

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Studium a charakterizace matricových tablet na bázi biopolymerů

Bc. Kamila Žaláková

Diplomová práce

2021

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Study and characterization of matrix tablets based on biopolymers

Bc. Kamila Žaláková

Master Thesis

2021

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

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

Jméno a příjmení: **Bc. Kamila Žaláková**
Osobní číslo: **C19576**
Studijní program: **N1407 Chemie**
Studijní obor: **Analytická chemie**
Téma práce: **Studium a charakterizace matricových tablet na bázi biopolymerů**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte stručnou literární rešerši na téma: vlastnosti karagenanu z hlediska tvorby polyelektrolytového komplexu.
2. Charakterizujte předložené vzorky matricových tablet pomocí SEM a FTIR.
3. Proveďte disoluční zkoušku matricových tablet s karagenanem v disolučním médiu o pH 1,2, 4,5 a 6,8.
4. Na základě experimentálních dat porovnejte vliv disolučního média na tvorbu polyelektrolytového komplexu v matricových tabletách.

Rozsah pracovní zprávy:

Rozsah grafických prací:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Václav Lochař, Ph.D.**

Katedra fyzikální chemie

Konzultant diplomové práce: **Ing. Martin Bartoš, CSc.**

Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **5. února 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Studium a charakterizace matricových tablet na bázi biopolymerů jsem 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 souvisejícím 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

Kamila Žaláková v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych na tomto místě chtěla poděkovat vedoucímu mé diplomové práce Ing. Václavu Lochařovi, Ph.D. a konzultantovi Ing. Martinu Bartošovi, CSc. za jejich odborné vedení, rady a trpělivost při zpracování této práce. Také bych chtěla poděkovat své rodině a příteli za pomoc a podporu během studia.

ANOTACE

Tato diplomová práce se zabývá charakterizací matricových tablet na bázi karagenanu a chitosanu. Předložené matricové tablety byly charakterizovány pomocí techniky SEM a FTIR spektroskopie. Součástí této práce je studium vlastností karagenanu z hlediska tvorby polyelektrolytového komplexu. Pro posouzení vlivu disolučního média na tvorbu polyelektrolytového komplexu v matricových tabletách s karagenanem byl proveden disoluční test s využitím disolučních médií o pH 1,2, 4,5 a 6,8. Pomocí zaznamenávání úbytku hmotnosti tablet byly stanoveny indexy bobtnání, eroze a míry absorpce disolučního média. Na základě provedení disoluční zkoušky zkoumaných matricových tablet byly získány disoluční profily, které byly popsány matematickými modely.

KLÍČOVÁ SLOVA

polyelektrolytový komplex, karagenan, disoluční test, SEM, FTIR spektroskopie

TITLE

Study and characterization of matrix tablets based on biopolymers

ANNOTATION

This diploma thesis deals with the characterization of matrix tablets based on carrageenan and chitosan. The present matrix tablets were characterized by SEM and FTIR spectroscopy. Part of this work is the study of the properties of carrageenan in terms of polyelectrolyte complex formation. To assess the effect of the dissolution medium on the formation of a polyelectrolyte complex in matrix tablets with carrageenan, a dissolution test was performed using dissolution media of pH 1.2, 4.5 and 6.8. Swelling indices, erosion, and absorption rates of the dissolution medium were determined by recording tablet weight loss. Based on the dissolution test of the investigated matrix tablets, dissolution profiles were obtained, which were described by mathematical models.

KEYWORDS

polyelectrolyte complex, carrageenan, dissolution test, SEM, FTIR spectroscopy

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	10
SEZNAM TABULEK	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
ÚVOD	12
1 TEORETICKÁ ČÁST	13
1.1 Biopolymery	13
1.2 Polyelektrolytový komplex	13
1.2.1 Klasifikace	14
1.2.2 Strukturní modely	14
1.2.3 Mechanismus vzniku	15
1.3 Chitosan-karagenanový PEC	15
1.3.1 Vlastnosti chitosan-karagenanového PEC	15
1.4 Charakterizace matricových tablet	19
1.4.1 SEM	20
1.4.2 FTIR spektroskopie	22
1.4.3 Zkouška rozpadavosti matricových tablet	23
1.4.4 Disoluční zkouška	24
1.4.5 Index bobtnání a eroze	27
1.5 Matematické zpracování disolučních profilů	28
1.5.1 Model 0. řádu	28
1.5.2 Model 1. řádu	29
1.5.3 Model n-tého řádu	29
1.5.4 Weibullův model	29
1.5.5 Model Korsmeyerův-Peppasův	30
1.5.6 Model dle Higuchiho	31
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	33
2.1 Laboratorní přístroje a pomůcky	33
2.2 Využité PC programy	33
2.3 Použité chemikálie	33
2.4 Příprava použitých disolučních médií	34
2.5 Matricové tablety	34
2.6 Charakterizace tablet pomocí SEM	35
2.7 Charakterizace tablet pomocí FTIR spektroskopie	36
2.8 Disoluční zkouška tablet	36

2.9	Stanovení indexů.....	37
2.10	Stanovení kyseliny salicylové pomocí UV/VIS spekter	37
3	VÝSLEDKY	39
3.1	SEM.....	39
3.1.1	Pozorování SEM	39
3.1.2	Analýza EDX.....	39
3.1.3	Pozorování tablet po disoluci.....	41
3.2	FTIR spektra studovaných tablet	41
3.3	Disoluční test.....	48
3.3.1	Disoluční profil matricových tablet	48
3.4	Vizuální popis tablet	51
3.5	Indexy.....	53
3.6	Diskuse výsledků	54
4	ZÁVĚR	57
5	LITERATURA	58

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1 - Plně automatizovaný přístroj ZT 720 pro zkoušku rozpadavosti od firmy Erweka (převzato z [30]).....	24
Obrázek 2 - Schéma košíčku a disoluční nádoby s košíčkem (převzato z [15]).....	25
Obrázek 3 - Schéma využití tablet.....	35
Obrázek 4 - Schéma provedení disoluční zkoušky.....	37
Obrázek 5 - Povrch matricových tablet při šířce zorného pole 7 mm.....	40
Obrázek 6 - Povrch matricových tablet při šířce zorného pole 1 mm.....	40
Obrázek 7 - Snímek matricových tablet po provedení disoluční zkoušky (šířka zorného pole 1 mm).....	41
Obrázek 8 - Infračervené spektrum čistého chitosanu a karagenanu	42
Obrázek 9 - Spektrum tablety bez účinné látky pro formulaci F6N.....	42
Obrázek 10 - Spektrum tablety bez účinné látky pro formulaci F17N.....	43
Obrázek 11 - Spektrum tablety bez účinné látky pro formulaci F18N.....	43
Obrázek 12 - Spektrum tablety s účinnou látkou - formulace F6N.....	45
Obrázek 13 - Spektrum tablety s účinnou látkou - formulace F17N.....	46
Obrázek 14 - Spektrum tablety s účinnou látkou - formulace F18N.....	47
Obrázek 15 - Tableta před disoluční zkouškou	48
Obrázek 16 - Množství uvolněné kyseliny salicylové v závislosti na čase u formulace F6N	49
Obrázek 17 - Množství uvolněné kyseliny salicylové v závislosti na čase u formulace F17N.....	50
Obrázek 18 - Množství uvolněné kyseliny salicylové v závislosti na čase u formulace F18N.....	50
Obrázek 19 - Tablety po disoluční zkoušce	52
Obrázek 20 - Tablety po 24-hodinovém sušení.....	52
Obrázek 21 - Srovnání disolučních profilů	56

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - Hodnoty exponentu n podle mechanismu uvolňování léku na základě různé geometrie matric [16,37,38].....	31
Tabulka 2 - Složení matricových tablet.....	34
Tabulka 3 - Vlnočty charakteristické pro chitosan, karagenan a jejich PEC	44
Tabulka 4 - Hmotnosti tablet a indexy pro jednotlivé formulace tablet.....	54

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

PEC	polyelektrolytový komplex
CG	karagenan
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
FIR	spektroskopie ve vzdálené infračervené oblasti
MIR	spektroskopie ve střední infračervené oblasti
NIR	spektroskopie v blízká infračervené oblasti
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
GIT	gastrointestinální trakt
KBr	bromid draselný

ÚVOD

V posledních letech se zvýšil zájem o využití polyelektrolytových komplexů (PEC) na bázi přírodních biopolymerů v mnoha oborech. Jelikož mají rozsáhlé funkční vlastnosti, lze je využívat v různých vědeckých i technologických oblastech. Nacházejí časté využití v medicíně a tkáňovém inženýrství, farmacii či pro výrobu biomateriálů a různé kosmetiky^[1,2].

Nejvýznamnější oblastí využití je vývoj nových systémů dodávání léčiv s řízeným uvolňováním léčiva. Za tímto účelem bylo studováno mnoho PEC vzniklých různou kombinací biopolymerů. Díky vhodnému výběru polyelektrolytů se získají PEC s novými funkčními vlastnostmi, které rozšiřují možnost jejich využití. Můžeme vyvinout dodávací formu pro snadnou optimalizaci účinnosti podávání léku. Léky mohou být zapouzdřeny, čímž lze kontrolovat proces uvolňování. Také je možné zvýšit mechanickou pevnost tablet nebo zaručit zpožděné rozpouštění, aby bylo zajištěno účinné uvolňování v cíleném místě^[1,3].

Existuje mnoho PEC na bázi chitosanu s dalšími biopolymery. Příkladem takových biopolymerů jsou algináty, jak vápenatý, tak sodný, karboxymethylcelulóza, kyselina hyaluronová, pektin, heparin či karagenan. Mezi velmi často využívané se řadí algináty a karagenan. Podle řady studií se ukazuje chitosan-alginátový PEC jako lepší systém pro výrobu matic s řízeným uvolňováním. Avšak chitosan-karagenanový PEC má také významné vlastnosti, které mu zajišťují široké uplatnění. První zmínky o využití karagenanu jako léčiva pochází již z 19. století. Jelikož vykazuje řadu bioaktivních vlastností, je ideálním polyelektrolytem pro vývoj PEC. Chitosan-karagenanový PEC lze tedy také využít jako dodávací systém léčiv s řízeným uvolňováním, a proto je předmětem zkoumání této práce^[3,4].

V teoretická část práce se zabývá základními informacemi o PEC a jeho tvorbě. Jsou zde popsány vlastnosti karagenanu z hlediska tvorby PEC. Dále jsou zde uvedeny různé metody pro charakterizaci maticových tablet. Podrobně se věnuje popisu kinetických modelů, které se využívají pro zpracování disolučních profilů. Cílem experimentální části je charakterizovat maticové tablety pomocí technik elektronové mikroskopie a FTIR spektroskopie a po provedení disoluční zkoušky posoudit vliv disolučního média na tvorbu PEC v maticových tabletách.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Biopolymery

Biopolymery tvoří rozmanitou skupinu látek, do které patří lipidy, proteiny, polysacharidy, enzymy, polyfenoly a další látky důležité pro život organismů. Jedná se o makromolekuly přirozeně vytvářené zvířaty, rostlinami a mikroorganismy. Biopolymery vznikají kovalentní vazbou monomerních jednotek za vzniku velké molekuly^[5,6].

Mezi unikátní vlastnosti těchto látek patří biokompatibilita, nízká toxicita, biologická odbouratelnost i nízké náklady na výrobu. Dále je také výhodou jednoduchá fyzikálně-chemická modifikace těchto látek. Díky těmto vlastnostem je lze využívat v různých oborech například v potravinářském průmyslu nebo se dají využít jako antioxidanty, čímž je ovlivněna trvanlivost potravin. Lze je také využít pro výrobu obalových materiálů. Nachází velké využití ve farmaceutických a biomedicínských aplikacích, zejména pro vývoj nových systémů nosičů léčiv s řízeným uvolňováním^[5,7].

Nejběžnější metodou aplikace léčiva je přes gastrointestinální trakt. Tento způsob podání má však i svá rizika. Léčivo musí odolat působení kyselin a trávicích enzymů. Proto dochází k vývoji takových systémů nosičů léčiv, které nám umožní kontrolovat uvolňování léčiva i jeho koncentraci v krvi. Důležité je také, aby docházelo k absorpci léčiva v cílovém místě s vysokou účinností. V důsledku toho došlo k vývoji dodávacích systémů komplexů polyelektrolytů na bázi přírodních biopolymerů^[1,7].

1.2 Polyelektrolytový komplex

Polyelektrolytový komplex je sloučenina obsahující různé množství funkčních skupin. Tyto skupiny mohou nést náboj nebo se budou za příznivých podmínek nabíjet. PEC vznikají elektrostatickou interakcí mezi opačně nabitými polyelektrolyty v roztoku bez přítomnosti chemického zesilovače. Tím se významně sníží toxicita i další nežádoucí účinky použitých činidel. Současně bude PEC dobře tolerovatelný a biokompatibilní, proto nachází své široké uplatnění především v oblastech farmaceutiky^[1,2].

Proces vzniku komplexu je rychlý. Probíhá řádově v milisekundách. Mezi často využívané postupy přípravy patří smíchání vodných roztoků nebo polymerace. Stabilitu PEC a jeho složení ovlivňuje velké množství faktorů. Například pH disolučního média, koncentrace polyelektrolytů, směšovací poměr, stupeň ionizace, molekulová hmotnost

nebo hustota nábojů. Na základě postupu přípravy můžeme získat různé formy PEC. Vytvoří se různé kuličky, mikrokapsle, tablety, filmy, gely, nanočástice, vícevrstevné povlaky či vláknité membrány^[1,2,4,8].

Na komplexaci se podílejí kromě elektrostatické interakce také další, jako jsou hydrofobní a dipólové, nebo van der Waalsovy či vodíkové vazby. Ty mohou vést ke vzniku gelu nebo koacervátu. Pokud bude interakce silná dojde ke vzniku agregátu^[2,3].

1.2.1 Klasifikace

PEC můžeme dělit podle různých kritérií. Kvantitativně je můžeme rozlišit na stechiometrické a nestechiometrické. U stechiometrických jsou biopolymery v ekvimolárním poměru, zatímco u nestechiometrických je jeden v přebytku oproti druhému, proto vzniká více rozpustný komplex. Podle druhu polyiontů, které tvoří PEC je lze rozdělit na komplexy syntetického, přírodního nebo smíšeného typu. Další možností klasifikace je, jestli se na reakci podílí pouze slabé nebo silné polyelektrolyty, přičemž reakci slabých snadno ovlivní změna pH. Nejdůležitějším kritériem dělení je vznik rozpustných a nerozpustných PEC. Tvorba závisí na stejných faktorech, které ovlivňují jejich stabilitu a složení. Pokud máme poměr počtu ionizovaných skupin roven 1, vznikají nerozpustné stechiometrické PEC. Je-li však poměr větší než 1, produktem bude rozpustný komplex. Popsané reakce mohou utvářet rovnovážné systémy, proto v nich koexistují současně nerozpustné i rozpustné polyelektrolytové komplexy vedle sebe. Rovnováhu lze snadno přesunout ke vzniku rozpustných přidáním lyofilizačního činidla^[1,2,4].

