴

κ -karagenan je silně gelující. Jeho schopnost tvořit gely je dána spirálovitou terciární strukturou. Obsahuje 3,6-anhydro- α -D-galaktopyranózu a jednu sulfátovou skupinu, která je navázaná na β -D-galaktopyranózu.¹⁴ Tvoří s draselnými ionty pevný a elastický gel, vápenaté gely jsou pro tvorbu gelu méně efektivní, poskytují s κ -karagenanem tuhý a křehký gel.^{1,9}

Iota-karagenan obsahuje v jednotce 2 sulfátové skupiny. Také Iota-karagenany obsahují 3,6-anhydro- α -D-galaktopyranózu, díky čemuž dokáží tvořit gely.¹⁴ Poskytují s vápenatými ionty měkký a elastický gel, mohou tvořit gel i s draselnými ionty. Výhodnou vlastností gelů tvořených Iota-karagenanem je možnost zmrazení a rozmrazení, aniž by došlo ke zničení gelu.^{1,14}

Lambda karagenany obsahují na jeden disacharid 3 sulfátové skupiny. Kvůli absenci 3,6-anhydro- α -D-galaktopyranózy netvoří v přítomnosti monovalentních a divalentních solí gely. Avšak zlepšuje viskozitu média a používá se jako zahušřovadlo. Nedávné studie ale prokázaly, že tvoří gely v přítomnosti trivalentních iontů.¹⁴



Obr. 2: Tři základní typy karagenanu, Kappa, Iota a Lambda/ převzato z [24]

1.3.3 Použití

Karagenany mají díky svým specifickým vlastnostem různorodá využití. Používají se zejména v potravinářském a farmaceutickém průmyslu, dále také v experimentální medicíně a v kosmetických produktech.¹¹ Také se přidávají do zubních past a gelových osvěžovačů.^{8,11}

V potravinářském průmyslu je karagenan označován jako emulgátor, stabilizátor nebo koloid. Je zde používán k dosažení gelové struktury, jako stabilizátor a k zahušřování. Například se používá k vylepšení konzistence čokolád, sójového mléka, mléčných výrobků, kojenecké výživy a také suplementů.¹¹

Ve farmaceutickém průmyslu má karagenan spoustu uplatnění. Používá se například do krémů a očních kapek, dále jako excipient v lékových formách.¹⁴ Je také používán ve výzkumu pro jeho schopnost indukovat zánět.¹²

Karagenan je používán v různých lékových formách (například v tabletách, čípcích, peletách, filmech, mikročasticích, nanočasticích, injekcích aj). V různých lékových formách plní odlišné funkce, může být používán jako stabilizátor, pojivo, matrice, nebo biopolymer pro řízené uvolňování léčiv.¹²

1.4 Karagenany v lékových formách s prodlouženým uvolňováním

Karagenan je pro své fyzikálně-chemické vlastnosti, jako je vysoká viskozita, molekulová hmotnost, odolnost a schopnost tvořit gel, používán v hydrofilních matricových tabletách s prodlouženým uvolňováním. Uvolňování léčiva z tablet na bázi karagenanu může ovlivnit několik faktorů: množství a typ karagenanu, druh plniv a pojiv, přítomnost některých solí (např. chlorid draselný nebo chlorid vápenatý ovlivňují bobtnání matric a tím uvolňování léčivé látky).¹²

Hydrofilní matricové tablety jsou jedny z nejpoužívanějších lékových forem s prodlouženým uvolňováním. Karagenany se používají jako matrice pro prodloužené uvolňování léčiv s nízkou biologickou dostupností. Při uvolňování léčiva hraje roli zejména složení a průměr tablety, poměr obsahu léčiva a karagenanu a iontová síla disolučního média. U léčiv schopných interakce s karagenanovou maticí dochází ke snížení zdánlivé rozpustnosti a zpomalení uvolňování léčiva, což lze použít k vývoji ve vodě rozpustných lékových forem s prodlouženým uvolňováním.¹⁴ Pro perorální formy s prodlouženým uvolňováním se nejčastěji používají hydrogely citlivé na pH. Mezi pH v žaludku a ve střevě je dostatečně velký rozdíl, aby mohl být použit polyelektrolytový hydrogel.²⁷

Kinetiku uvolňování léčiva z matricového systému definuje tvorba gelové vrstvy, ta je ovlivňována koncentrací, viskozitou a chemickou strukturou použitého polymeru jako nosiče léčiva, proto je výběr vhodného polymeru velmi důležitý. Důležitými faktory pro prodloužené uvolňování je velká kapacita gelu tvořeného polymerem, tak aby absorboval velké množství vody nebo biologické tekutiny a formování trojrozměrných hydrofilních sítí.²⁶

Často je v matricových tabletách karagenan kombinován s jiným polymerem, aby bylo dosaženo požadovaného profilu uvolňování. Karagenan je díky přítomnosti negativně

nabitých sulfátových skupin schopen tvořit polyelektrolytový komplex s kladně nabitými polymery.^{12,14}

Polyelektrolytové komplexy vznikají interakcí dvou polymerů s rozdílnými náboji, tato reakce probíhá ve vodném prostředí, jehož hodnota pH je podobná jako hodnoty pK_a kationtu a aniontu. Ke vzniku polyelektrolytových komplexů dochází především elektrostatickými interakcemi ionizovaných polyiontů, ale dochází i k dalším sekundárním reakcím. Výhodou je, že reakce probíhá samovolně, nejsou potřeba katalyzátory.²⁹ Průběh tvorby polyelektrolytového komplexu a jeho vlastnosti jsou ovlivňovány řadou faktorů, např. použitými polymery a interakcí mezi nimi, koncentrací jednotlivých látek nebo volbou vhodného rozpouštědla. Rozlišujeme 2 různé struktury polyelektrolytového komplexu, model klubka a strukturu podobnou žebříčku – zip mechanismus.³⁰

Karagenan se používá například v kombinaci s chitosanem. Chitosan je kationtový biopolymer, který vzniká částečnou deacetylací chitinu. Je v lékových formách používán pro svou biokompatibilitu, nízkou toxicitu, biologickou rozložitelnost a relativně nízké náklady na produkci. Používá se jako polymerní nosič léčiv v lékových formách s prodlouženým uvolňováním. Když je však používán samostatně, je nevýhodou jeho omezená kapacita pro prodloužené uvolňování léčiva, což je způsobené dezintegračními vlastnostmi při neutrálním pH. Proto se chitosan často používá v kombinaci s aniontovými polymery, tím vzniká nosič léčiva s lepšími schopnostmi pro prodloužené uvolňování a menší závislostí na pH. Kombinací chitosanu s aniontovými polymery vzniká polyelektrolytový komplex. Obecně je polyelektrolytový komplex tvořen nekovalentní interakcí mezi opačně nabitými polymery.²⁶

Karagenan je také možné využít v kombinaci s různými nabíjenými polymery na přípravu třívrstevných matricových tablet. Jak již bylo zmíněno výše, může karagenan také interagovat s některými léky a to vede k dalšímu poklesu rychlosti uvolňování léčiva z matrice s prodlouženým účinkem.²⁶

V roce 2015 byla publikována studie [26] zabývající se interakcí aniontových polymerů (včetně karagenanu (CG)) s chitosanem. Studie byla zaměřena na možnosti použití těchto polyelektrolytových komplexů pro prodloužené uvolňování valproátu sodného a kyseliny valproové a srovnání se systémem založeným na samotném chitosanu. Cílem této studie bylo vyvinout tablety s prodlouženým uvolňováním na bázi chitosan aniontových polymerů a otestovat proveditelnost použití tohoto systému pro prodloužené uvolňování ve vodě vysoce rozpustných léčiv. Jako modelové léčivo byla zvolena kombinace valproátu

sodného (VPS) a kyseliny valproové (VPA) v poměru 2:1. Mezi aniontové polymery, které byly v rámci studie použity, patří i karagenan. Bylo zjištěno, že použitím polyelektrolytového komplexu chitosan-karagenan bylo dosaženo pomalejšího uvolňování léčiva než při použití systémů na bázi jednotlivých polymerů. Většina léčiva byla uvolněno po 12 h působení.²⁶