1.2.2 Strukturní modely

Výsledkem reakce opačně nabitých polyiontů jsou tři typy struktur: dvoufázový systém, struktury koloidně stabilní nebo rozpustné ve vodě. Dvoufázové systémy vznikají reakcí velmi koncentrovaných roztoků polyelektrolytů, které mají vysoké a obdobné molekulové hmotnosti a zároveň se blíží ekvimolárnímu poměru. Vlastnosti tohoto systému se podobají kapalinám nebo měkkým pevným látkám. Ve vodě rozpustné struktury jsou tvořeny v molekulárním měřítku mezi polyionty s velkým rozdílem v molekulové hmotnosti. Podmínkou vzniku je však nestechiometrický poměr polyelektrolytů. Rozpustné agregáty se budou skládat z dlouhých molekul, na které se postupně navážou kratší, opačně nabitě polyionty. Ve velmi zředěných roztocích s nízkou iontovou silou při nestechiometrických podmínkách se zastaví proces agregace za vzniku stabilních koloidních PEC^[2].

1.2.3 Mechanismus vzniku

Komplexaci můžeme považovat z počátku za působení dvou protikladných postupů. První z nich popisuje elektrostatickou kompenzaci náboje, která vede k uspořádání opačně nabitých polyelektrolytů do komplexní sloučeniny. Druhý proces zajišťuje neuspořádanou agregaci polyiontů s částečnou kompenzací náboje^[2].

Základní proces tvorby zahrnuje tři zásadní kroky. Po smíchání roztoků polyelektrolytů dojde k vytvoření primárního komplexu pomocí sekundárních vazebných interakcí. Poté následuje vznik nových vazeb v intrakomplexech nebo oprava již existujících řetězců. Tím se ustanoví nová konformace řetězců v biopolymerech. Poslední krok zahrnuje agregaci nově vzniklých komplexů pomocí hydrofobních interakcí. Takto vzniklé molekuly jsou nerozpustné v běžných rozpouštědlech^[2].

1.3 Chitosan-karagenanový PEC

Se stoupajícím zájmem o nové systémy dodávání léčiv se rozvíjí i nové studie systémů na bázi přírodních biopolymerů. Jedním z nich je chitosan. Má jedinečné biologické i fyzikálně-chemické vlastnosti. Mezi významné z nich patří netoxičnost, biologická rozložitelnost, biokompatibilita, bioaktivita a spousta dalších. Jednou z jeho hlavních vlastností je však schopnost tvořit polyelektrolytové komplexy s dalšími polysacharidy. Například to mohou být algináty, karagenan, celulóza či pektin. Tyto komplexy následně nachází uplatnění v mnoha oblastech, zejména při aplikaci léků^[1,4,7].

Chitosan ve své molekule obsahuje velké množství aminoskupin. Díky nim je velmi citlivý na změnu pH, což je výhodná vlastnost při vývoji nových systémů nosičů léčiv. Pokud nastane protonace aminoskupin v jeho molekule, stane se z chitosanu kladně nabitý polyelektrolyt. Ten může následně interagovat se záporně nabitým za vzniku PEC. Příkladem takové makrosloučeniny je karagenan. Jeho molekula obsahuje ester sulfátové skupiny, který mu zajišťuje negativní náboj. Komplex, který lze snadno připravit, má jedinečné vlastnosti. Ty mu zajišťují jeho široké uplatnění^[1,4,7].

1.3.1 Vlastnosti chitosan-karagenanového PEC

Vlastnosti chitosan-karagenanového PEC umožňují jeho využití v různých aplikacích. Jelikož má stabilizační a emulgační vlastnosti, našel uplatnění v potravinářském průmyslu jako

zahušťovadlo. Kromě toho je využíván i v biotechnologickém výzkumu, farmaceutických i lékařských oborech, kde je použit pro různé účely^[9].

Bioaktivní vlastnosti

Karagenan (CG) vykazuje různé bioaktivní vlastnosti. Vytvořením PEC získává komplex tyto výhodné vlastnosti, které lze poté využít u různých aplikací. Jednou z těchto vlastností je antivirová aktivita. Ta je dána u sulfatovaných polysacharidů chemickou strukturou, molekulovou hmotností, distribucí síranových skupin, stupněm sulfatace a konformací molekuly. Antivirový účinek je způsoben zabráněním vazby viru na jeho receptor pomocí specifických buněčných struktur. Lze jej považovat za selektivní inhibitor několika druhů virů. Například lidského papilomaviru, rhinovirů, viru herpes simplex nebo viru varicella zoster. Podle obsahu síranů se karagenan dělí do šesti základních forem. Nejdůležitější jsou však kappa, iota a lambda. Každý z nich má jiný antivirový účinek. Lambda-CG jej zajišťuje pomocí tvorby stabilního komplexu mezi virionem a CG. Tím se zabrání rozvinutí infekčního procesu. Iota-CG znemožňuje vazbu nebo vstup virů do hostitelských buněk, čímž opět omezuje vývin onemocnění. Klinické studie prokázaly jeho vyšší účinnost proti respiračním virům oproti ostatním. Prokázal se jako účinný inhibitor infekce způsobené virem chřipky A. Kappa-CG působí obdobně jako předchozí typy. Zároveň také inhibuje replikaci virového proteinu. To má pozitivní vliv na snížení rychlosti rozvoje onemocnění. Kombinací CG s léky může vzniknout synergický účinek proti několika virům chřipky A. Podstatně se také navýší terapeutický účinek^[9].

Další důležitá vlastnost CG je antibakteriální aktivita. Různé studie prokázaly jeho schopnost inhibovat infekce vyvinuté různými bakteriemi. Molekulová hmotnost a obsah síranů jsou významné vlastnosti ovlivňující bakteriostatický účinek. Zbytky síranů mají hlavní vliv na inhibiční účinek. Pokud došlo k jejich odstranění, okamžitě se snížil eliminační efekt. Výhodou CG je možnost modifikace karboxymethylací nebo oxidací. Navázání karboxymethylu podpoří inhibici růstu proti více bakteriálním kmenům. Oxidace kappa-CG umožnila poškození cytoplazmatické membrány a buněčné stěny bakterií. To mělo za následek zabránění růstu gramnegativních i grampozitivních bakterií^[9].

Při orálním požití CG vznikne viskóznější střevní obsah, čímž se sníží rychlost trávení i vstřebávání. Následné snížení difuze substrátů a enzymů potřebných k trávení, má za následek nižší absorpci živin, včetně cholesterolu. Nejvyšší účinnost snižování sérových hladin triacylglycerolů, lipoproteinového cholesterolu s vysokou i nízkou hustotou lipoproteinů

a celkového cholesterolu v periferní krvi vykazoval kappa-CG. Iota-CG zase působí proti metabolickému syndromu. Díky němu došlo ke snížení systolického krevního tlaku, plazmatické koncentrace cholesterolu a tělesné hmotnosti^[9].

CG také vykazuje antitrombotickou, antikoagulační a antioxidační aktivitu. Všechny jsou ovlivněny počtem sulfátových skupin obsažených v molekule. Kappa-CG obsahuje méně sulfátových skupin než lambda-CG, a proto má nižší antitrombotický účinek než lambda-CG. Antikoagulační vlastnost vychází z antitrombotické vlastnosti. Lze ji ovlivnit jednak sulfátovými skupinami, ale i glykosidickou vazbou. Porovnáním antikoagulačního efektu u různých typů karagenanů a jejich derivátů bylo zjištěno, že nejvyšší účinek má lambda-CG. Vyšší efekt byl zjištěn u částečně oxidovaného kappa-CG než u plně oxidovaného. Oproti tomu desulfátovaný a oligosacharid kappa-CG nevykazují vůbec žádnou aktivitu. Pro zvýšení této aktivity, se proto velmi často využívají strukturální úpravy. Antioxidační kapacita je závislá na počtu sulfátových skupin. Čím více jich molekula obsahuje, tím vyšší má antioxidační účinek^[9].

Poslední důležitá bioaktivní vlastnost CG je protinádorová aktivita. Protinádorový účinek je způsoben zastavením rozšiřování metastáz. To je zajištěno eliminací adheze rakovinových buněk na cílové tkáni. Studie prokázaly přerušení buněčného cyklu v různých fázích podle typu použitého CG. Lambda-CG ukončil buněčný cyklus ve fázi G1 i G2/M. Zároveň měl silný proliferační efekt, který zabránil dělení buněk. Iota-CG zastavil cyklus již v přípravné fázi G1, vyvolal apoptózu a potlačil růst nádoru. Kappa-CG pouze zpomalil postup dělení ve fázi G2/M. Po degradaci lambda a kappa-CG na produkty s nižší molekulovou hmotností, byl prokázán vyšší protirakovinový účinek. Pravděpodobně byl zajištěn imunomodulací^[9].

Gastroprotektivní a antiulcerogenní aktivita

Chitosan-karagenanové PEC mají gastroprotektivní vlastnosti. Na jejich aktivitu má vliv složení, konkrétně poměr původních polysacharidů v komplexu. Tento poměr významně ovlivňuje jejich biologické účinky v těle. Gastroprotektivní aktivita vzniká vytvořením ochranné vrstvy na povrchu sliznice žaludku. Tím se zabrání přímému kontaktu s ulcerogenním činidlem, které má za následek vznik žaludečních vředů^[8].

Dané vlastnosti byly zkoumány u dvou komplexů s různým poměrem polysacharidů. První měl obsah chitosanu a karagenanu 1:10. Druhý měl poměr polyiontů opačný, 10:1. Porovnáním byla prokázána nižší aktivita prvního komplexu. Oproti tomu měl druhý mnohem

vyšší gastroprotektivní účinky. Zajistilo je nejspíše pravidelné tvoření ochranné vrstvy na sliznici žaludku^[8].

Schopnost tvořit gely

Karagenany jsou biokompatibilní a netoxické, proto jsou často využívány pro tvorbu PEC. Jejich významnou vlastností je schopnost tvořit gely, hojně využívané ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu. Gelující polymery jsou však pouze kappa a iota. Schopnost vytvořit gel závisí na přítomnosti anhydrogalaktózových jednotek a chemické struktury. Menší množství sulfátových skupin a anhydrogalaktózové zbytky umožňují kappa a iota-CG gelaci. Vzniklé termoreverzibilní fyzikální gely mají konformaci dvojité šroubovice. Stabilizaci zajišťují vodíkové vazby mezi šroubovicemi. Ke gelaci dochází při ochlazení roztoku. Lineární molekuly poskytují dvojité či trojitě spirály, které mají omezenou délku v důsledku nepřítomnosti anhydrogalaktózových jednotek. Důsledkem je vznik pevné stabilní trojrozměrné sítě s příslušnými ionty^[4,9,10].

Rozdíly ve struktuře zaručují CG různé želírovací vlastnosti. Kappa a iota-CG gelují prostřednictvím interakce s kovovými ionty za vzniku trojrozměrné struktury. Vznikají různé druhy gelů. Mohou být tuhé nebo elastické, čiré nebo kalné, tepelně stabilní nebo nestabilní či pevné nebo měkké. Kappa-CG vytvoří gely nejspíše v přítomnosti jednomocných kationtů. Nejlépe reaguje s ionty draslíku za vzniku křehkého a tuhého gelu. Ionty vápníku jsou samostatně málo účinné, avšak kombinace obou poskytuje silný gel. Celkově poskytuje kappa-CG nejpevnější a nejsilnější gely. Nevýhodou těchto gelů je synerizace, kdy časem ztrácí tekutinu vlivem smršťování síťovité struktury. Iota-CG vykazuje vysokou citlivost na dvojmocné ionty. Dobře reaguje s vápenatými ionty za vzniku pružných a měkkých gelů, které nesynerizují. Proto mají dobrou stabilitu při zmrazování a rozmrazování^[9,11].

Doposud byl lambda-CG považován za polymer neschopný tvořit gely. Místo tvorby trojrozměrné sítě zlepšoval viskozitu médií. Proto našel využití jen jako zahušťovadlo. Nedávný výzkum však potvrdil jeho schopnost tvořit gely s trojmocnými ionty. Jelikož byl doposud využíván pouze jako zahušťovací činidlo, zajišťuje mu toto zjištění velké rozšíření oblasti použitelnosti^[9].

Využití pro výrobu systémů s řízeným uvolňováním léčiva

Polyelektrolytové matrice obsahující CG mají velký význam pro výrobu léčiv s řízeným uvolňováním. Chemická struktura karagenanu je důležitý faktor pro zhotovení těchto systémů.

Konkrétně se jedná o tři důležité strukturní vlastnosti umožňující jeho využití. Obsahuje glykosidové vazby. Ty se štěpí pomocí enzymů hydroláz, čímž je zajištěna jeho biologická rozložitelnost. Dále má aniontové sulfátové skupiny podporující vznik PEC s kladně nabitými biopolymery. Poslední faktor je přítomnost hydroxylových skupin. Ty obstarávají nezbytné interakce nutné pro výrobu různých chemických modifikací^[9,12].

PEC s kontrolovaným uvolňováním bývají připraveny do rozličných forem. Nejčastěji se však připravují takové, které jsou ideální pro orální podávání. Stupeň uvolňování léčiva nám charakterizuje bobtnavost. Čím vyšší bude, tím snáze se bude léčivo uvolňovat. Při porovnání bobtnavosti PEC a pouhé směsi chitosanu a karagenanu, byla zjištěna vyšší rychlost i stupeň bobtnání. Schopnost bobtnat závisí na různých fyzikálně-chemických procesech jako je sorpce, penetrace, relaxace či difuze. Dále je také ovlivněna průměrem a tloušťkou tablet. Pro dosažení maximálního bobtnání musí být splněna řada podmínek. Pokud se bude PEC nacházet ve velmi kyselém prostředí, nízké pH způsobí protonaci volných aminoskupin chitosanu. Následně nám vznikne maximální osmotický příspěvek, dojde k solvataci iontové skupiny a elektrostatickému odpuzování, které poté zajistí nejvyšší stupeň bobtnání^[12].

Jelikož má CG vyšší schopnost vázat vodu, podléhají připravené systémy po fázi bobtnání rychlému rozkladu. Dezintegrace může proběhnout i za méně než 30 sekund. Proto jsou tyto systémy méně využívány^[4].

1.4 Charakterizace matricových tablet

Matricové tablety představují jednoduché lékové formy. Tablety vystupují jako jeden celek, a proto neobsahují jednotlivé částice. Vlastnosti tohoto systému závisí na látkách, ze kterých se skládají. Jsou tedy definovány jak vlastnostmi pomocných látek, tak i vlastnostmi účinné složky. Charakteristickým rysem je rovnoměrné rozložení účinné látky v celém objemu tablety. Přídavkem aditiv lze také upravit výsledný farmakologický efekt i stabilitu léčiva. Matricové tablety se mohou využívat jako lékové formy s normálním uvolňováním léčiva, ale mnohem častěji dnes nachází využití jako dávkovací formy s prodlouženým uvolňováním léčiva. Podle charakteru nosiče můžeme matricové tablety dělit na hydrofilní gelové, lipofilní, polymerní nerozpustné anebo směsné. Hydrofilní gelové uvolňují účinnou látku na základě vzniku gelové vrstvy na povrchu tablety. Ochranná gelová vrstva zajišťuje stálé pronikání vody do tablety, čímž se bude tableta pomalu rozpouštět. U lipofilních matric je uvolnění řízeno procesem eroze, kdy tableta zmenšuje svůj objem hydrolýzou vosků a tuků.

Polymerní nerozpustné nemění tvar, pouze rozpouští účinnou složku obsaženou v matrici. Směsné matrice využívají kombinací předchozích typů uvolňování, jelikož obsahují různé druhy pomocných látek^[13,14].

Český lékopis popisuje mnoho metod pro charakterizaci matricových tablet. Lze využít zkoušku rozpadavosti, pro sledování rozpadu tablety v tekutém médiu. Pro pozorování procesu uvolňování účinné látky z dané lékové formy je možné provést disoluční test. Dále lze zkoumat hmotnostní a obsahovou stejnoměrnost pevných lékových forem podávaných v jedné dávce. Pro zkoumání mechanické odolnosti mohou být tablety vystaveny zkoušce oděru či pevnosti tablet^[15,16].

Matricové tablety lze však charakterizovat i s využitím dalších jiných metod. Můžeme popsat vzhled tablet, jejich homogenitu i složení pomocí skenovací elektronové mikroskopie. Lze využít infračervenou spektroskopii pro identifikaci látek pomocí porovnání spekter. Zvážením tablet před, po proběhnutí disolučního testu a po vysušení v sušárně získáme hmotnosti, které je možno využít pro výpočet indexů bobtnání a eroze. Existuje však mnoho dalších metod, které lze ještě využít^[17,18,19,20].

1.4.1 SEM

Skenovací neboli rastrovací elektronová mikroskopie (SEM) může být použita pro zobrazení a analýzu povrchu matricových tablet. Pro měření využívá sekundární elektrony emitované ze vzorku nebo elektrony z primárního svazku odražené od povrchu tablet. Primárně je elektronová mikroskopie zaměřena spíše na zobrazování, avšak lze provést i odhad chemického složení či strukturní analýzu povrchů. Skenováním povrchu vzorku primárním svazkem vznikají snímky, které poté vidíme na monitoru počítače. Výhodou elektronové mikroskopie je vysoké prostorové rozlišení a velká hloubka ostrosti. Její hojné využití zajišťuje získání dvojrozměrných obrazů vzorků v aktuálním čase, což umožňuje intuitivní interpretaci objektů pozorovatelem^[17,21].

Mikroskop se sestává z několika základních prvků: zdroje elektronů, soustavy čoček pro zaostření a úpravu emitovaného paprsku, detektoru elektronů uvolněných ze vzorku a počítačového systému zobrazujícího dvojrozměrný obraz. Nejčastěji jsou využívány snímky vytvořené použitím sekundárních elektronů, které zobrazují především topografické vlastnosti vzorků. Pro provedení strukturní analýzy a zjištění prvkového složení se využívá snímkování pomocí zpětně odražených elektronů^[17,22].

Zobrazení pomocí sekundárních elektronů

Sekundární elektrony vznikají při vstupu dopadajících elektronů do vzorku nebo působením zpětně odražených elektronů. Mají oproti zpětně odraženým elektronům mnohem nižší energii o velikosti pouze několika elektronvoltů. Malé množství energie poukazuje na to, že jsou emitovány z hloubky pouze několika nanometrů pod povrchem vzorku. Pokud bude klesat úhel mezi povrchem zkoumaného objektu a paprskem, získáme větší množství sekundárních elektronů. Produktem bude trojrozměrný obraz vzorku s ideálními topografickými informacemi^[17].

Využití zpětně odražených elektronů

Množství primárních elektronů odražených od povrchu vzorku lze charakterizovat pomocí koeficientu zpětného rozptylu. Tento parametr je silně závislý na středním atomovém čísle. Čím vyšší bude atomové číslo, tím vyšší bude pravděpodobnost, že se elektrony rozptýlí. Pomocí atomového čísla můžeme rozlišit oblasti s různým prvkovým složením. Světla místa obrazu budou obsahovat těžké prvky, jelikož se jedná o oblasti s vyšším středním atomovým číslem, zatímco oblasti tmavé budou vytvořené lehkými prvky a budou mít nižší střední atomové číslo^[17,22].

Negativní jevy vzniklé při zobrazování

Při zobrazování tablet pomocí SEM, dochází ke vzniku rušivých jevů. Nejdůležitější je nabíjení povrchu vzorku při skenování. Pokud budou na vzorek, který není dostatečně vodivý, dopadat negativně nabitě elektrony, povrch vzorku získá záporný náboj, který bude odklánět primární svazek do detektoru. Na snímcích budou poté pozorovatelná rušivá bílá místa^[22].

Vytváření záporného náboje na povrchu vzorku lze nejlépe zabránit pomocí filmu vodivého materiálu napařeného na povrch, nejčastěji je používáno zlato. Nabíjení lze snížit i použitím nízkého vakua, kdy je negativní náboj odváděn z povrchu molekulami plynu, a také snížením intenzity primárního svazku elektronů. Lze také použít změnu náklonu vzorku, avšak tím se zvýší počet zpětně odražených a sekundárních elektronů^[17].

Dalším rušivým jevem je hranový efekt. Při dopadu paprsku na okraj vzorku dojde ke zvětšení oblasti, ze které se mohou uvolnit sekundární elektrony. Tím se zvyšuje signál z detektoru a následně se hrany budou zdát jasné až přesvícené. Tím mohou být zaměněny za vyvýšené, i když nejsou. Při použití vysokého urychlovacího napětí dosáhne tento efekt

nejvyššího účinku. Tomuto efektu lze předcházet náklonem vzorku směrem k detektoru. Můžeme tím však nechtěně zvýšit počet elektronů dopadajících na detektor^[17,22].

1.4.2 FTIR spektroskopie

Infračervená spektroskopie je významná instrumentální spektrální technika, která je využívána ke kvantitativní, a hlavně kvalitativní analýze látek ve všech skupenských stavech. Díky velkému množství informací získaného ze spekter je vhodná pro identifikaci látek nebo jejich struktury. Nachází uplatnění jednak v preparativní analýze, ale i v analytické praxi. Jednou z jejích nejdůležitějších aplikací je identifikace různých organických sloučenin. Lze ji však využít i pro rozpoznání anorganických materiálů, koordinačních sloučenin, kovů a minerálů. Používá se pro charakterizaci polymerních matricových tablet. Ze spekter lze získat informace o chemickém složení tablet, jejich struktuře i vzhledu. Může sloužit pro zkoumání procesu degradace jednotlivých složek, ale i ke sledování, jestli nedochází při procesu rozpouštění k polymeraci nebo vzniku PEC^[18,23,24].

Infračervené záření tvoří jednu z oblastí elektromagnetického spektra. Toto spektrum nemá přesně definované hranice a ty se mírně liší podle autora. Český lékopis uvádí, že se infračervené záření nachází v rozsahu vlnových délek od 780 nm až do 1000 μm . Po přepočtu na vlnčet zastupuje oblast v rozsahu $12821 - 10 \text{ cm}^{-1}$. V elektromagnetickém spektru je infračervená oblast ohraničena viditelným a submilimetrovým zářením. Obecně nám tyto spektra detekují změny v rotačně vibračních a vibračních pohybech molekul. Podle vlnčtu lze rozlišit tři typy záření. Oblast do 200 cm^{-1} označujeme jako FIR čili vzdálenou. Zde se nachází především rotační přechody a uplatňuje se například u chemického mapování. Střední infračervená spektroskopie neboli MIR zastupuje oblast od 4000 do 200 cm^{-1} . Tato oblast se může označit jako základní, jelikož se zde uplatňují rotačně vibrační přechody. Má velký význam pro identifikaci čistých látek a jejich chemických struktur. Oblast v rozsahu $12821 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ je známá jako blízká či NIR. Zde se opět uplatňují rotačně vibrační přechody. Využití nachází jako kontrolní metoda. Při analýzách v praxi se tyto oblasti často překrývají a jejich rozlišení závisí na dostupném vybavení^[25,26,27].

Nejvyužívanější zařízení je infračervený spektrometr s Fourierovou transformací. Oproti klasické infračervené spektroskopii poskytuje infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) mnohem kvalitnější spektra s vyšším poměrem signálu k šumu. Čas potřebný pro získání spektra je díky vysoké rychlosti procesu v řádech sekund. Základem spektrometru je Michelsonův interferometr. Paprsek ze zdroje infračerveného záření se dělí

na dva svazky. Jeden se odráží od pevného zrcadla, druhý od pohyblivého a následně se opět spojují za vzniku interferenční vlny. Ta prochází vzorkem, kde dojde k interakci vlny se vzorkem, a vlna pak dopadá na detektor. Ze zaznamenaného interferogramu je pak v počítači pomocí Fourierovy transformace vypočítán spektrogram, který pak lze vyhodnotit^[23,27,28].

Při technice FTIR probíhá měření současně při všech vlnových délkách (Fellgettova výhoda) a přístroj neobsahuje štěrbinu omezující množství procházejícího světla (Jacquinotova výhoda), což spolu s možností rychlého opakování a následného průměrování naměřených signálů výrazně zlepšuje poměr signálu k šumu. Přesnější je i určení vlnových délek (Connesova výhoda)^[23].

1.4.3 Zkouška rozpadavosti matricových tablet

Testem posuzujeme, jestli matricová tableta podlehne rozpadu v tekutém médiu během stanoveného času. Pro zkoušku musí být předem definované podmínky pro experiment. Pojem rozpadavost nesmíme chápat jako disoluci tablety nebo léčiva. Úplný rozpad definuje stav, kdy z tablety po rozpadu nezůstane žádný zbytek nebo jen měkké zbytky bez známek pevného jádra. Existují dva typy přístrojů pro zkoušku rozpadavosti. Rozlišit je můžeme podle velikosti tablet, které v nich můžeme testovat. Přístroj A slouží pro tablety o velikosti menší než 18 mm. Oproti tomu přístroj B je používán pro tablety větší než 18 mm. Obecně se aparatury skládají z kádinky pro tekuté médium, termostatu udržujícího teplotu v rozmezí 35 – 37°C a závěsného zařízení na košíčky^[29].

V dnešní době existuje mnoho firem vyrábějících tyto typy přístrojů. Jednou z nich je Erweka, která nabízí plně automatizovaný přístroj ZT 720, který může obsahovat jednu nebo dvě testovací stanice. Výhodou je také teplotní senzor, umožňující udržovat konstantní teplotu vodní lázně. Dle typu košíčku lze testovat buď 6 tablet do velikosti 18 mm nebo 3 tablety o větších rozměrech^[30].



Obrázek 1 - Plně automatizovaný přístroj ZT 720 pro zkoušku rozpadavosti od firmy Erweka (převzato z [30])

1.4.4 Disoluční zkouška

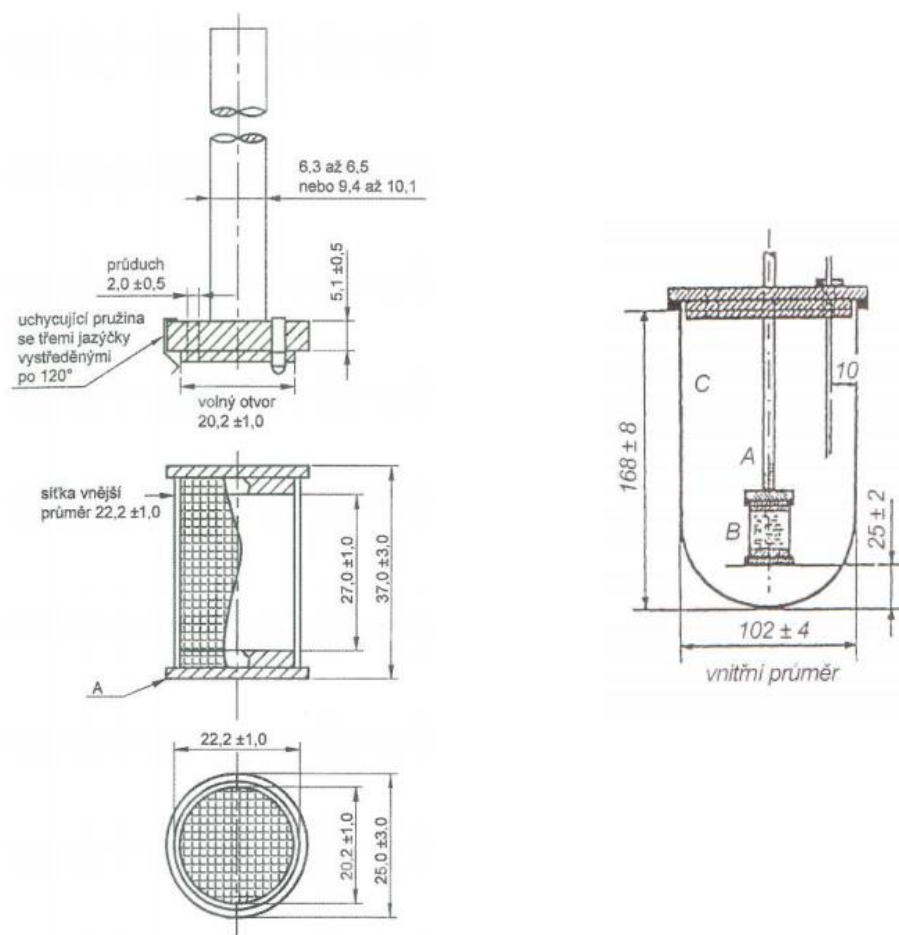
Disoluční experiment slouží k sledování procesu uvolňování účinné složky z lékové formy v daném disolučním médiu v předem stanoveném čase. Výstupem testu je disoluční profil, který je hlavní charakteristikou studované lékové formy. Zkouška může také sloužit jako proces kontroly kvality v oboru farmaceutického vývoje. Vyhodnocením průběhu disoluční křivky můžeme získat cenné informace o tom, jestli se léčivá látka uvolňuje okamžitě nebo je proces uvolňování řízen, kdy se léčivo může uvolňovat prodlouženě, pulzně či zpožděně. Disoluční studie slouží především ke sledování biologické aktivity a posouzení kvality léčivých přípravků nebo pro sledování dostupnosti léku *in vivo*. Dále je také využívána pro nalezení shody s předem stanovenými požadavky disoluce. Může také být použita k odhadu chování nového léčivého přípravku v organismu^[16,31].

Rychlost uvolňování účinné látky je limitující faktor pro její absorpci, proto jsou disoluční zkoušky využívány jako důležité lékopisné kontrolní metody. Před provedením disoluce je potřeba nadefinovat podmínky, za kterých bude test proveden. Po výběru vhodného přístroje je nutno připravit potřebná média s daným složením. Následně zvolit vhodný objem a teplotu disoluční kapaliny. Pro výběr metody musíme posoudit časy odběrů vzorků rozpuštěného léčiva, rychlost otáček i průtok média celou. Pro disoluci pevných lékových

forem definuje Český lékopis čtyři typy přístrojů: s košíčkem, pádélkem, průtokovou celou nebo vratným válcem. Nejvyužívanější jsou metody s pádélky a košíčky^[16,31].

Přístroj využívající košíčky

Aparaturu tvoří nádoby o objemu 1000 ml, které jsou vyrobeny nejčastěji ze skla nebo jiného průhledného inertního materiálu. Dále se skládá z motoru a hnací hřídele, na které je umístěn košíček válcovitého tvaru. Všechny nádoby jsou umístěny ve vodní lázni opatřené termostatem, udržujícím konstantní teplotu v nádobách okolo 37°C. Pomocí lázně je disoluční kapalina udržována v plynulém pohybu. K zpomalení odpařování média se využívá krycí víko. Hřídel s košíčkem nesmí mít odchylku větší než 2 mm od osy, jinak by došlo k přerušení plynulého pohybu média. Tím by byly následně ovlivněny výsledky zkoušky. Košíčky s hřídelí jsou z nerezové oceli, která odolává vlivu používaných médií. Vzdálenost mezi dnem skleněné nádoby a košíčkem je přibližně 2,5 cm^[29].