V roce 2020 byla publikována studie [28] zabývající se použitím vícevrstvého polyelektrolytového komplexu Iota-karagenan/chitosan a pektin/chitosan, pro vývoj odolných a cytocompatibilních antibakteriálních povlaků s antiadhezivními vlastnostmi a antimikrobiální aktivitou. Aby byly překonány problémy způsobené bakteriální kontaminací na biomedicínských zařízeních, byl použit již zmíněný vícevrstvý polyelektrolytový komplex s 5 a 15 vrstvami zakončenými chitosanem. Byly prokázány antimikrobiální vlastnosti vůči gram pozitivním a gram negativním bakteriím. Okyselení roztoků polyelektrolytů umožňuje tvorbu polyelektrolytového komplexu s antimikrobiální aktivitou iontů NH_3^+ a vyšší hydrofilita polyelektrolytového komplexu snižuje mikrobiální adhezi. Tato práce poprvé ukazuje, že může komerční karagenan a pektin interagovat ve slabě kyselém prostředí (pH 5) za vzniku polyelektrolytového komplexu s antimikrobiální a antiadhezivní aktivitou a žádanými vlastnostmi pro tvorbu povlaků pro biomedicínské materiály a v tkáňovém inženýrství. Polyelektrolytový komplex chitosan-karagenan může zabránit usazování a růstu bakterií *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa* a mohl by také poskytnout efektivní buněčnou kulturu s vysokou rychlostí růstu buněk. Tento biomateriál lze aplikovat jako povlak na podporu hojení kolem ortopedických implantátů a také v tkáňovém inženýrství v aplikacích, které vyžadují ochranu proti šíření bakterie.²⁸

Karagenan může také díky sulfátovým skupinám reagovat s některými léky s kladným nábojem, to vede k dalšímu poklesu rychlosti uvolňování léčiva z forem s prodlouženým uvolňováním. Tento typ interakcí ovlivňuje například počáteční uvolňování léčiva salbutamol sulfátu nezávisle na pH disolučního média díky iontové interakci léčivo-polymer. Použití těchto tablet je výhodné v případech, kdy je vyžadováno uvolňování léčiva konstantní rychlostí po delší časový interval.¹²

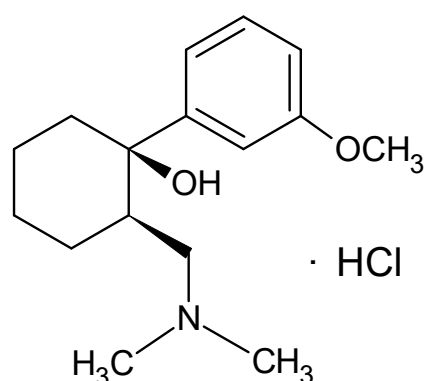
Karagenany se používají také jako pomocná látka při extruzi pelet.¹² Pelety jsou malé sférické částice, které se dále transformují na finální lék plněním do tvrdých želatinových tobolek, které se používají při formulaci a výrobě násobných lékových forem pro řízené uvolňování léčiv.³ Nejvhodnějším typem karagenanu je v tomto případě κ -karagenan, který vykazuje vhodné vlastnosti (plasticita, křehkost) v procesu sferonizace. Pelety na bázi

karagenanu se rychle rozpadají při kontaktu s vodnými médii, což vede k rychlému uvolnění léčiva.¹²

Díky svému zápornému náboji je karagenan používán v kombinaci s kladně nabitými polymery nebo kationtovými polyelektrolyty jako obal mikrokapslí a nanokapslí. Například byl karagenan použit v mikrokapslích v kombinaci se sperminem pro prodloužené uvolňování trypsinu, a také společně s chitosanem k přípravě mikrokapslí obsahujících glukózooxidázu pro perorální řízené uvolňování. Nanočástice na bázi komplexu chitosan – karagenan mají uplatnění nejen v lékových formách, ale také v tkáňovém inženýrství a regenerační medicíně. Lze je připravit za velmi mírných podmínek ve vodném prostředí na základě elektrostatické interakce.¹²

1.5 Tramadol hydrochlorid – účinná látka

Tramadol hydrochlorid (TH) je chemicky *(1RS,2RS)-2-[(dimethylamino)methyl]-1-(3-methoxyfenyl)cyclohexan-1-ol-hydrochlorid*, jedná se o bílý krystalický prášek. Jeho CAS číslo je 36282-47-0 a molekulová hmotnost 299,84 g/mol.¹⁵ Jeho struktura je znázorněna na Obr. 3.



Obr. 3: Struktura tramadol hydrochloridu

Jedná se o slabé syntetické opioidní analgetikum s duálním mechanismem účinku. Inhibuje zpětné vychytávání serotoninu a noradrenalinu v CNS a také slabě působí jako agonista na opioidní receptory μ .¹⁵⁻¹⁸ Tramadol je racemickou směsí, (-)-tramadol inhibuje zpětné vychytávání noradrenalinu a (+)-tramadol zpětné vychytávání serotoninu.¹⁷

Analgetika jsou látky snižující nebo potlačující pocit bolesti, bez toho, aniž by výrazně ovlivňovaly smyslové vnímání a vědomí. Analgetika slouží pouze k útlumu bolesti, neléčí však její příčinu. Jsou rozdělena na narkotická analgetika, opioidní analgetika a analgetika-antipyretika.¹⁸

1.5.1 Indikace

Tramadol je pro své analgetické účinky a díky tomu, že je dostupný v mnoha lékových formách, používán velmi často. Je dostupný ve formě tablet s prodlouženým účinkem (SR) i v rychle působících formách – kapky, kapsle. Jeho podání je možné perorálně, rektálně, intravenózně, intramuskulárně a také subkutánně. Výhodou je také možnost podání i u dětí.¹⁷

Používá se na akutní i chronickou bolest. Například při bolesti zad, při léčbě revmatických bolestí, neuropatické bolesti, jako pooperační analgetikum a při terapii nádorové bolesti.¹⁷

1.5.2 Nežádoucí účinky

Mezi nežádoucí účinky tramadolu patří zejména závratě a nauzea. U starších osob dochází ke kognitivnímu útlumu až dezorientovanosti a problémům s chůzí. Jiné nežádoucí účinky se vyskytují výjimečně. Nevýhodou tramadolu je v některých případech nedostatečná analgetická aktivita, avšak jeho podávání současně s paracetamolem a dalšími neopioidními analgetiky výrazně zvyšuje jeho účinnost. Výhodou je nízké riziko vzniku zácpy a také vysoká biologická dostupnost u perorální formy.¹⁷

U opioidních analgetik obecně platí, že je třeba dbát na zvýšenou opatrnost při jejich současném užívání s centrálně tlumivě působícími látkami, jako je alkohol, hypnotika, sedativa a další. U tohoto léčiva je nutné dbát zvýšené opatrnosti při vyšším dávkování a rychlém navyšování dávky pacientem. Jeho stropová dávka je 400 mg.¹⁷

Jeho hlavním aktivním metabolitem je O-desmethyltramadol (M1), který je vylučován ledvinami. Metabolická transformace M1 probíhá v játrech na izoenzymu CYP2D6 cytochromu P450. U pomalých metabolizátorů CYP2D6 nebo u pacientů, kteří užívají inhibitor tohoto enzymu (fluoxetin, duloxetin, ritonavir aj.), nemají tyto analgetika dostatečný účinek. U ultrarychlých metabolizátorů při současném užívání induktorů CYP2D6 (rifampicin, dexamethason) nebo také při snížené renální clearance, se naopak může objevit větší analgetický účinek, ale také horší nežádoucí účinky, například útlum dechu, obstipace.¹⁷

1.6 Vliv alkoholu na léčiva s prodlouženým účinkem

Léčiva s prodlouženým uvolňováním obsahují velkou dávku účinné látky, která se postupně uvolňuje. Při kombinaci těchto léčiv s alkoholem může docházet k narušení mechanismu prodlouženého uvolňování účinné látky a k rychlému uvolnění velké části nebo dokonce i celé dávky léčiva v krátkém časovém intervalu. Dochází k tzv. „alcohol-induced dose dumping“ (ADD) efektu. Tento efekt může být velkým rizikem pro pacienty a zároveň může snížit i účinnost léčiva.¹⁹

Pokud léčivo s prodlouženým účinkem obsahuje excipienty, které vykazují vyšší rozpustnost v ethanolu než ve vodě, je pravděpodobné, že u těchto léčiv bude docházet v přítomnosti ethanolu k rychlejšímu rozpuštění tablety a tím pádem k rychlejšímu uvolnění dávky.¹⁹

Fenomén dose dumping efektu byl zaznamenán v roce 2005 v USA, kdy byl stažen z trhu přípravek Palladone (účinná látka hydromorfon), který byl prodáván ve formě s prodlouženým účinkem. Bylo zjištěno, že požití hydromorfonu ve formě s prodlouženým účinkem společně s 240 ml 40 % alkoholu, má za následek až šestinásobné zvýšení plazmatické koncentrace léčiva v krvi.²⁰