Obrázek 2 - Schéma košíčku a disoluční nádoby s košíčkem (převzato z [15])

Další typy přístrojů

Přístroj s pádélkem obsahuje místo košíčku lopatkové míchadlo. Míchadlo je opět tvořeno z inertního kovu a tvoří s hřídelí jeden úvar. Přístroj s vratným válcem je tvořen válcovitými nádobami, které mají oproti předchozím typům ploché dno. Uvnitř nádob jsou svisle umístěny vratné skleněné válce se sítkou z nereaktivního materiálu, která kryje horní i spodní konec válců. Tím je zajištěno, že se tablety během celého experimentu budou nacházet uvnitř vratného válce. Poslední typ zařízení má odlišnou konstrukci od ostatních. Tvoří ho zásobní nádoba, pumpa a průtoková cela. Pomocí pumpy je disoluční kapalina protlačena skrze průtokovou celu s tabletou umístěnou ve spodní části cely. Průhledná inertní cela je propojena s filtračním systémem, který brání úniku částic z cely horním koncem^[29].

Disoluční test se zaměřením na simulaci trávicího traktu

Užívané léky prochází v gastrointestinálním traktu (GIT) rozličnými tekutinami o různém pH. Disoluční zkoušky se zaměřují i na sledování biologické dostupnosti léčiva. Pro provedení takových zkoušek je třeba napodobit proměnlivé podmínky lidského GIT. pH kyselého žaludeční šťávy se pohybuje v rozmezí 1,5 – 1,9. Tyto hodnoty se však liší u každého jedince a mohou dosáhnout i nižších či vyšších hodnot. Dané rozmezí se v žaludku vyskytuje nalačno, avšak po jídle se pH zvýší do rozmezí 3 – 7. U tenkého střeva se hodnoty pH nalačno liší podle části tenkého střeva. V oblasti dvanáctníku je pH okolo 6 až 6,5, v lačnicku dosahuje hodnoty 6,8 a v kyčelníku až 7,4. U tenkého střeva po jídle opět nastává nárůst pH a poté časem klesá^[32,33].

Pro simulaci trávicích podmínek se využívají disoluční kapaliny. Jedná se o média na bázi vodných tlumivých roztoků, jejichž pH nepřesáhne stanovenou hodnotu o cca 0,05. Jejich pH je nastavováno v rozmezí 1,2 až 6,8. Využívány jsou umělé žaludeční nebo střevní šťávy. Lékopis definuje umělou žaludeční šťávu jako disoluční kapalinu simulující žaludek nalačno s hodnotou pH 1,2. Umělá střevní šťáva je médium s hodnotou pH 6,8, které se nachází v horních částech tenkého střeva^[15,32].

Pro maximální imitaci fyziologických podmínek GIT byly vytvořeny i biorelevantní disoluční kapaliny. Jsou to média obsahující i další složky, které jsou obsaženy v trávicích šťávách a v předchozích médiích se nevyskytují. Příkladem těchto složek je pepsin, lecitin či taurocholát sodný^[32].

1.4.5 Index bobtnání a eroze

Během disolučního testu podléhají tablety různým procesům. Může dojít k absorpci vody či disolučního média nebo může nastat ztráta materiálu tablety. Schopnost tablety absorbovat vodu popisuje parametr nazvaný index bobtnání. Jedná se o důležitou vlastnost, kterou vykazují hydrofilní polymerní matricové tablety s řízeným uvolňováním léčiva. Získá se podílem hmotností tablety hydratované vodou a hmotnosti tablety suché. Výpočet probíhá podle následujícího vzorce^[19,20,34,35]:

$$B = \frac{m_B}{m_0} \cdot 100$$

B [%] index bobtnání

m_B [g] ... hmotnost hydratované tablety po disolučním testu

m_0 [g] ... hmotnost suché tablety před disoluční zkouškou

Důležitý parametr charakterizující stupeň bobtnání je míra absorpce disolučního média. Rovnici popisující přírůstek hmotnosti lze uvést v následujícím tvaru^[36]:

$$M = \frac{m_B - m_S}{m_S} \cdot 100$$

M [%] ... míra absorpce disolučního média

m_B [g] ... hmotnost hydratované tablety po disolučním testu

m_S [g] ... hmotnost vysušené tablety po disoluci

Úbytek hmotnosti tablety je spojen s uvolňováním účinné látky i s erozí matrice. Ztrátu materiálu tablety vystihuje index eroze. Proces eroze je využíván především k uvolňování účinné látky z lékových forem se špatnou rozpustností. Ztráta může být povrchová, ale i objemová. Výpočet lze provést dle rovnice^[20,34,36]:

$$E = \left(1 - \frac{m_0 - m_S}{m_0}\right) \cdot 100$$

E [%] index eroze

m_0 [g] ... hmotnost suché tablety před disoluci

m_S [g] ... hmotnost vysušené tablety po disoluci

1.5 Matematické zpracování disolučních profilů

Pro popis uvolňování účinné látky z lékových forem se využívají disoluční zkoušky. Z nich získáme příslušná disoluční data a následně i jejich profily. Pro zpracování profilů lze využít celou řadu kinetických modelů, kdy cílem je nalézt shodu s určitým matematickým modelem, který vyjádří množství uvolněného léčiva jako funkci času. Zakládají se na různých matematických funkcích. Mezi nejpoužívanější modely lze zahrnout model nultého, prvního a n-tého řádu. Dále také model Higuchiho, Weibullův či Korsmeyerův-Peppasův^[16,37].

Modely jsou uváděny ve tvaru nelineární regrese, protože nevyžadují transformaci dat. Avšak využití této regresní analýzy vyžaduje splnění tří základních podmínek^[16]:

1. Zajistit práci s původními daty, které byly získány měřením minimálně pro 6 tablet.
2. Určit a eventuelně vynechat odlehlé body vzniklé chybným měřením.
3. S využitím metody nejmenších čtverců určit, zda byly dodrženy základní předpoklady metody.

1.5.1 Model 0. řádu

Kinetický model nultého řádu je považován za ideální profil uvolňování pro lékové formy s prodlouženým uvolňováním, protože umožňuje uvolnění stejného množství léčiva za určitou časovou jednotku. Takové dávkovací formy, které se nerozkládají a neustále pomalu uvolňují léčivo, lze popsat pomocí rovnice:

$$M_t = k_0 \cdot t$$

kde M_t je množství uvolněného léčiva v čase t . Nejčastěji se uvádí v procentech. k_0 označuje rychlostní konstantu nultého řádu. Rozměrem této veličiny je množství léčiva uvolněné za časovou jednotku, například mg/h. Daná rovnice popisuje přímkou procházející počátkem. Lze ji však převést do tvaru, který bere v úvahu nenulový úsek na ose y .

$$M_t = k_0 \cdot t + b$$

kde veličiny M_t , k_0 a t mají stejný význam jako u první rovnice. Parametr b určuje počáteční množství léčiva v disolučním roztoku. Nejčastěji odpovídá hodnotě $b = 0$. U disolučních dat získaných z reálných měření může parametr b vykazovat takzvaný „burst efekt“. Jedná se o rychlejší uvolnění léčiva na začátku disoluční zkoušky. Tento efekt vzniká velmi často u matricových systémů. Příčinou je například nerovnoměrné rozložení léčiva v dávkovací formě, rychlé uvolnění léčivé látky z povrchu matrice^[16,37,38].

1.5.2 Model 1. řádu

Model prvního řádu se využívá pro popis absorpce a eliminace různých léčiv. Převážně definuje rozpouštění léků z matricových forem obsahujících ve vodě rozpustná léčiva uložená v porézních matricích. Je založen na skutečnosti, že koncentrace závisí na čase. Rychlost uvolňování léčiva bude klesat s časem, nejrychleji se tedy léčivo uvolňuje po aplikaci. Kinetický model 1. řádu není vhodný pro léčbu vyžadující stálou plazmatickou hladinu léku. Spíše se využívá pro léčbu akutních stavů. Rovnici lze uvést ve tvaru^[16,37,38]:

$$M_t = M_\infty(1 - \exp(-k_1 \cdot t))$$

M_t množství uvolněného léku v čase t

M_∞ ... maximální množství léku, které se může z lékové formy uvolnit

k_1 rychlostní konstanta prvního řádu s jednotkou čas^{-1} , nejčastěji h^{-1}

t čas

1.5.3 Model n-tého řádu

Patří do skupiny fyzikálně-matematických modelů, které dodržují zákony chemické kinetiky. Podstatou tohoto modelu je získání různých číselných hodnot při procesu uvolňování účinné látky z lékových formulací. Základní vztah pro popis disolučních profilů udává následující rovnice^[39,40]:

$$M_t = M_\infty - ((M_\infty)^{-N} + K \cdot N \cdot t)^{-1/N}$$

M_t množství účinné látky uvolněné v čase t

M_∞ ... maximální uvolnitelné množství účinné látky

K rychlostní konstanta uvolňování léčiva

t čas

N skutečný řád procesu uvolňování

1.5.4 Weibullův model

Model Weibull je empirický, proto nachází uplatnění při srovnávání profilů uvolňování léčiv z matric. Může být také aplikován na většinu rozpouštěcích křivek, tudíž můžeme studovat procesy rozpouštění a uvolňování. Pro kvantitativní vyhodnocení disolučního profilu léčiva se využívá rovnice ve tvaru:

$$M_t = M_\infty(1 - \exp(-k_w \cdot t)^\beta)$$

M_t množství rozpuštěného léčiva v čase t

M_∞ ... celkové množství léčiva, které se může uvolnit

k_w parametr popisující časovou závislost s rozměrem čas^{-β}

t čas

β parametr charakterizující tvar disoluční křivky

V případě výskytu „burst efektu“ nebo zpožděného uvolňování je výhodnější užít rovnici v upraveném tvaru:

$$M_t = M_\infty(1 - \exp(-k_w(t - T_t)^\beta))$$

kde veličiny M_t , M_∞ , k_w , t a β mají stejný význam jako u první rovnice. Parametr T_t je definován jako „lag time“, což je zpožděné uvolňování léku na počátku disoluční zkoušky. Jeho záporná hodnota bude poukazovat na přítomnost „burst efektu“.

Jak již bylo zmíněno parametr β charakterizuje průběh disoluční křivky. Pokud bude $\beta = 1$ současně s $T_t = 0$, bude tvar rozpouštěcí křivky exponenciální. Prakticky se tak shoduje s kinetickým modelem prvního řádu. Pro $\beta > 1$ se získává křivka ve tvaru S se zakřivením nahoru, které je následováno bodem obratu. V opačné situaci, kde je $\beta < 1$, bude křivka mít strmý počáteční sklon.

Velkou výhodou modelu je tedy dobrá shoda s experimentálními daty i v přítomnosti „burst efektu“ či „lag time“. Parametr β umožňuje využití modelu i pro popis změn v disolučních profilech, především při vytváření nových forem léčiv^[16,37,38].

1.5.5 Model Korsmeyerův-Peppasův

Nachází uplatnění především u polymerních systémů pro podávání léků. Může být použit pouze, pokud množství uvolněného léčiva nepřesáhne hranici 60 %. Jedná se o semi-empirický model zohledňující simultánní jevy, které nastávají během rozpouštění matrice. Rovnice zahrnující tyto složité mechanismy má tvar:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{KP} \cdot t^n$$

$\frac{M_t}{M_\infty}$... podíl léčiva uvolněného v čase t

k_{KP} ... konstanta rychlosti uvolňování léčiva

t čas

n parametr uvolňování

V případě výskytu „burst efektu“ se využívá upravený tvar rovnice s parametrem b, který popisuje zrychlené uvolnění léčiva na začátku disolučního testu.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{KP} \cdot t^n + b$$

Exponent n definuje mechanismus uvolňování léčiva a může dosáhnout různých hodnot na základě různé geometrie polymerního systému. Obecně dochází ke třem typům uvolňování léčiva: Fickovou difuzí, anomálním transportem a case-II transportem. Uvolňování Fickovou difuzí probíhá pouze pomocí „čisté“ difuze a nedochází k uplatnění jiných dějů. U anomálního transportu se uplatňuje kromě difuze už i proces bobtnání. Case-II transport je ovlivněn několika faktory současně. Vedle bobtnání a difuze se využívá i proces relaxace řetězců nosného polymeru. Hodnota parametru je také ovlivněna geometrickou strukturou polymerní matrice. V následující tabulce jsou uvedeny hodnoty exponentu n, k němuž je přiřazen příslušný mechanismus uvolňování na základě různé geometrie polymerních matic.

Tabulka 1 - Hodnoty exponentu n podle mechanismu uvolňování léku na základě různé geometrie matic [16,37,38]

Mechanismus uvolnění léku	Exponent n		
	tenká vrstva	válcová geometrie	kulová geometrie
Fickova difuze	0,5	0,45	0,43
Anomální transport	0,5 < n < 1,0	0,45 < n < 0,89	0,43 < n < 0,85
Case-II transport	1,0	0,89	0,85

1.5.6 Model dle Higuchiho

Tento matematický model popisující uvolňování léčiva z matricového systému, byl původně aplikován pouze na systémy v planárním uspořádání. Později po provedení úprav našel uplatnění i pro porézní struktury s různými geometrickými strukturami. Užívá se pro popis uvolňování léčiva z dávkovacích forem s upraveným uvolňováním. Především pro matricové tablety s léčivy rozpustnými ve vodě a vybrané transdermální systémy. Uplatnění modelu je možné až po splnění několika podmínek. Difuze léků bude probíhat jedním směrem a hranový efekt bude zanedbatelný. Léčivo obsažené v matrici bude mít mnohonásobně vyšší

koncentraci, než je jeho rozpustnost. Velikost částic léčiva bude mnohem menší než tloušťka lékové formy. Vliv rozpouštění a bobtnání matrice je bezvýznamné a uvolňování léčiva bude konstantní.

Základní vztah udává následující rovnice:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_H \cdot \sqrt{t}$$

M_t uvolněné množství léčiva v čase t

M_∞ ... nejvyšší uvolnitelné množství léčiva

t čas

k_H Higuchiho disoluční konstanta s rozměrem čas^{-1/2}

k_H je konstanta, která zahrnuje difuzní koeficient léku, rozpustnost léčiva, počáteční koncentraci a difuzní plochu. Platnost rovnice se z hlediska geometrické struktury vztahuje pouze na tenké vrstvy. Užití k popisu trojrozměrných formulací vede k získání chybných výsledků, jelikož tato zjednodušená rovnice nezahrnuje všechny jevy, které se dějí během rozpouštění tablet. Například vliv pomocných látek jako jsou plniva, difuzi z boční strany tablet či změnu difuzního koeficientu vlivem bobtnání porézní struktury matrice a bobtnání^[16,37].

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Laboratorní přístroje a pomůcky

- běžné laboratorní sklo
- lékovka
- lžička
- analytické váhy Kern ALT 310-4AM (KERN & Sohn GmbH, Německo)
- disoluční přístroj SOTAX Smart AT7 (SOTAX Pharmaceutical Testing s.r.o.)
- UV/VIS spektrofotometr Agilent 8453 (Agilent Technologies Deutschland GmbH, Německo)
- kyveta 5 mm
- fotoaparát 24 MP (součást mobilního telefonu Huawei P30 Lite)
- laboratorní vakuová sušárna (Memmert)
- vibrační mlýnek Retsch MM200
- lisovací souprava
- hydraulický lis (TRYSTOM spol. s.r.o., Olomouc)
- elektronový mikroskop VEGA3 SBU (TESCAN ORSAY HOLDING, a.s., Brno, Česká republika) se zabudovaným energiově disperzním rentgenovým mikroanalytickým systémem Quantax (Bruker Nano XFlash® Detektor 410-M, software Quantax Esprit 1.9, Bruker Nano GmbH, Berlín, Německo) a s řídicím programem VegaTC
- PARAFILM® M (Pechiney Plastic Packaging, Inc.)
- oboustranná lepící uhlíková páska
- FTIR spektrometr NICOLET 6700 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Spojené státy americké) s programem OMNIC™

2.2 Využité PC programy

- OriginPro 9, MS Excel 2010, Malování

2.3 Použité chemikálie

- redestilovaná voda
- NaCl p. a.
- HCl (35 %) p. a.