V roce 2020 byla publikována studie [21], která pojednává o vlivu alkoholu na uvolňování ionizujícího (TH) a neionizujícího (PTX) léčiva z hydrofilních a lipofilních tablet a tablet s duální matricí. Mezi hlavní faktory ovlivňující uvolňování léčiva v gastrointestinálním traktu patří také přítomnost alkoholu. Čistý ethanol inhibuje vyprazdňování žaludku, z čehož plyne, že některé orální lékové formy s prodlouženým uvolňováním vykazují rychlejší uvolňování léčiva v přítomnosti požitého ethanolu v důsledku vyšší rozpustnosti léčiva a/nebo excipientů v hydroalkoholických médiích. Formulace s prodlouženým uvolňováním léčiva obsahují větší jednotkovou dávku než tablety s okamžitým uvolňováním, proto musí být mechanismus uvolňování léčiva robustní, aby se zabránilo jakékoli možnosti nekontrolovaného uvolňování léku vedoucí k dumpingu dávky. V rámci studie bylo zjištěno, že u hydrofilní a lipofilní formulace obsahující TH přidání alkoholu do disolučního média snižuje rychlost uvolňování léčiva a účinek alkoholu je významnější pro lipofilní formulaci. Obě studované směsné hydrofilně-lipofilní formulace s TH a hydrofilně-lipofilní formulace s PTX a vyšším podílem lipofilního retardantu vykazují výrazný ADD efekt.²¹

1.7 Matematické modely použité k vyhodnocení disolučního profilu

Disoluční profil léčiva se vyhodnocuje pomocí matematických modelů, které umožňují stanovit rychlost uvolňování, poločas uvolňování, difuzní koeficient a další kinetické parametry. Existuje mnoho matematických modelů, které popisují disoluční profily, např. kinetika nultého řádu, kinetika prvního řádu, Weibull model, Korsmeyer-Peppas model, Higuchiho model atd.²² V této experimentální bakalářské práci byly použity: kinetika nultého řádu, kinetika prvního řádu a Weibull model.

1.7.1 Kinetika 0. řádu

Model nultého řádu (rov. (1)) může být použit k popisu disolučního profilu například u matricových tablet s řízeným uvolňováním, transdermálních přípravků, obalených přípravků atd. Při uvolňování účinné látky kinetikou nultého řádu, dochází k uvolňování stále stejného množství látky za jednotku času. Tento model je ideálem pro prodloužené uvolňování léčiva.

$$A_t = k_0 t \quad (1)$$

V rov. (1) A_t vyjadřuje množství látky uvolněné v čase t a k_0 je rychlostní konstanta nultého řádu.²²

1.7.2 Kinetika I. řádu

Kinetický model I. řádu lze popsat rovnicí (2), která popisuje závislost rychlosti uvolňování léčiva na množství léčiva v lékové formě, která klesá v závislosti na čase

$$\ln A_{t(s)} = -k_1 t + \ln A_\infty \quad (2)$$

kde $A_{t(s)}$ vyjadřuje množství léčiva v lékové formě v čase t , k_1 je rychlostní konstanta I. řádu a A_∞ je maximální množství látky, které může být uvolněno z lékové formy. Po úpravách získáme rovnici (3) ve tvaru:

$$A_{t(l)} = A_\infty \cdot (1 - e^{-k_1 t}) \quad (3)$$

kde $A_{t(l)}$ je uvolněné množství léčiva v čase t .

U uvolňování léčiva kinetikou prvního řádu je rychlost uvolňování léčiva závislá na množství léčiva v lékové formě, to klesá v závislosti na čase, proto s časem klesá i rychlost uvolňování léčiva z lékové formy.²²

1.7.3 Model Weibull

Tento statistický model byl poprvé popsán v roce 1951 Weibullem a v roce 1972 upraven Langebucherem pro popis disolučního profilu léčiva. Tuto úpravu Weibullova modelu znázorňuje rovnice (4):

$$A_{t(l)} = A_{\infty} \cdot (1 - e^{-k_w t^n}) \quad (4)$$

kde $A_{t(l)}$ je množství uvolněného léčiva v čase t , A_{∞} je maximální možné množství léčiva, které se může z lékové formy uvolnit, k_w konstanta modelu a n charakterizuje tvar exponenciální křivky.²²

2 Experimentální část

2.1 Laboratorní přístroje a pomůcky

- Analytické váhy – Kern ALT 310-4AM (Kern&Sohn, Balingen, Německo)
- Homogenizátor – Retsch MM20 (Retsch, Haan, Německo)
- Forma pro lisování (PIKE Technologies, Madison, USA)
- Ruční lis – Trystom H-62 (Trystom spol. s.r.o., Olomouc, Česká republika)
- Disoluční aparatura – SOTAX AT7 Smart (SOTAX Pharmaceutical Testing s.r.o., Allschwil, Švýcarsko)
- UV/VIS spektrofotometr – Agilent 8453 (Agilent Technologies Waldbronn, Německo)
- Kyveta 5 mm
- Běžné laboratorní sklo

2.2 Použité chemikálie

- Destilovaná a redestilovaná voda
- HCl – kyselina chlorovodíková (p. a. čistota, Penta s.r.o., Praha, Česká republika)
- NaCl – chlorid sodný (p. a. čistota, Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, Česká republika)
- Dihydrogenfosforečnan draselný – LachNer s.r.o., Neratovice, Česká republika
- Hydroxid sodný – Penta s.r.o., Praha, Česká republika
- Ethanol (96 % v/v, Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, Česká republika)
- Tramadol hydrochlorid (Eur. Pharmacopoeia Reference Standard, Sigma Aldrich)
- Chitosan – stupeň deacetylace > 75 % (Sigma-Aldrich, Německo)
- Prosolv® SMCC 90 - JPS PHARMA GMBH & CO. KG Rosenberg, Německo
- Stearát hořečnatý – Acros Organics, USA
- Iota-karagenan – SIGMA-ALDRICH GMBH & CO. Steinheim, Německo

2.3 Příprava a složení studovaných matricových tablet

Byly studovány celkem 4 formulace matricových tablet na bázi polyelektrolytového komplexu tvořeného karagenanem a chitosanem. Tablety byly připraveny metodou přímého lisování. Složení jednotlivých formulací je uvedeno v Tab. 1. Celková hmotnost tablety činila 500 ± 5 mg. Od každé formulace byly připraveny 3 tablety, 2 s účinnou látkou a 1 slepý vzorek (blank sample). Ve slepém vzorku byla účinná látka nahrazena směsným suchým pojivem Prosolv® SMMC 90.

Jednotlivé složky byly naváženy na analytických vahách. Vzniklá směs byla homogenizována v homogenizátoru (Obr. 4) po dobu 3 min. (1 min. s intenzitou kmitání 10 kmitů/s, 1 min. s intenzitou kmitání 13 kmitů/s a 1 min. s intenzitou kmitání 15 kmitů/s). Následně byla zhomogenizovaná směs převedena do ruční lisovací jednotky a lisována po dobu pěti minut silou 8 kN. Takto připravené tablety byly použity při disolučních testech.

Tab. 1: Složení jednotlivých formulací tablet (hm. %)

Formulace	Chitosan	Karagenan	TH	MgSt	SMCC90
F1	25	25	20	1	29
F1 blank	25	25	0	1	49
F2	26,3	52,7	20	1	0
F2 blank	26,3	52,7	0	1	20
F3	19,75	59,25	20	1	0
F3 blank	19,75	59,25	0	1	20
F4	12,5	37,5	20	1	29
F4 blank	12,5	37,5	0	1	49



Obr. 4: Homogenizátor RETSCH MM200

2.4 Příprava disolučních médií

Pro provedení disoluční zkoušky byla připravena 3 disoluční média. Kyselé disoluční médium o $\text{pH} = 1,2$, které simuluje žaludeční prostředí, disoluční médium o $\text{pH} = 6,8$, (simuluje prostředí tenkého střeva) a kyselé disoluční médium s obsahem 40 obj. % ethanolu (pro testování „alcohol-induced dose dumping“ efektu). Všechna média byla připravena podle Českého lékopisu [25].

2.4.1 Disoluční médium o $\text{pH} 1,2$

Žaludeční médium o $\text{pH} 1,2$ bylo připraveno smícháním 500 ml 0,2 M roztoku NaCl, 850 ml 0,2 M roztoku HCl a doplněno redestilovanou vodou na objem 2000 ml.

0,2M roztok NaCl byl připraven z 23,38 g NaCl rozpuštěného v redestilované vodě a doplněním stejným rozpouštědlem na objem 2000 ml. 0,2M roztok HCl byl připraven z 35,3 ml 35 % kyseliny chlorovodíkové a roztok byl doplněn redestilovanou vodou na objem 2000 ml.

2.4.2 Disoluční médium o pH 6,8

Disoluční médium o pH 6,8 bylo připraveno smícháním 500 ml 0,2 M roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného s 224 ml 0,2 M hydroxidu sodného a doplněno redestilovanou vodou na objem 2000 ml.

0,2 M roztok KH_2PO_4 byl připraven rozpuštěním 54,4 g KH_2PO_4 v redestilované vodě a poté byl doplněn stejným rozpouštědlem do 500 ml. Na přípravu 500 ml 0,2 M NaOH byly rozpuštěny 4 g NaOH v redestilované vodě a roztok byl doplněn stejným rozpouštědlem na příslušný objem.

2.4.3 Disoluční médium o pH 1,2 s obsahem 40 obj.% ethanolu

Alkoholové médium bylo připraveno smícháním 200 ml ethanolu (96 obj. %) a 300 ml kyselého žaludečního média o pH 1,2.

2.5 Disoluční test

Provedené disoluční testy probíhaly dle Českého lékopisu košíčkovou metodou v disoluční aparatuře SOTAX AT7 Smart (Obr. 5). Celkem bylo provedeno 8 disolučních testů, vždy se 2 tabletami s účinnou látkou a 1 blank tabletou. U všech studovaných formulací byl proveden nejdříve disoluční test bez přítomnosti alkoholu v kyselém médiu a následně test za přítomnosti 40 obj. % ethanolu v kyselém disolučním médiu.

Při disolučních testech bez alkoholu bylo vždy odměřeno třikrát 900 ml kyselého média do prvních 3 nádob, a třikrát 900 ml fosforečnanového média do dalších 3 nádob v disoluční aparatuře. Disoluce probíhala nejdříve 2 h v kyselém médiu (pH 1,2), poté byly tablety i s košíčkem přehozeny do disolučních nádob s fosforečnanovým médiem (pH 6,8). Celková doba jednoho disolučního testu byla 18 h.

Pro provedení disolučních testů s ethanolem bylo odměřeno do prvních 3 nádob třikrát 300 ml kyselého média o pH 1,2 a 200 ml ethanolu. Do dalších 3 nádob bylo odměřeno 900 ml fosforečnanového média. Tablety byly nejdříve umístěny do kyselého média s ethanolem, kde probíhal disoluční test po dobu 2 h, a následně byly košíčky s tabletami přehozeny do disolučních nádob s médiem simulujícím prostředí tenkého střeva, kde probíhal disoluční test dalších 16 h.

Teplota disoluční lázně byla po celou dobu udržována na teplotě $37 \pm 0,5$ °C. Rychlost otáček košíčků byla 50 otáček/min. Odběry vzorků o objemu 3 ml probíhaly automaticky, první 3 vzorky byly odebírány po 10 minutách, další 3 vzorky po 30 minutách (celkem 6 vzorků z kyselého média) a dalších 16 vzorků bylo odebíráno po 60 minutách z média o pH 6,8. Všechny odebrané vzorky byly následně proměřeny pomocí UV/VIS spektroskopie.



Obr. 5: Disoluční aparatura SOTAX AT 7 Smart

2.6 UV/VIS spektroskopie

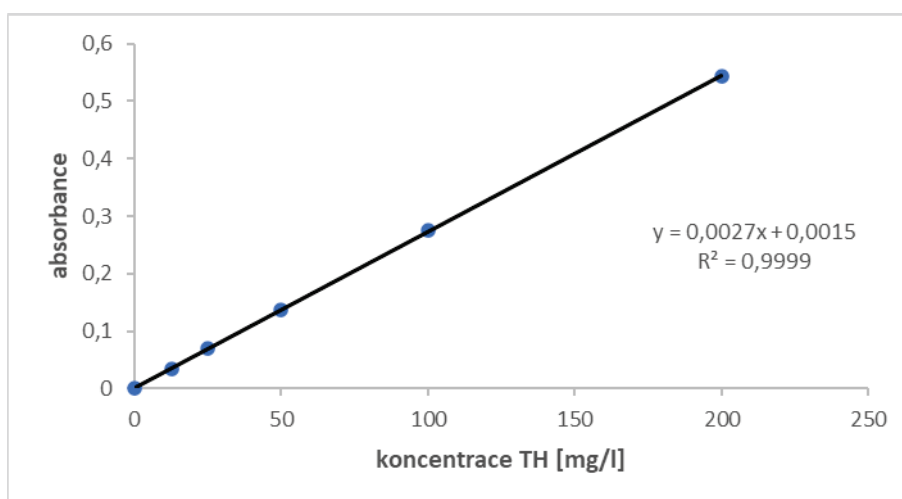
Uvolněné množství TH bylo stanovováno pomocí UV/VIS spektroskopie. Absorbance vzorků byla měřena při vlnové délce 271 nm, korekce pozadí byla nastavena na 244-300 nm. Vzorek, který obsahoval účinnou látku, byl měřen proti slepému vzorku (blank). Pro přepočítání absorbance na koncentraci byla použita metoda kalibrační křivky.

2.7 Kalibrační křivky

2.7.1 Kalibrační přímka pro TH v kyselém prostředí pH 1,2

Bylo připraveno 100 ml zásobního roztoku tramadol hydrochloridu. Na analytických vahách bylo naváženo 20 mg TH, kvantitativně převedeno do 100 ml odměrné baňky a doplněno kyselým disolučním médiem po rysku. Koncentrace roztoku byla 20 mg TH/100 ml, dvojkovým ředěním byly dále připraveny roztoky o koncentraci 10, 5, 2,5 a 1,25 mg TH/100 ml. Vzorky byly proměřeny pomocí UV/VIS spektroskopie při vlnové délce 271 nm a ze získaných hodnot byla sestavena kalibrační přímka (Obr. 6). Z grafu byla získána rovnice lineární regrese (5), která byla použita pro výpočet uvolněného množství tramadol hydrochloridu.

$$A = 0,0027c + 0,0015 \quad (5)$$

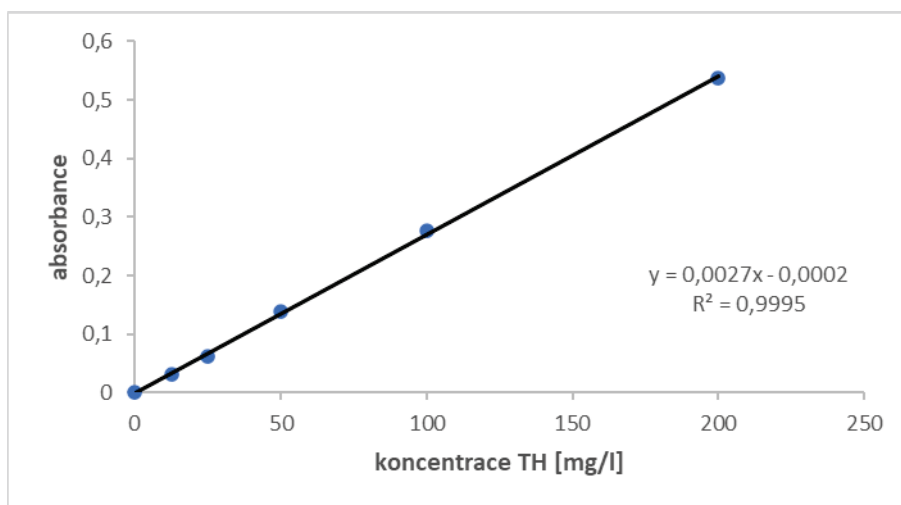


Obr. 6: Kalibrační přímka pro TH v médiu o pH 1,2 - závislost absorbance na koncentraci TH

2.7.2 Kalibrační přímka pro TH v médiu o pH 6,8

Kalibrační přímka ve fosforečnanovém médiu byla stanovena obdobným způsobem jako kalibrační přímka v kyselém médiu. Bylo připraveno 100 ml zásobního roztoku TH v médiu o pH 6,8 navážením 20 mg TH, kvantitativním převedením do 100 ml odměrné baňky a doplněním po rysku fosforečnanovým médiem. Dvojkovým ředěním byly dále připraveny roztoky o koncentraci 10, 5, 2,5 a 1,25 mg TH/100 ml. Po získání hodnot absorbance pomocí UV/VIS spektroskopie byla vytvořena kalibrační křivka (Obr. 7) a získána rovnice lineární regrese (6).