- KH_2PO_4 p. a.
- NaOH p. a.
- KBr (FT-IR grade)

2.4 Příprava použitých disolučních médií

- Disoluční médium o pH 1,2

Příprava roztoku:

500 ml 0,2 M roztoku NaCl smíchat s 850 ml 0,2 M roztoku HCl, po promíchání doplnit redestilovanou vodou na celkový objem 2 l

- Disoluční médium o pH 4,5

Příprava roztoku:

27,22 g KH_2PO_4 rozpustit v 1500 ml redestilované vody, po zkontrolování a úpravě pH 0,1 M roztokem NaOH doředit redestilovanou vodou na celkový objem 2 l

- Disoluční médium o pH 6,8

Příprava roztoku:

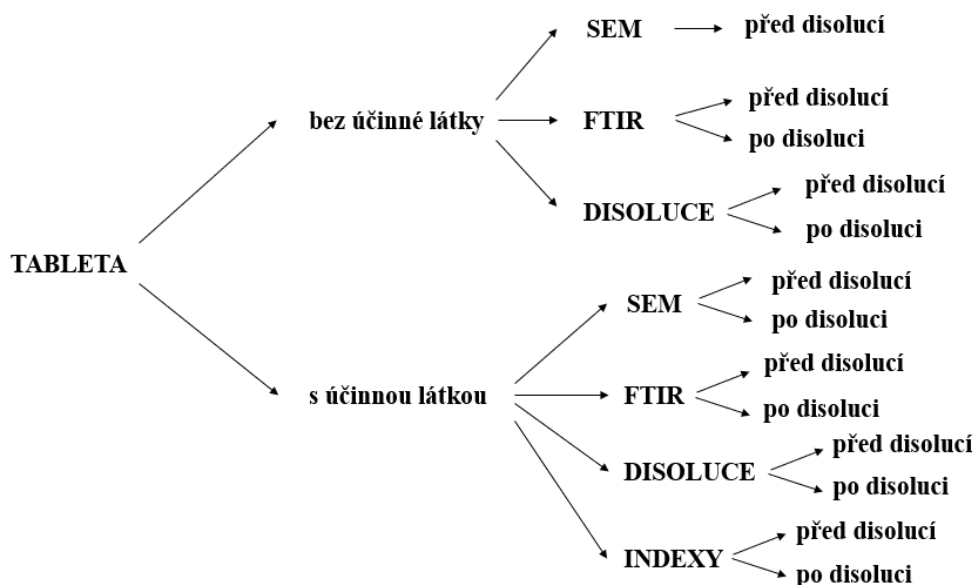
500 ml 0,2 M roztoku KH_2PO_4 smíchat s 224 ml 0,2 M roztoku NaOH, po promíchání, doplnit redestilovanou vodou na konečný objem 2 l

2.5 Matricové tablety

Matricové tablety byly vyrobeny ve spolupráci s Farmaceutickou fakultou Univerzity Karlovy v Hradci Králové. Tablety měly složení, které je uvedeno v tabulce č. 2. Zkoumány byly 3 formulace, které se lišily různým poměrem chitosanu a karagenanu. Celková hmotnost tablet byla vždy 100 mg. Tablety byly použity dle schématu na obrázku č. 3.

Tabulka 2 - Složení matricových tablet

Formulace	Chitosan	Karagenan	Prosolv® SMCC 90	Kyselina salicylová	Stearát hořečnatý
F6N	25 mg	25 mg	29 mg	20 mg	1 mg
F17N	19,75 mg	59,25 mg	0 mg	20 mg	1 mg
F18N	12,5 mg	37,5 mg	29 mg	20 mg	1 mg



Obrázek 3 - Schéma využití tablet

2.6 Charakterizace tablet pomocí SEM

Pro charakterizaci tablet pomocí SEM byl využit mikroskop VEGA-3 SBU od firmy Tescan. Po spuštění přístroje, otevření tlakové láhve s dusíkem a zavzdušnění komory byl vysunut pult, na který se umisťují terčíky se vzorky. Tablety byly přichyceny na terčíky pomocí oboustranné lepicí uhlíkové pásky a poté byly zasunuty do přístroje. Následně bylo v komoře zavedeno nízké vakuum (10 Pa, N₂) a zapnuto vysoké napětí (20 kV). Pro měření byl využit detektor zpětně odražených elektronů. Po nastavení zvětšení a zaostření byly jednotlivé tablety fotografovány. U tablet byl pozorován jejich povrch a po rozkrojení jejich vnitřní struktura. Při pozorování povrchu byly tablety snímány při šířce zorného pole 7 a 1 mm. Při velikosti zorného pole 1 mm byla provedena i strukturní analýza. Poté byly tablety vyjmuty z přístroje a zabaleny do parafilmu, aby je bylo možné rozkrojit. Po rozkrojení byly opět umístěny do mikroskopu. Následně došlo k opětovnému snímání při šířce zorného pole 2-3 mm a 1 mm, kde byla také provedena strukturní analýza. U snímků byla následně studována homogenita a složení tablet. Dále bylo studováno, jaký vliv má na složení tablet různý poměr chitosanu, karagenanu či přítomnost prosolvu. Pro posouzení strukturní analýzy byly měřeny i samostatné látky, ze kterých byly tablety vyrobeny. Poté byly porovnávány rozdíly ve struktuře jednotlivých formulací. Pro ověření vzniku PEC během disolučního testu byly také pozorovány tablety po 24 hodinové disoluci v roztocích o různých pH.

2.7 Charakterizace tablet pomocí FTIR spektroskopie

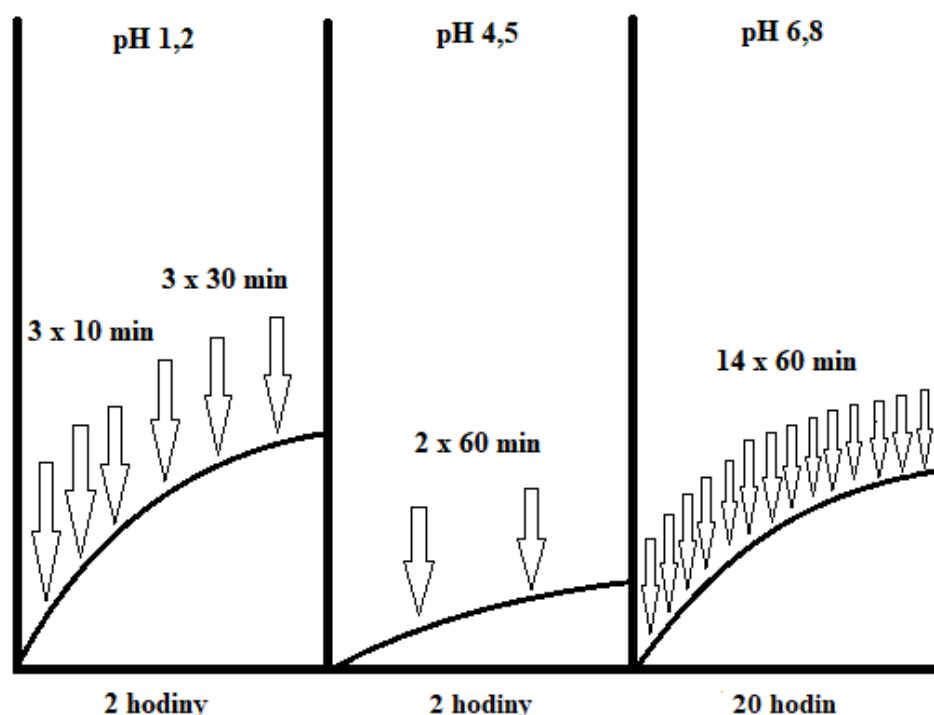
Pro charakterizaci matricových tablet pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací byly připraveny speciální tablety pro tuto techniku. Tablety před a po disoluci byly postupně rozemlety. Pro mletí byly využity 3 různé postupy podle tvrdosti a odolnosti tablet. Nejprve byl využit vibrační mlýnek se speciální formou s korundovou kuličkou. Mletí probíhalo 1 minutu při 25 kmitech za vteřinu. Pokud se tablety nerozemlely, byla využita achátová třecí miska. Nejtvrdší tablety byly drceny tlakem pomocí lisu. Následně probíhaly 3 operace: vážení, mísení s bromidem draselným (KBr) a lisování. Tablety měly vždy celkovou hmotnost 300 mg. Pro výrobu tablet bylo využito dvojí ředění. Nejprve bylo naváženo 15 mg rozemletého vzorku a 285 mg KBr. Poté proběhla homogenizace ve vibračním mlýnku. Mísení probíhalo 1 minutu ve třech fázích s rychlostí 10, 13 a 15 rpm. Ze vzniklé směsi bylo odebráno 30 mg a k nim bylo přidáno 270 mg KBr. Po homogenizaci byla homogenní směs převedena do tabletovací formy a umístěna do hydraulického lisu. Tablety byly lisovány 5 minut při síle 40 kN. Vzniklé tablety byly umístěny do lékovky. Pro vyhodnocování spekter byly připraveny tablety i z čistého chitosanu a karagenanu.

Měření probíhalo pomocí FTIR spektroskopu NICOLET 6700 od firmy Thermo Scientific. Podmínky pro měření byly nastaveny na 64 skenů s rozlišením 4 cm^{-1} . K měření byla využita transmisní KBr metoda s intervalem ve střední infračervené oblasti od 4000 do 400 cm^{-1} . Pro detekci byl využit detektor DTGS/KBr. Při měření se nejprve proměřovaly vzorky tablet a čistých látek, teprve poté okolní atmosféra. Pro měření a úpravu spekter byl využit program OMNIC™.

2.8 Disoluční zkouška tablet

Disoluční zkouška byla provedena pomocí košíčkové metody. Během testu byly využity 3 typy médií o pH 1,2; 4,5 a 6,8. Skleněné válcové disoluční nádoby s 900 ml média byly umístěny do vytemperované vodní lázně disolučního přístroje. Teplota lázně byla $37 \pm 0,5$ °. Po nastavení vybrané metody s rychlostí míchání 50 rpm a vytemperování soustavy byly tablety umístěné v košíčcích vloženy do nádob s médiem. Celý disoluční test trval 24 hodin. Schéma experimentu je uvedeno na obrázku č. 4. Tablety byly nejprve umístěny do média o pH 1,2 po dobu 2 hodin. Poté byly přemístěny do média o pH 4,5. Po dalších 2 hodinách byly přesunuty do média o pH 6,8, kde byly až do ukončení testu. Během zkoušky proběhlo 22 odběrů v časových intervalech 3 x 10 min, 3 x 30 min a 16 x 60 min. Odebrané vzorky byly následně spektrofotometricky proměřeny. Tablety byly před a po proběhnutí testu fotografovány,

aby bylo možné následně určit vliv disolučního média na tvorbu polyelektrolytového komplexu.



Obrázek 4 - Schéma provedení disoluční zkoušky

2.9 Stanovení indexů

Pro stanovení indexů bobtnání, eroze a míry absorpce disolučního média byly tablety váženy. Vážení proběhlo vždy před testem, po proběhnutí disoluce a po 24-hodinovém sušení v předem vytemperované sušárně na teplotu 40°C. Vzorky byly váženy s košíčkem i samostatně. Tablety, které byly umístěny v pH 1,2 a 4,5 byly vytaženy po 2 hodinách disoluce, zatímco tablety z pH 6,8 byly vytaženy až po 20 hodinách, kdy byl test ukončen. Vytahování tablet charakterizuje i schéma na obrázku č. 4. Pomocí získaných hodnot hmotností byly určeny indexy bobtnání a eroze i index popisující míru absorpce disolučního média. Vypočítané indexy byly následně porovnávány.

2.10 Stanovení kyseliny salicylové pomocí UV/VIS spekter

Po ukončení disoluční zkoušky byly odebrané vzorky média spektrofotometricky měřeny. Množství uvolněné účinné látky bylo stanoveno pomocí UV/VIS spektrofotometrie. Měření probíhalo při vlnové délce 298 nm, která odpovídala absorpčnímu maximu kyseliny salicylové. Zároveň byly pro měření nastaveny hodnoty korelace v rozmezí 260 – 325 nm.

Při dané vlnové délce byla odečtena hodnota absorbance proti čistému médiu, ve kterém se tablety rozpouštěly. Jelikož byly tablety po 2 hodinách dvakrát přemísťovány, bylo prvních 6 odběrů měřeno proti médiu o pH 1,2. Další dva odběry proti médiu o pH 4,5 a zbylé odběry proti pH 6,8. Pro získání koncentrace byla využita metoda kalibrační křivky. Rovnice kalibračních křivek byly získány měřením z připravených kalibračních roztoků.