$$A = 0,0027c - 0,0002 \quad (6)$$

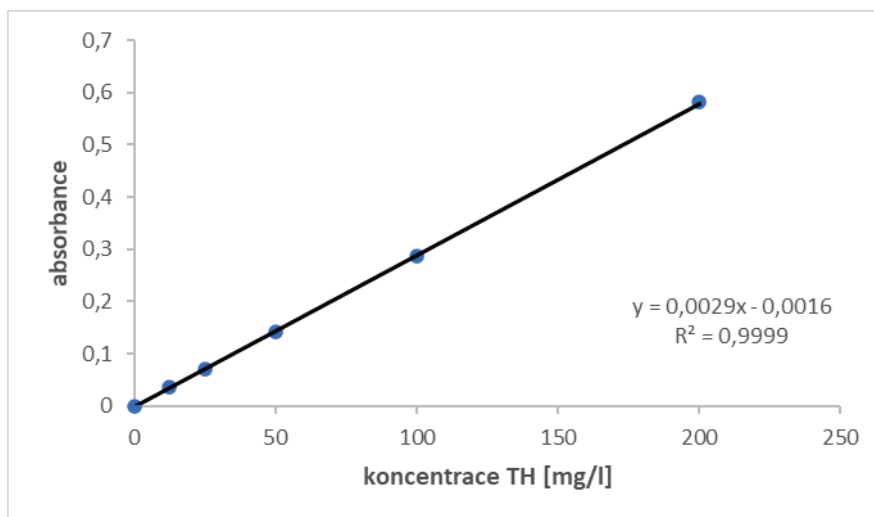


Obr. 7: Kalibrační přímka pro TH v médiu o pH 6,8 - závislost absorbance na koncentraci TH

2.7.3 Kalibrační přímka pro TH v kyselém prostředí o pH 1,2 s obsahem 40 obj. % alkoholu

Bylo připraveno 100 ml zásobního roztoku, který obsahoval 20 mg TH a byl doplněn po rysku médiem o složení 300 ml média o pH 1,2 a 200 ml ethanolu (96 obj. %). Dvojkovým ředěním byly dále připraveny roztoky o koncentraci 10, 5, 2,5 a 1,25 mg TH/100 ml. Z naměřených hodnot absorbance byla vytvořena kalibrační přímka (Obr. 8) a s použitím lineární regrese získána rovnice kalibrační přímky (7).

$$A = 0,0029c - 0,0016 \quad (7)$$



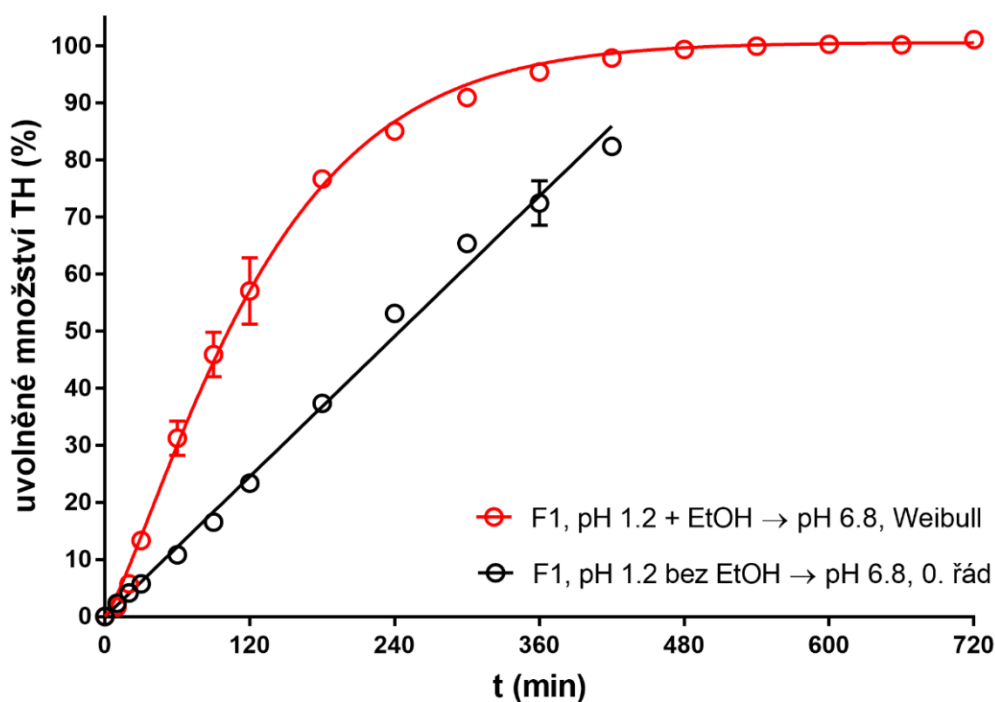
Obr. 8: Kalibrační přímka pro TH v médiu o pH 1,2 s ethanolem (40 obj. %), závislost absorbance na koncentraci TH

3 Výsledky a diskuze

Pro každou formulaci byly pomocí naměřených absorbancí, které byly následně přepočítány na koncentraci, získány disoluční profily a ty byly dále vyhodnoceny pomocí kinetických modelů 0. řádu, I. řádu a statistickým modelem Weibull.

3.1 Formulace F1

Formulace F1 obsahovala 25 % chitosanu a 25 % karagenanu (tj. 50 % komponent tvořících polyelektrolytový komplex), dále 20 % účinné látky TH, 1 % MgSt (lubrikant) a 29 % Prosolvu® SMCC 90 (směsné suché pojivo). Disoluční test byl proveden nejdříve bez přítomnosti alkoholu (černá křivka na Obr. 9) - tableta v prvních 2 hodinách testu v disolučním médiu o pH 1,2, poté 16 h v disolučním médiu o pH 6,8. S cílem prostudovat vliv alkoholu v disolučním médiu na tvorbu polyelektrolytového komplexu a rychlost uvolňování modelového léčiva byl následně proveden disoluční test v přítomnosti alkoholu (červená křivka na Obr. 9) – 2 h v hydro-alkoholovém médiu a poté 16 h v médiu o pH 6,8. Výsledky regresní analýzy disolučních profilů jsou shrnuty v Tab. 2 a 3.



Obr. 9: Disoluční profily formulace F1

Po vyhodnocení disolučních dat regresní analýzou bylo zjištěno, že disoluční profil formulace F1 v médiu bez přítomnosti alkoholu je lineární a odpovídá tak kinetice 0. řádu s vysokou hodnotou koeficientu determinace ($R^2 = 0,9946$, Tab. 2). Po 7 h disolučního testu se uvolnilo více než 80 % léčiva. Z Obr. 9 je zřejmé, že vlivem přítomnosti alkoholu v kyselém disolučním médiu (1. fáze disolučního testu) se léčivo uvolňuje rychleji v porovnání s disolučním profilem v médiu bez alkoholu. Je patrné, že vlivem alkoholu došlo ke změně mechanismu uvolňování TH. Původně lineární disoluční profil přechází vlivem alkoholu na exponenciální typ disolučního profilu, který nejlépe popisuje model Weibull. V některých bodech profilu je patrný nárůst uvolněného množství TH o cca 30 % ve srovnání s disolucí bez přítomnosti alkoholu. U formulace F1 byl takto prokázán výrazný „alcohol-induced dose dumping“ efekt.

Tab. 2: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F1 v médiu bez alkoholu po aplikaci kinetického modelu 0. řádu

Disoluční test	k_0 [mg/min]	R^2
pH 1,2 bez EtOH → pH 6,8	$0,205 \pm 0,005$	0,9978

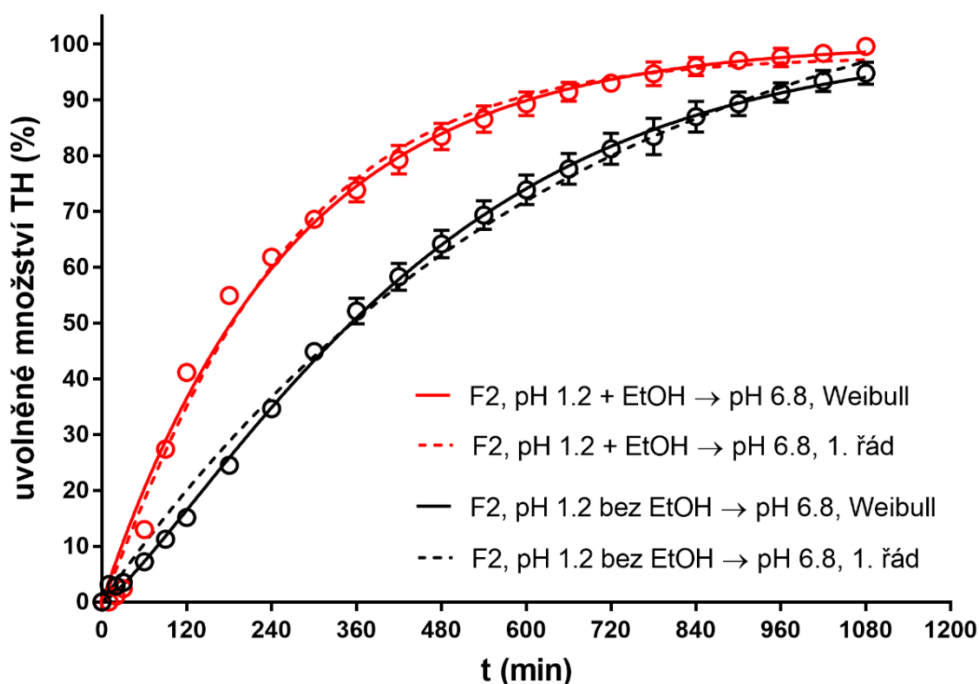
Tab. 3: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F1 v médiu s alkoholem po aplikaci modelu Weibull

Disoluční test	A_0 (%)	D	k_w (min ^{-d})	R^2
pH 1,2 s EtOH → pH 6,8	$100,6 \pm 0,6$	$1,24 \pm 0,04$	$0,0022 \pm 0,0004$	0,9978

3.2 Formulace F2

Formulace F2 obsahovala 26,3 % chitosanu a 52,7 % karagenanu (tj. 79 % komponent tvořící polyelektrolytový komplex), dále 20% účinné látky TH a 1 % MgSt (lubrikant). Disoluční test byl proveden nejdříve bez přítomnosti alkoholu (černé křivky na obr. 10) - tableta v prvních 2 hodinách testu v disolučním médiu o pH 1,2, poté 16 h v disolučním médiu o pH 6,8. S cílem prostudovat vliv alkoholu v disolučním médiu na tvorbu polyelektrolytového komplexu a rychlost uvolňování modelového léčiva byl následně proveden disoluční test v přítomnosti alkoholu (červené křivky na Obr. 10) – 2 h v hydro-

alkoholovém médiu a poté 16 h v médiu o pH 6,8. Výsledky regresní analýzy disolučních profilů jsou shrnuty v Tab. 4 a 5.



Obr. 10: Disoluční profily formulace F2

Po vyhodnocení disolučních dat regresní analýzou bylo zjištěno, že disoluční profil formulace F2 jak v médiu bez alkoholu, tak v médiu s alkoholem je exponenciální a odpovídá kinetice I. řádu (čárkované křivky na Obr. 10) s vysokou hodnotou koeficientu determinace (v médiu bez alkoholu $R^2 = 0,9945$ a v médiu s alkoholem $R^2 = 0,9914$, Tab. 4). Z vyhodnocených disolučních profilů na Obr. 10 jsou zřejmé nevýznamné rozdíly mezi proložením profilů kinetickým modelem I. řádu (čárkované křivky na Obr. 10) a statistickým modelem Weibull (křivky plnou čarou na Obr. 10), o čemž svědčí i hodnoty koeficientu determinace R^2 (Tab. 4 a 5).

U formulace F2 se v médiu bez alkoholu po 18 h disolučního testu uvolnilo více než 90 % léčiva. Z Obr. 12 je zřejmé, že, vlivem přítomnosti alkoholu v kyselém disolučním médiu (1. fáze disolučního testu) se léčivo uvolňuje rychleji v porovnání s disolučním profilem v médiu bez alkoholu. V některých bodech je patrný nárůst uvolněného množství TH cca o 30 % ve srovnání s disolucí bez přítomnosti alkoholu, což je srovnatelné s disolucí formulace F1. U formulace F2 však na rozdíl od formulace F1 nedochází ke změně

mechanismu uvolňování TH (disoluce v obou médiích odpovídá kinetice I. řádu). U formulace F2 byl stejně jako u formulace F1 prokázán výrazný „alcohol-induced dose dumping“ efekt.

Tab. 4: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F2 po aplikaci kinetického modelu I. řádu

Disoluční test	A_{∞} (%)	k_1 (min^{-1})	R^2
pH 1,2 bez EtOH	$120,2 \pm 3,4$	$0,0015 \pm 0,00008$	0,9945
pH 1,2 s EtOH	$100,3 \pm 1,2$	$0,0038 \pm 0,00015$	0,9914

Tab. 5: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F2 po aplikaci modelu Weibull

Disoluční test	A_0 (%)	D	k_w (min^{-d})	R^2
pH 1,2 bez EtOH	$100,1 \pm 1,7$	$1,25 \pm 0,03$	$0,00045 \pm 0,00008$	0,9978
pH 1,2 s EtOH	$97,9 \pm 1,2$	$1,10 \pm 0,05$	$0,0023 \pm 0,0005$	0,9925

Na Obr. 11 a 12 jsou ilustrativní fotky tablet bezprostředně po vytažení z disolučního média (Obr. 11 tablety po disoluci v médiu bez alkoholu, Obr. 12 tablety po disoluci v médiu s alkoholem). U těchto nabobtnalých tablet je vidět, že míra absorpce disolučního média formulace F2 s alkoholem je zřejmě vyšší než je tomu u formulace F2 bez alkoholu.



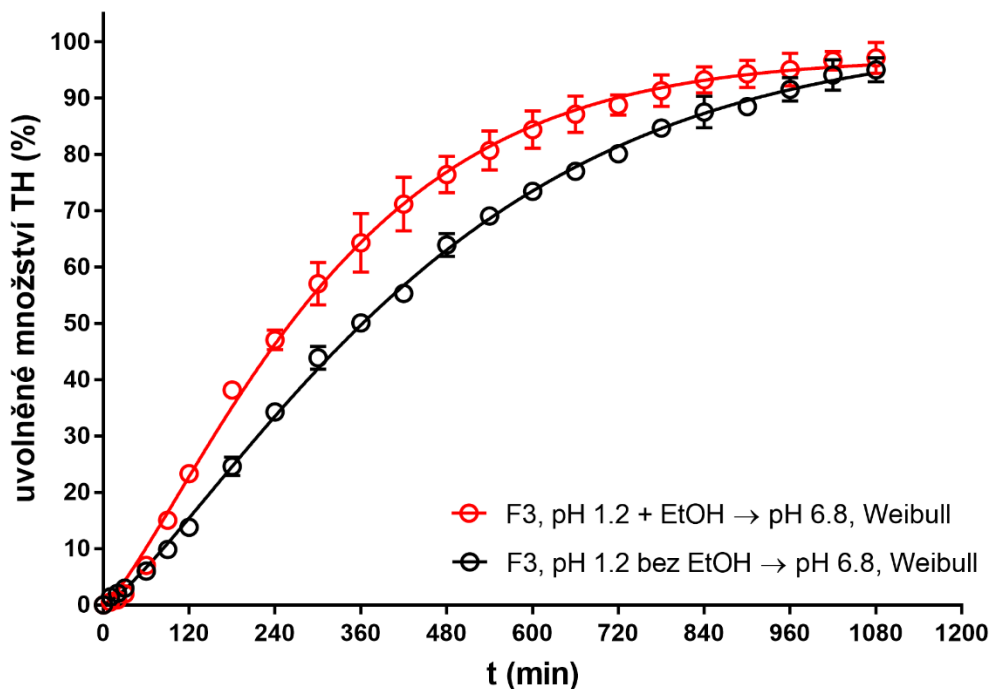
Obr. 11: Formulace F2 po disolučním testu v médiu bez alkoholu



Obr. 12: Formulace F2 po disolučním testu v médiu s alkoholem

3.3 Formulace F3

Formulace F3 obsahovala 19,75 % chitosanu a 59,25 % karagenanu (tj. 79 % komponent tvořících polyelektrolytový komplex), 20% účinné látky TH a 1 % MgSt (lubrikant). Disoluční test byl proveden nejdříve bez přítomnosti alkoholu (černá křivka na Obr. 13) - tableta v prvních 2 hodinách testu v disolučním médiu o pH 1,2, poté 16 h v disolučním médiu o pH 6,8. S cílem prostudovat vliv alkoholu v disolučním médiu na tvorbu polyelektrolytového komplexu a rychlost uvolňování modelového léčiva byl následně proveden disoluční test v přítomnosti alkoholu (červená křivka na Obr. 13) – 2 h v hydroalkoholovém médiu a poté 16 h v médiu o pH 6,8. Výsledky regresní analýzy disolučních profilů jsou shrnuty v Tab. 6.