3 VÝSLEDKY

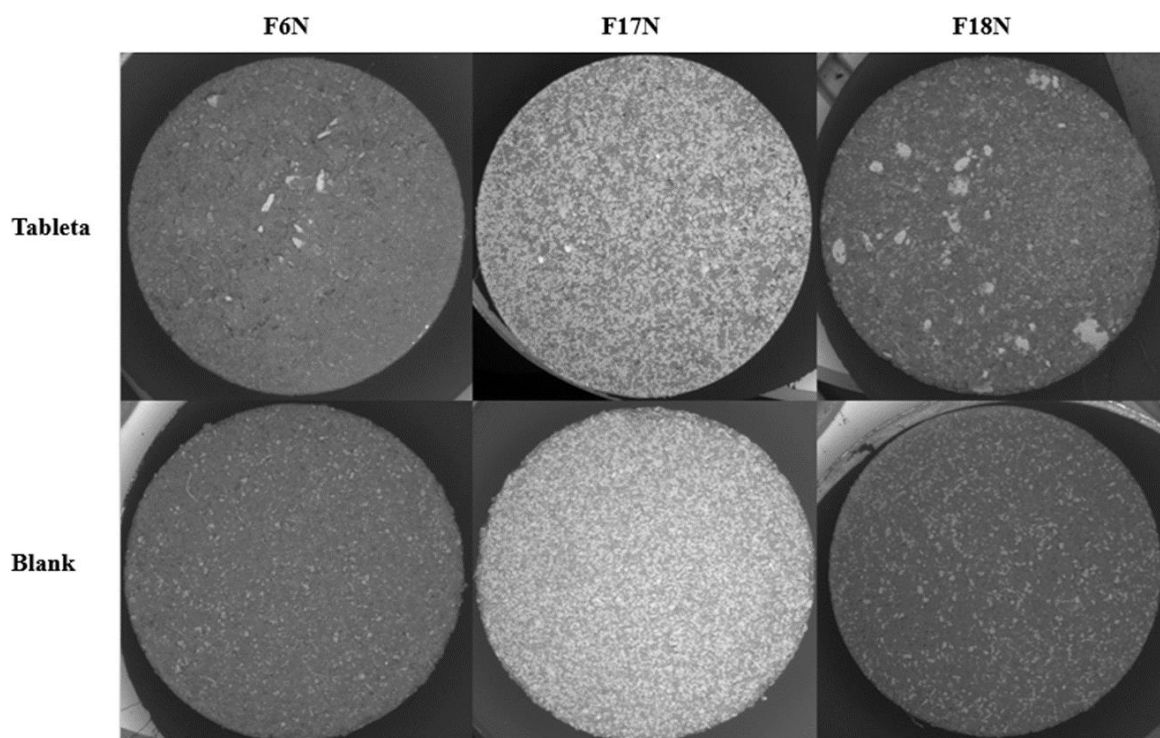
3.1 SEM

3.1.1 Pozorování SEM

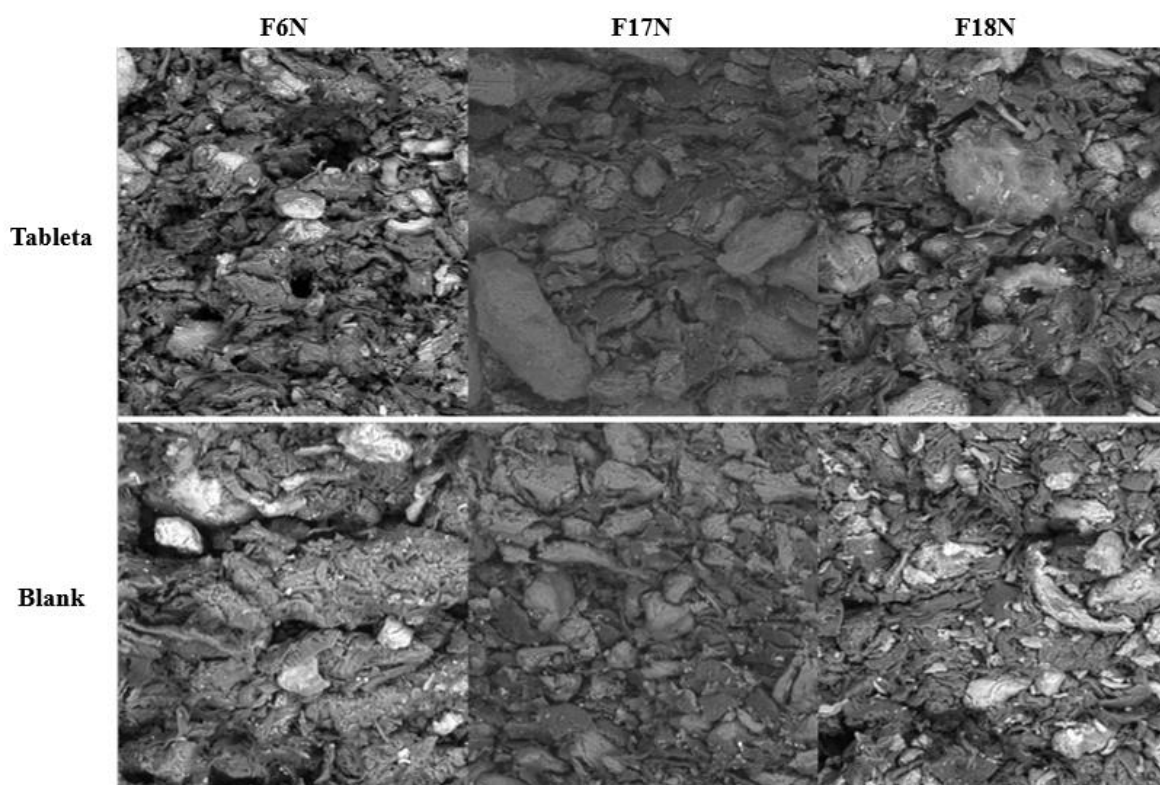
Snímky tablet získané pomocí techniky SEM jsou na obrázku č. 5 a 6. U prvního snímku při šířce zorného pole 7 mm jsou zachyceny tablety v celé velikosti. Při porovnání tablet s účinnou látkou a bez ní jsou patrné rozdíly ve vzhledu. Při pozorování tablet jsou u všech formulací viditelné bílé částice účinné látky, kyseliny salicylové. Dále je u formulací F6N a F18N viditelný odlišný vzhled od formulace F17N. Rozdíl je způsoben přítomností pojiva Prosolvu® SMCC 90 u formulace F6N a F18N. Částice chitosanu a karagenanu nelze při této velikosti zorného pole identifikovat. Při šířce zorného pole 1 mm nebyly u formulací pozorovány významné rozdíly. Povrch tablet se při měření snadno nabíjel díky přítomnosti kyseliny salicylové.

3.1.2 Analýza EDX

S využitím analýzy EDX byla vyhodnocena homogenita a složení tablet. Ve vybraných bodech došlo ke zkoumání složení. Analýza prokázala, že všechny tablety obsahují v různých procentuálních poměrech vždy uhlík a kyslík. Tyto prvky dokazují přítomnost chitosanu a karagenanu v tabletách. Dále zde bylo identifikováno stopové množství křemíku, síry, sodíku, draslíku a vápníku. Přítomnost křemíku poukazuje na obsah Prosolvu® SMCC 90 v tabletách. Obsah křemíku byl od 0,3 do 1,4 % u formulací F6N a F18N, které Prosolv® SMCC 90 obsahovaly. Výskyt síry v rozsahu od 0,2 do 14,8 % je důkazem přítomnosti částic karagenanu v tabletách, jelikož karagenan obsahuje síranové skupiny. Při analýze čistých látek bylo u karagenanu zjištěno stopové množství sodíku, draslíku a vápníku. Proto se tyto látky vyskytovaly i v tabletách. Při posouzení vzhledu tablet vzhledem ke složení jednotlivých formulací byly vyvozeny následující závěry. Formulace F6N obsahovala 25 mg chitosanu i karagenanu. Tablety měly homogenní povrch a vizuálně nebyly identifikovatelné žádné částice oproti dalším formulacím. F18N měla vyšší obsah karagenanu než chitosanu. U tablet byly již pozorovatelné dva druhy částic a povrch nebyl tak homogenní. Poslední formulace F17N měla nejvyšší obsah karagenanu. U vzorku byly jasně viditelné dva typy částic.



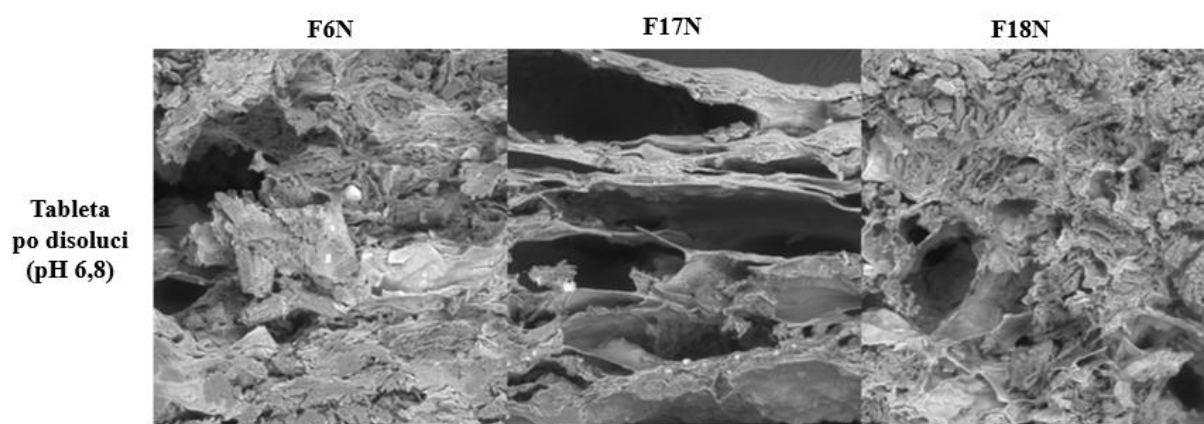
Obrázek 5 - Povrch matricových tablet při šířce zorného pole 7 mm



Obrázek 6 - Povrch matricových tablet při šířce zorného pole 1 mm

3.1.3 Pozorování tablet po disoluci

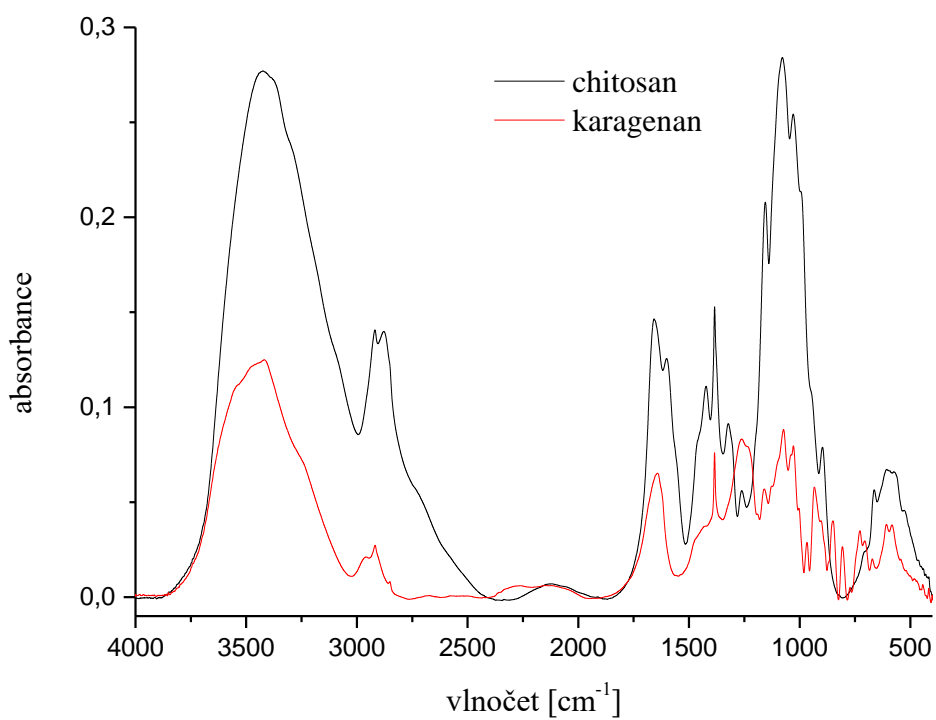
Snímky tablet po disoluci jsou na obrázku č. 7. Porovnáním snímků tablet před a po disoluci, vidíme změnu ve struktuře tablet. U tablet nejsou pozorovatelné odlišné částice. Každá z formulací vytvořila jinou strukturu díky odlišnému poměru chitosanu a karagenanu. U všech tablet jsou viditelné dutiny. Formulace F6N a F18N mají méně dutin a jednodušší strukturu, jelikož nemají tak vysoký obsah karagenanu. Formulace F17N obsahovala ve struktuře mnoho velkých dutin, jejichž vznik byl nejspíše způsoben vyšším obsahem karagenanu v matrici. EDX analýzou v různých bodech bylo prokázáno, že tablety nemají odlišné složení.



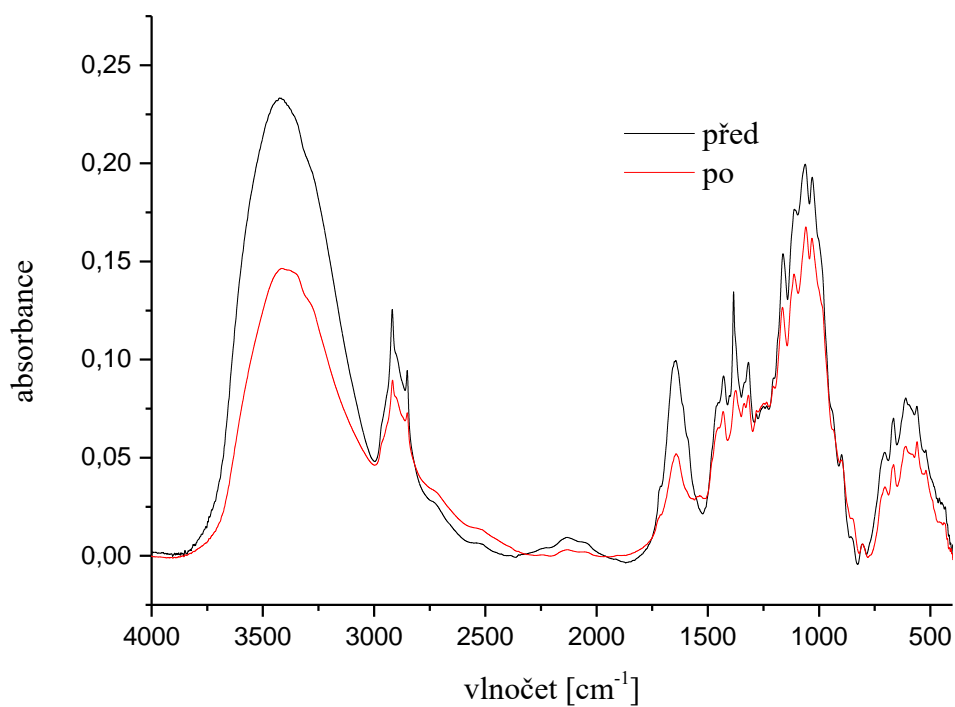
Obrázek 7 - Snímek matricových tablet po provedení disoluční zkoušky (šířka zorného pole 1 mm)

3.2 FTIR spektra studovaných tablet

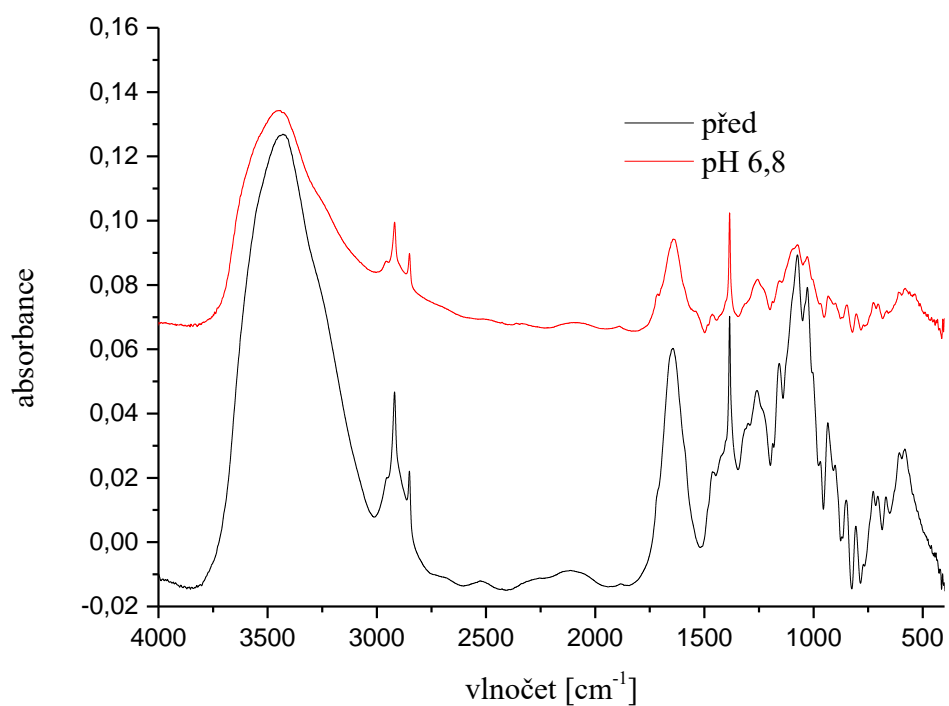
Pro charakterizaci matricových tablet byla využita spektra čistých látek i jednotlivých tablet před a po provedení disolučního testu. Na obrázku č. 8 jsou znázorněna spektra čistého chitosanu a karagenanu. Pomocí literárních zdrojů byly identifikovány významné absorpční pásy ve spektrech obou látek. Pomocí nich byly určeny odpovídající vazby, které jsou typické pro dané látky. Obrázky č. 9, 10 a 11 zobrazují spektrum tablet bez a s účinnou látkou pro jednotlivé formulace. Každá formulace obsahuje srovnání spektra před a po proběhnutí disolučního testu. Na základě těchto spekter byly identifikovány pásy odpovídající vzniku chitosan-karagenanového PEC. Všechny intenzivní pásy pro chitosan, karagenan a jejich PEC jsou uvedeny v tabulce č. 3.



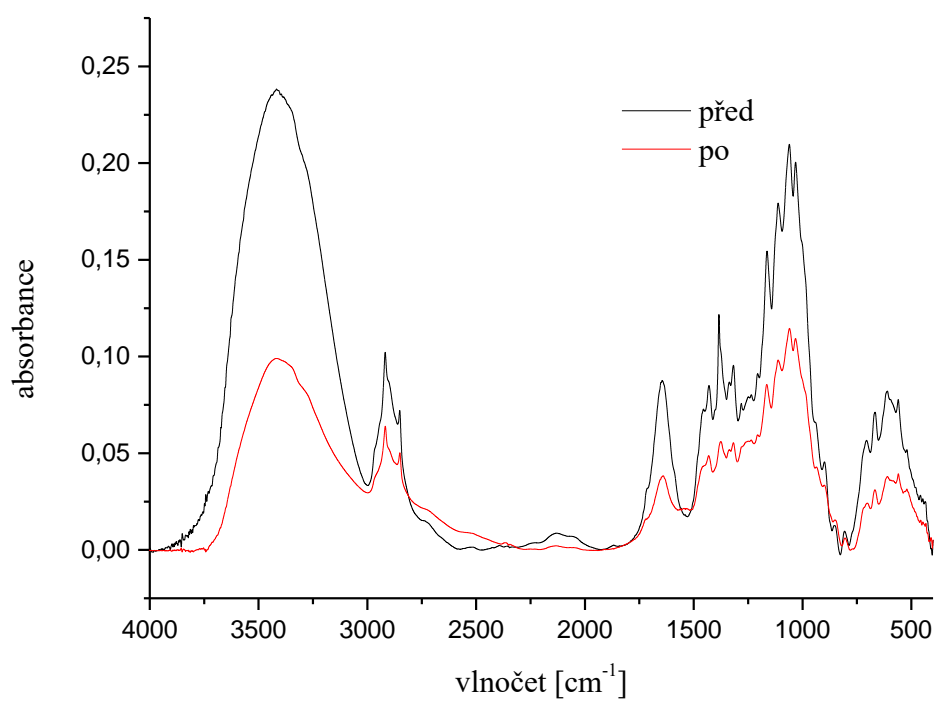
Obrázek 8 - Infračervené spektrum čistého chitosanu a karagenanu



Obrázek 9 - Spektrum tablety bez účinné látky pro formulaci F6N



Obrázek 10 - Spektrum tablety bez a s účinnou látkou pro formulaci F17N



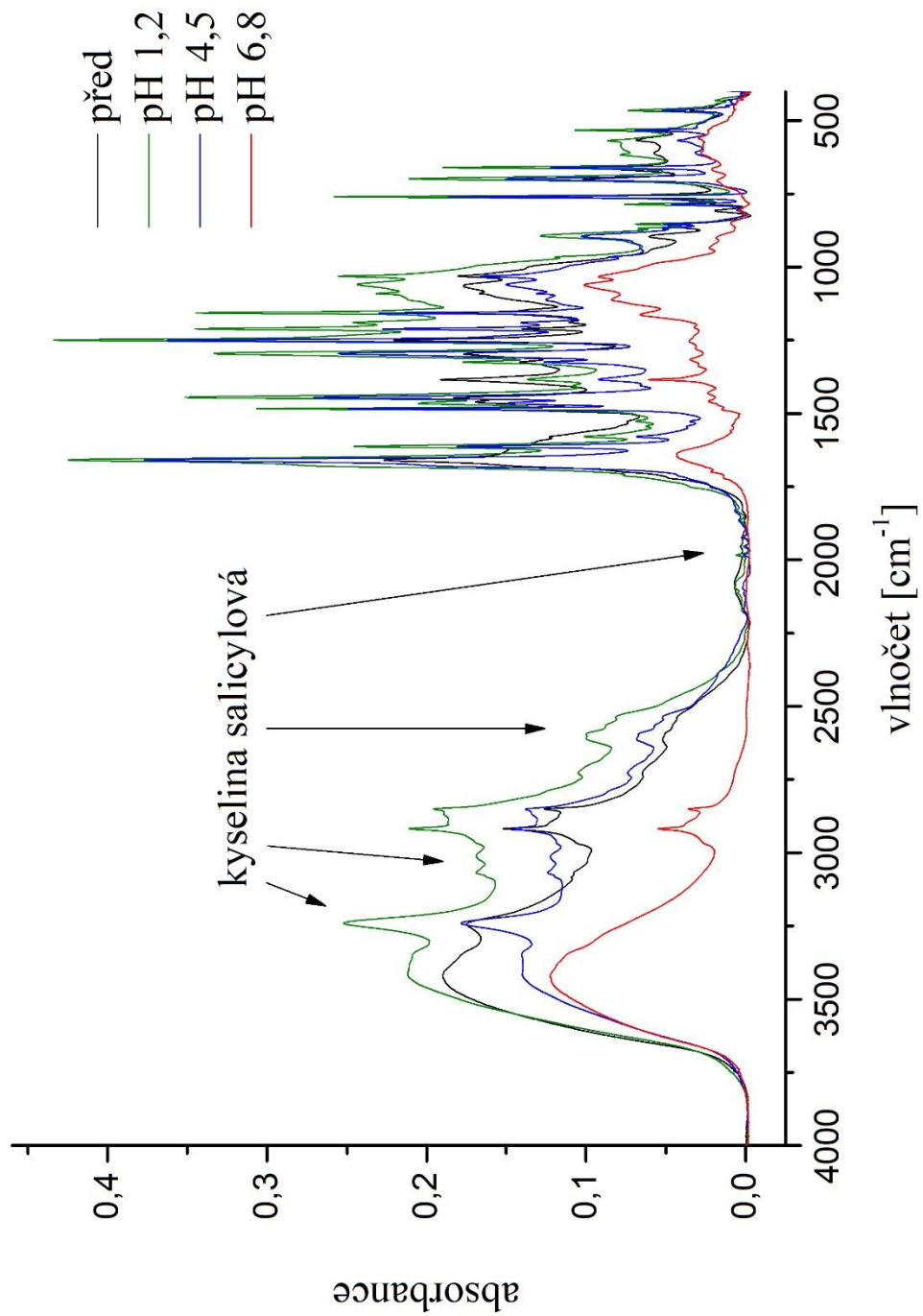
Obrázek 11 - Spektrum tablety bez účinné látky pro formulaci F18N

Tabulka 3 - Vlnočty charakteristické pro chitosan, karagenan a jejich PEC

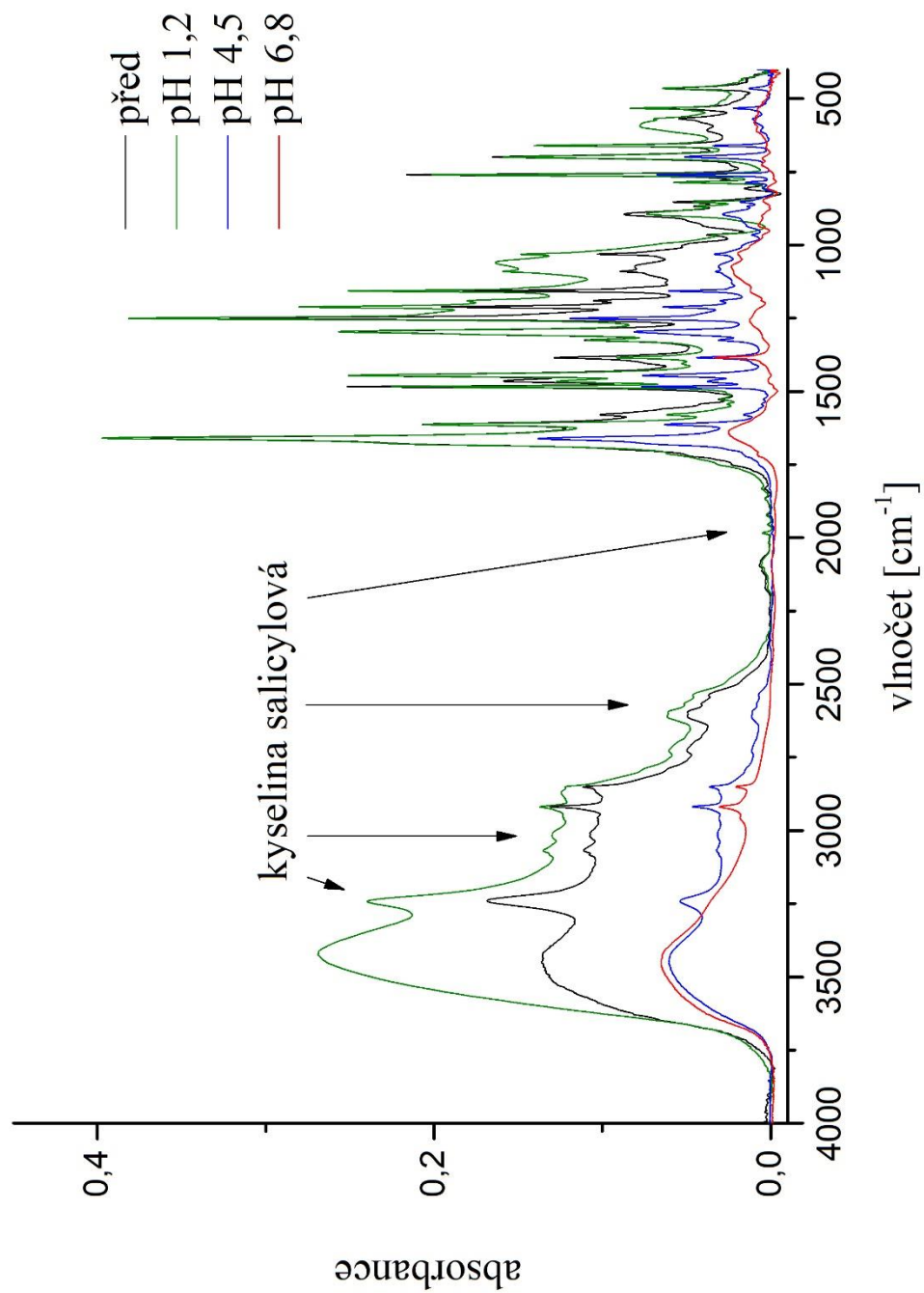
Typ vibrace	Vlnočť [cm ⁻¹]		
	Chitosan	Iota-karagenan	PEC
valenční vibrace N-H vazby	3430 ^a 3426		
deformační N-H vibrace (amid I)	1655 ^b 1655 ^c 1655		
deformační vibrace N-H vazby (amid II)	1599 ^d 1593 ^c 1600		
deformační vibrace CH ₃ + CH ₂	1425+1384 ^e 1423+1384		
vibrace C-N vazby (amid III)	1320 ^f 1330 ^e 1321		
vibrace C-O vazby (glykosidová vazba)	1075 ^e 1081 ^g 1084-1079 ^d 1079		
vibrace C=O vazby (sekundární amin)		1654 ^h 1647	
S-O asymetrická vibrace (sulfátová skupina)		1258 ^d 1255	
S-O vibrace (interakce ester sulfátu)		1225-1152 ^h 1159	
C-O-S vibrace (v α(1-3)-D-galaktóze)		842 ^d 850	
vibrace amino skupiny NH ₃ ⁺			1558 ^h F6: 1561-1510 F17: 1556-1527 F18: 1569-1505

^a [7], ^b [12], ^c [41], ^d [42], ^e [43], ^f [44], ^g [45], ^h [46]

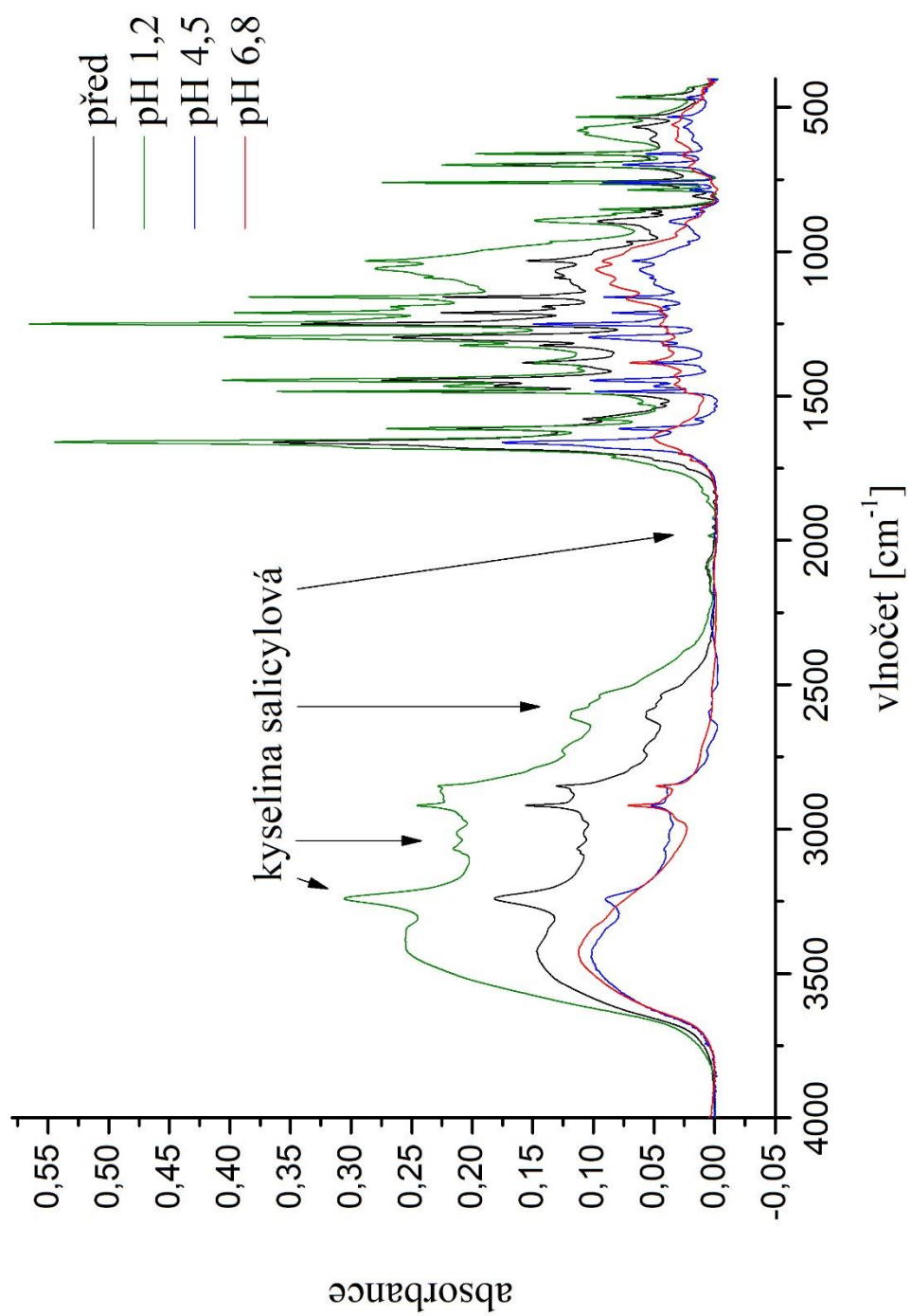
Obrázky č. 12, 13 a 14 zobrazují spektra tablet s účinnou látkou. U každé formulace jsou znázorněna spektra pro tabletu před provedením testu i po jeho provedení v roztocích o pH 1,2, 4,5 a 6,8. U každého z grafů jsou zvýrazněné pásy typické pro kyselinu salicylovou, která se postupně během disoluce uvolňuje.