Obr. 13: Disoluční profily formulace F3

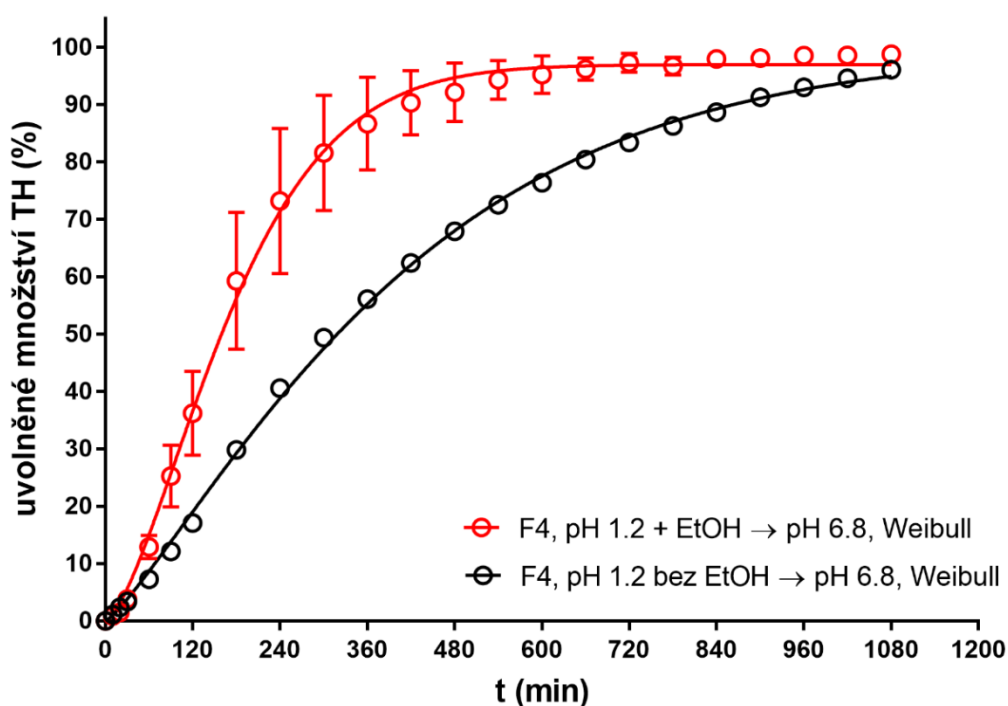
Po vyhodnocení disolučních dat regresní analýzou bylo zjištěno, že disoluční profil formulace F3 jak v médiu bez alkoholu, tak v médiu s alkoholem je exponenciální a odpovídá modelu Weibull s vysokou hodnotou koeficientu determinace (v médiu bez alkoholu $R^2 = 0,9986$ a v médiu s alkoholem $R^2 = 0,9962$, Tab. 6) U formulace F3 v médiu bez alkoholu se po 18 h disolučního testu uvolnilo více než 90 % léčiva. Z Obr. 13 je zřejmé, že vlivem přítomnosti alkoholu v kyselém disolučním médiu (1. fáze disolučního testu) se léčivo uvolňuje rychleji v porovnání s disolučním profilem v médiu bez alkoholu. V některých bodech je patrný nárůst uvolněného množství TH cca o 20 % ve srovnání s disolucí bez přítomnosti alkoholu, což je nižší hodnota ve srovnání s formulacemi F1 a F2, přesto byl i u formulace F3 takto prokázán výrazný „alcohol-induced dose dumping“ efekt.

Tab. 6: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F3 po aplikaci modelu Weibull

Disoluční test	A_0 (%)	D	k_w (min ^{-d})	R^2
pH 1,2 bez EtOH	$100,8 \pm 1,4$	$1,28 \pm 0,027$	$0,00036 \pm 0,00005$	0,9986
pH 1,2 s EtOH	$97,2 \pm 1,1$	$1,28 \pm 0,039$	$0,00060 \pm 0,00013$	0,9962

3.4 Formulace F4

Formulace F4 obsahovala 12,5 % chitosanu, 37,5 % karagenanu (tj. 50 % komponent tvořících polyelektrolytový komplex), 20% účinné látky TH, 1 % MgSt (lubrikant) a 29 % Prosolvu® SMCC 90. Disoluční test byl proveden nejdříve bez přítomnosti alkoholu (černá křivka na Obr. 14) - tableta v prvních 2 hodinách testu v disolučním médiu o pH 1,2, poté 16 h v disolučním médiu o pH 6,8. S cílem prostudovat vliv alkoholu v disolučním médiu na tvorbu polyelektrolytového komplexu a rychlost uvolňování modelového léčiva byl následně proveden disoluční test v přítomnosti alkoholu (červená křivka na Obr. 14) – 2 h v hydroalkoholovém médiu a poté 16 h v médiu o pH 6,8. Výsledky regresní analýzy disolučních profilů jsou shrnuty v Tab. 7.



Obr. 14: Disoluční profily formulace F4

Po vyhodnocení disolučních dat regresní analýzou bylo zjištěno, že disoluční profily formulace F4 v médiu bez alkoholu i v médiu s alkoholem jsou exponenciální a odpovídají modelu Weibull s vysokou hodnotou koeficientu determinace (v médiu bez alkoholu $R^2 = 0,9991$ a v médiu s alkoholem $R^2 = 0,9890$). U formulace F4 v médiu bez alkoholu se po 18 h disolučního testu uvolnilo cca 95 % léčiva. Z Obr. 14 je zřejmé, že vlivem přítomnosti alkoholu v kyselém disolučním médiu (1. fáze disolučního testu) se léčivo uvolňuje rychleji

v porovnání s disolučním profilem v médiu bez alkoholu. V některých bodech je patrný nárůst uvolněného množství TH cca o 30 % ve srovnání s disolucí bez přítomnosti alkoholu, ale nedochází ke změně mechanismu uvolňování TH (stejný tvar disolučních profilů). U formulace F4 byl takto prokázán výrazný „alcohol-induced dose dumping“ efekt, stejně jako u formulací F1-F3. Na Obr. 14 u disoluce v hydro-alkoholovém médiu jsou patrné velké směrodatné odchylky v jednotlivých odběrových bodech, což je zřejmě způsobeno značným nárůstem objemu tablety, ke kterému dochází vlivem bobtnání. U disoluce v kyselém prostředí byl stupeň bobtnání nižší, což se projevilo minimálním rozptylem uvolněného množství TH v jednotlivých odběrových bodech (rozptyl ve velikosti bodu).

Tab. 7: Výsledek regresní analýzy disolučního profilu F4 po aplikaci modelu Weibull

Disoluční test	A_0 (%)	D	k_w (min ^{-d})	R^2
pH 1,2 bez EtOH	99,5 ± 0,91	1,22 ± 0,02	0,0006 ± 0,00007	0,9991
pH 1,2 s EtOH	97,0 ± 0,95	1,49 ± 0,08	0,0004 ± 0,00015	0,9890

4 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývá matricovými tabletami na bázi polyelektrolytového komplexu, který je v tomto případě tvořen karagenanem a chitosanem. Jedná se o matricové tablety s prodlouženým uvolňováním účinné látky. Cílem práce bylo prostudovat vliv alkoholu na uvolňování modelového léčiva tramadol hydrochloridu z tohoto typu matricových tablet.

Metodou přímého lisování byly připraveny 4 formulace matricových tablet s obsahem 50 a 79 % komponent tvořících polyelektrolytový komplex (chitosan a karagenan) a s různým poměrem těchto komponent. S cílem prostudovat vliv alkoholu na tvorbu polyelektrolytového komplexu a následně na rychlost a mechanismus uvolňování modelového léčiva ze studovaných tablet byly provedeny disoluční testy v médiu bez alkoholu a v médiu s obsahem 40 obj. % alkoholu. Množství uvolněné účinné látky bylo stanoveno pomocí UV/VIS spektroskopie.

Získaná data z disolučních testů byla vyhodnocena regresní analýzou disolučních profilů s využitím vhodných matematických modelů (kinetický model nultého řádu, prvního řádu a statistický model Weibull).

Výsledky disolučních testů a následné vyhodnocení disolučních profilů prokázaly, že alkohol v disolučním médiu urychluje uvolňování účinné látky tramadol hydrochloridu ze studovaných tablet. U všech studovaných formulací se v žaludečním disolučním médiu s 40 % ethanolem uvolňovala účinná látka rychleji než v žaludečním médiu bez alkoholu. U formulace F1, F2 a F4 je v některých bodech profilu patrný nárůst uvolněného množství TH o cca 30 % ve srovnání s disolucí bez přítomnosti alkoholu, pro formulaci F2 je nárůst v některých bodech profilu o cca 20 %. U formulace F1 došlo také k výrazné změně mechanismu uvolňování TH z lineární závislosti (kinetika 0. řádu) na exponenciální závislost odpovídající kinetice I. řádu. U všech formulací je tak znatelný výrazný „alcohol-induced dose dumping“ efekt. K tomuto efektu u studovaných formulací dochází patrně vlivem alkoholu na tvorbu polyelektrolytového komplexu. Tablety výrazně zvětšily svůj objem v průběhu disolučního testu, ale vznikající gelová vrstva nebyla dostatečně kompaktní a umožnila rychlou difuzi vysoce rozpustného tramadol hydrochloridu do disolučního média. Alespoň částečně potlačit vliv alkoholu na tvorbu polyelektrolytového komplexu by bylo

možné např. pomocí potahování tablet vhodně zvoleným polymerním materiálem, patrně však na úkor tvorby gelové vrstvy polyelektrolytového komplexu karagenan-chitosan.

5 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] MCHUGH, Dennis J. A guide to the seaweed industry. Rome: *Food and Agriculture Organization of the United Nations* [online]. 2003, 61-71 [cit. 12.4.2021]. ISSN 0429-9345.
- [2] Carrageenans. The Seaweed Site: information on marine algae [online]. 2014[cit. 12. 4. 2021]. Dostupné z: http://www.seaweed.ie/uses_general/carrageenans.php
- [3] RABIŠKOVÁ, Miloslava. Pelety – moderní perorální léková forma. *Remedia* [online]. 2006, **16**(6), 605-608 [cit. 12.4.2021]. ISSN 2336-3541. Dostupné z: <http://www.remédia.cz/Clanky/Lekove-formy/Pelety-moderni-peroralni-lekova-forma/6-H-h8.magarticle.aspx>
- [4] DOSTÁLEK, Miroslav. Farmakokinetika. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1464-7.
- [5] RABIŠKOVÁ, Miloslava, FRIČOVÁ, Vítězslava. Perorální formy s řízeným uvolňováním léčiv. *Praktické lékárenství* [online]. 2008, **4**(4), 186-190 [cit. 12.4.2021]. ISSN 1803-5329. Dostupné z: https://www.praktickelekarenstvi.cz/artkey/lek-200804-0009_Peroralni_formy_s_rizenym_uvolnovanim_leciv.php
- [6] RABIŠKOVÁ, Miloslava. Perorální matricové tablety s řízeným uvolňováním léčiva. *Remedia* [online]. 2007, **17**(2), 188-192 [cit. 12. 4. 2021]. ISSN 2336-3541. Dostupné z: <http://www.remédia.cz/Clanky/Lekove-formy/Peroralni-matricove-tablety-s-rizenymuvolnovanim-leciva/6-H-hD.magarticle.aspx>.
- [7] LÜLLMANN, Heinz, Klaus MOHR a Lutz HEIN. Barevný atlas farmakologie. 5. české vydání. Přeložil Jiří SLÍVA. Praha: Grada Publishing, 2020. ISBN 978-80-271-2271-4.
- [8] BEMILLER, James, N. Gums. *John Wiley & sons* [online]. 2005, **13** [cit. 12.4.2021]
- [9] CAMPO, V. L., KAWANO, D. F., SILVA, D. B. da, CARVALHO, I. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. *Carbohydr. Polym* [online]. 2009; **77**(2), 167-180. [cit. 12.4.2021] ISSN 0144-8617

- [10] RINAUDO, Marguerite. Polysaccharides. *John Wiley & sons* [online]. 2005, **20** [cit. 12.4.2021]
- [11] NECAS, J., BARTOSIKOVA, L. Carrageenan: A review. *Vet. Med.* [online]. 2013, **58**, 187-205 [cit. 12.4.2021] ISSN 1805-9392
- [12] LI, L., NI, R., SHAO, Y., MAO, S. Carrageenan and its applications in drug delivery. *Carbohydr. Polym* [online]. 2014, 103, 1-11 [cit. 12.4.2021] ISSN 0144-8617
- [13] PHILLIPS, G. O., WILLIAMS, P. A. Handbook of hydrocolloid. *Woodhead Publishing Limited*. second ed, 2009. ISBN 9781845695873
- [14] PACHECO-QUITO, E-M., RUIZ-CARO, R., VEIGA, M-D. Carrageenan: Drug Delivery Systems and Other Biomedical Applications. *Mar. Drugs*. 2020 [online]. **18**(11), s. 583 [cit. 28.5.2021] ISSN 1660-3397
- [15] Tramadol. *The Merck Index* [online]. Whitehouse Station (New Jersey): Royal Society of Chemistry, ©2021. Last Revised 2013 [cit. 28. 5. 2021]. Dostupné z: <https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/m10996/tramadol%20derivaticve%20hydrochloride?q=authorize>
- [16] NOSKOVÁ, P. Tramadol v orálně dispergovatelné formě. *Remedia* [online]. 2012, **2012**(4), 302-304 [cit. 28.5. 2021]. Dostupné z: <http://www.remedia.cz/Clanky/Aktuality/Tramadol-v-oralne-dispergovatelne-forme/6-E-1kF.magarticle.aspx>
- [17] KOZÁK, Jiří, LEJČKO, Jan, VRBA, Ivan. Opioidy. Praha: Mladá fronta, 2018. Aeskulap. ISBN 978-80-204-4550-6.
- [18] HAMPL, František, RÁDL, Stanislav, PALEČEK, Jaroslav. Farmakochemie. 3. upravené a rozšířené vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2015. ISBN 978-80-7080-875-7.
- [19] MEYER, Robert, J., HUSSAIN, M., D., HUSSAIN Ajaz, S. Mitigating the risks of ethanol induced dose dumping from oral sustained/controlled release dosage forms. *FDA's ACPS Meeting*, 2005.
- [20] FDA, 2005b. Hydromorphone hydrochloride extended release capsules (marketed as Palladone™). *FDA*, 2005.

- [21] LOCHAŘ, V., KOMERSOVÁ, A., MATZICK, K., SLEZÁKOVÁ, B., BARTOŠ, M., MUŽÍKOVÁ, J., HADDOUCHI, S. The effect of alcohol on ionizing and nonionizing drug release from hydrophilic, lipophilic and dual matrix tablets. *Saudi Pharmaceutical Journal* [online]. 2020, **28**(2), 187-195 [cit. 29.5.2021]. ISSN 13190164.
- [22] MUSELÍK, J., KOMERSOVÁ, A., LOCHAŘ, V. a KUBOVÁ, K. Regresní analýza disolučního profilu léčiva a odhad mechanismu uvolňování léčiva. *Chem. Listy* [online]. 2019, **113**(5), 328-336.
- [23] Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/Idealized-repeating-structure-of-carrageenan-G-1-3-linked-D-galactose-and-DA-1_fig3_226272175
- [24] Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/The-3-basic-types-of-carrageenan-Kappa-Iota-and-Lambda_fig2_346034300
- [25] Český lékopis 2009 [online]. Praha: Grada, 2009 [cit. 8.7.2021]
- [26] SHAO, Yang, LI, Liang, GU, Xiangqin, WANG, Linlin, MAO, Shirui. Evaluation of chitosan-anionic polymers based tablets for extended-release of highly water-soluble drugs. *Asian journal of pharmaceutical sciences* [online]. 2015, **10**, 24-30 [cit. 7. 7. 2021]. ISSN 1818-0876.
- [27] TAPIA, C., CORBALAN, V., COSTA, E. GAI, M. N., YAZDANI-PEDRAM, M. Study of the Release Mechanism of Diltiazem Hydrochloride from Matrices Based on Chitosan-Alginate and Chitosan-Carrageenan Mixtures. *Biomacromolecules* [online]. 2005, **6**(5), 2389-2395 [cit. 8. 7. 2021]. ISSN 1525-7797.
- [28] MARTINS, Alessandro F., VLCEK, Jessi, WIGMOSTA, Tara, HEDAYATI, Mohammadhasan, REYNOLDS, Melissa M., POPAT, Ketul C. KIPPER, Matt J. Chitosan/iota-carrageenan and chitosan/pectin polyelectrolyte multiplayer scaffolds with antiadhesive and bactericidal properties. *Applied Surface Science* [online]. 2020, **502**, [cit. 8. 7. 2021] 144282
- [29] DOBRYNIN, A, RUBINSTEIN, M. Theory of polyelectrolytes in solutions and at surfaces. *Progress in Polymer Science* [online]. 2005, **30**(11), 1049-1118, [cit. 8. 7. 2021] ISSN 00796700.
- [30] THÜNEMANN, Andreas F., MÜLLER, Martin, DAUTZENBERG, Herbert, JOANNY, Jean-François, LÖWEN, Hartmut. Polyelectrolyte Complexes. *Polyelectrolytes with Defined Molecular Architecture II*. Berlin, Heidelberg:

Springer Berlin Heidelberg [online]. 2004, 4(1), 113-171, [cit. 8. 7. 2021] ISSN 00063495.