Obrázek 12 - Spektrum tablety s účinnou látkou - formulace F6N



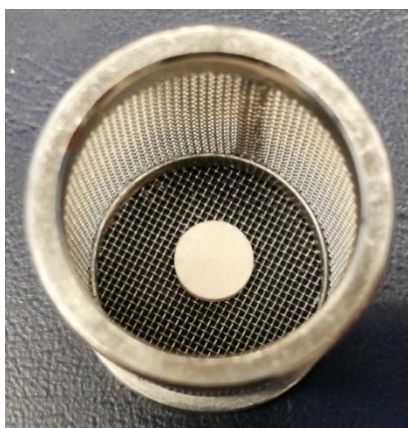
Obrázek 13 - Spektrum tablety s účinnou látkou - formulace F17N



Obrázek 14 - Spektrum tablety s účinnou látkou - formulace F18N

3.3 Disoluční test

Tablety o 3 různých složeních byly podrobeny disoluční zkoušce. V daných časových intervalech byly přemísťovány do médií o pH 1,2, 4,5 a 6,8, aby bylo možné později zkoumat, zda došlo ke zpomalení procesu uvolňování léčiva vlivem vzniku PEC a jaký vliv má pH disolučního média na tvorbu PEC. Jednotlivé tablety byly fotografovány po vytažení a vysušení. Obsah účinné látky v disolučním médiu byl stanoven s využitím UV/VIS spektrofotometrie. Měření úbytku hmotnosti tablet byly stanoveny jednotlivé indexy.



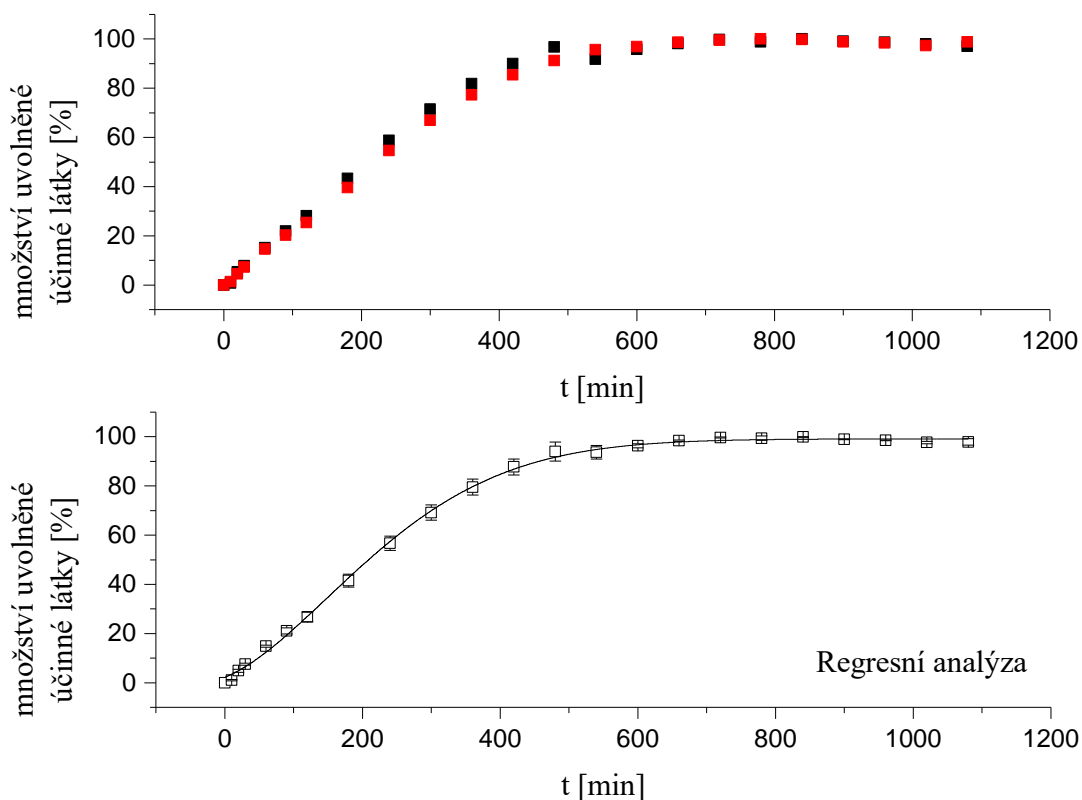
Obrázek 15 - Tableta před disoluční zkouškou

3.3.1 Disoluční profil matricových tablet

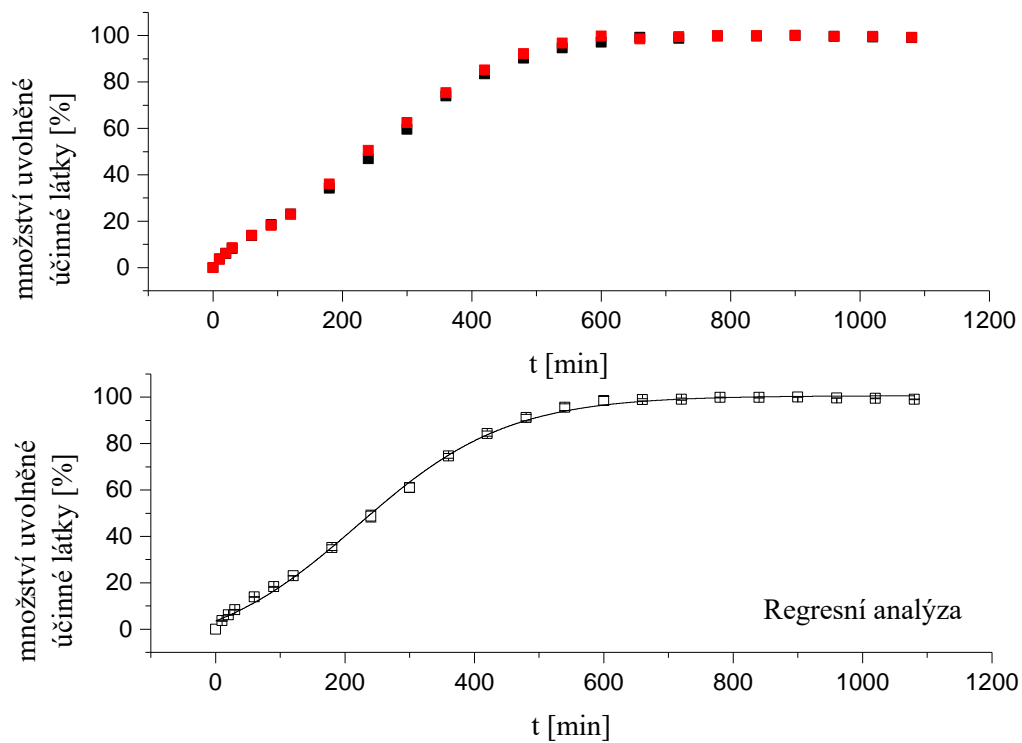
Po provedení disolučního testu byly proměřením vzorků získány absorbance. Pomocí metody kalibrační přímky byly absorbance přepočteny na množství uvolněné účinné látky. Následně byly z dat sestrojeny disoluční profily zkoumaného léčiva pro jednotlivé formulace. Obrázky č. 16, 17 a 18 znázorňují závislost množství uvolněné účinné látky na čase. Každá formulace tablet byla vyhodnocována samostatně. U grafů jsou v horní části znázorněna experimentální data bez směrodatných odchylek, zatímco ve spodní části je provedena z dat regresní analýza. Formulace F6N vyhovovala obecnému Weibullovu model. Formulace F17N a F18N nevyhovovaly obecně užívaným modelům i Weibullově modelu. Pro vyhodnocení byl využit empirický farmakologický model nabízený Originem, který se využívá pro zpracování disolučních profilů léčiv. Body jsou zde uvedeny jako průměrné hodnoty se směrodatnými odchylkami.

Kalibrace byla provedena měřením kalibračních roztoků v rozmezí od 1,25 – 20 mg/100 ml. Koncentrace v kalibračních rovnicích je uvedena v mg/l. Kalibrační přímky pro přepočítání absorbance pro jednotlivé pH:

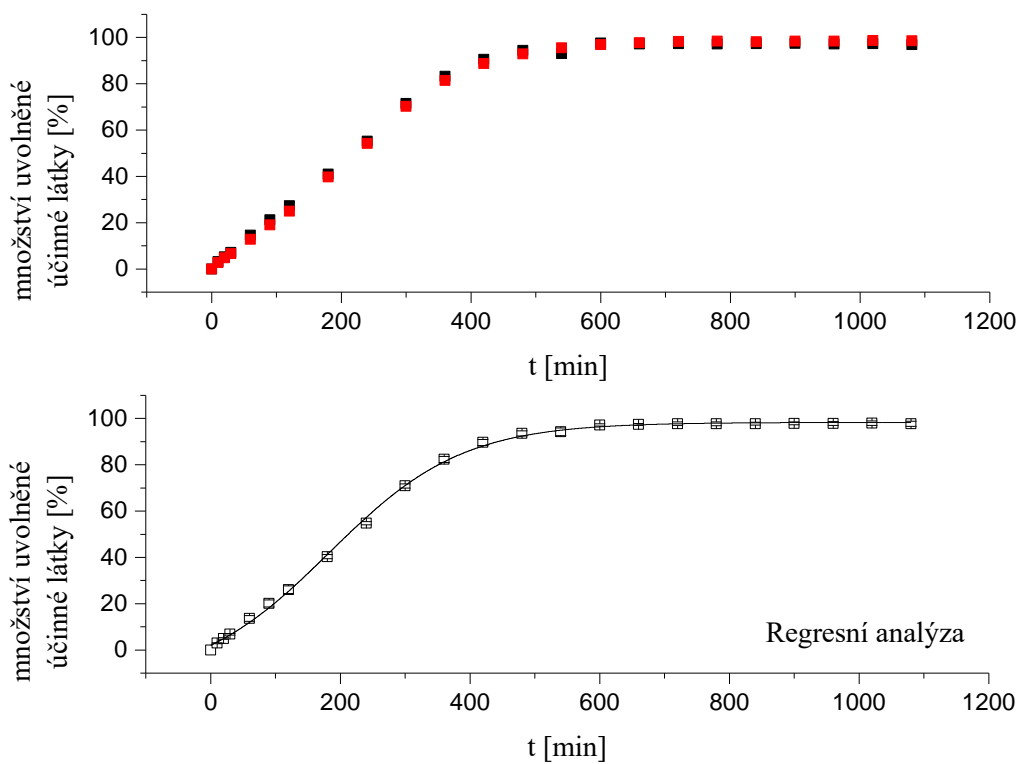
- pH 1,2: $A = 0,0104 * c - 5,875 \cdot 10^{-5}$
- pH 4,5: $A = 0,0103 * c + 3,917 \cdot 10^{-4}$
- pH 6,8: $A = 0,0107 * c - 9,167 \cdot 10^{-5}$



Obrázek 16 - Množství uvolněné kyseliny salicylové v závislosti na čase u formulace F6N



Obrázek 17 - Množství uvolněné kyseliny salicylové v závislosti na čase u formulace F17N



Obrázek 18 - Množství uvolněné kyseliny salicylové v závislosti na čase u formulace F18N

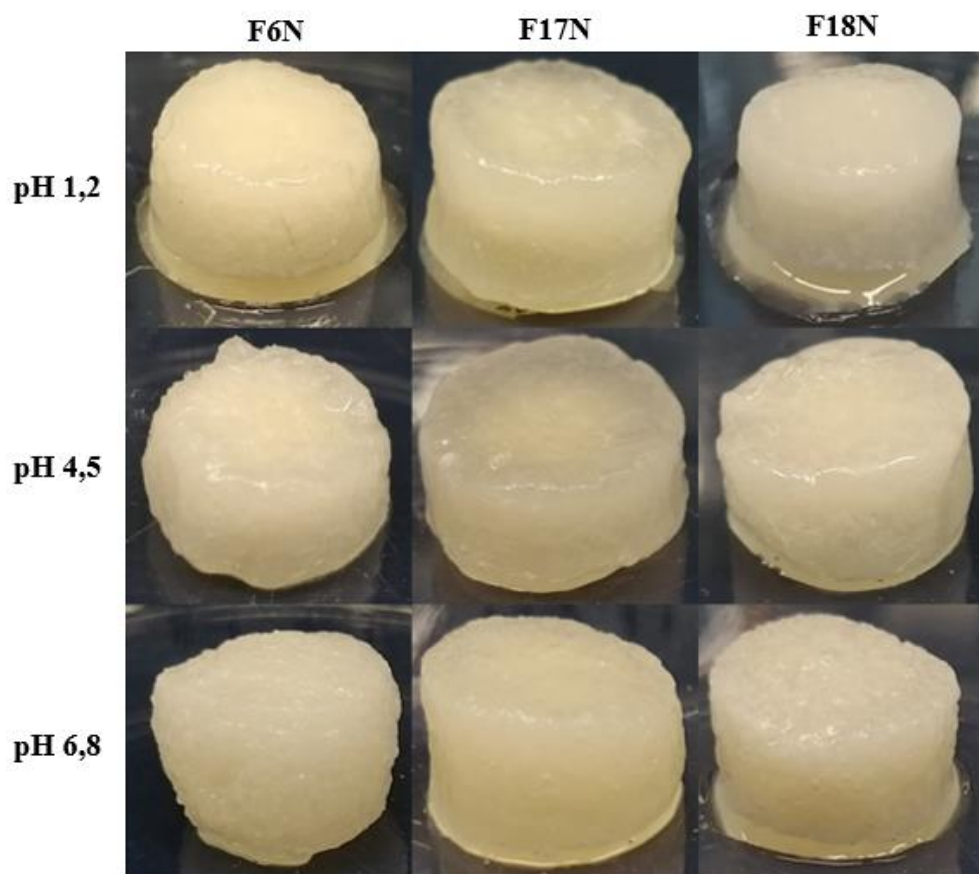
3.4 Vizuální popis tablet

Na obrázcích č. 19 a 20 je uvedena změna tvaru tablet po provedení disolučního testu a po vysušení v sušárně. U formulace F6N po 2 hodinách disoluce v pH 1,2 je patrné, že tableta nabobtnala do kompaktního útvaru. Z obrázku je patrné sušší jádro tablety, takže médium nedosáhlo až do jejího středu. Po dalších 2 hodinách v médiu o pH 4,5 je stále pozorovatelné sušší jádro tablety. Tableta dalším bobtnáním ztratila formu kompaktního útvaru. Po převedení do média o pH 6,8, kde tableta zůstala po zbylých 20 hodin, je viditelné, že médium proniklo až do středu tablety. Tableta zde nabobtnala do maximálního rozměru a dosáhla i svého největšího objemu. Během disoluce nedocházelo k viditelné ztrátě materiálu tablet. Po vysušení tablety vytvořily kompaktní útvar. Tablety z pH 1,2 a 4,5 měly tenký okraj ohraničující kompaktní útvar. Všechny tablety se odlišovaly i barvou podle pH disolučního média.

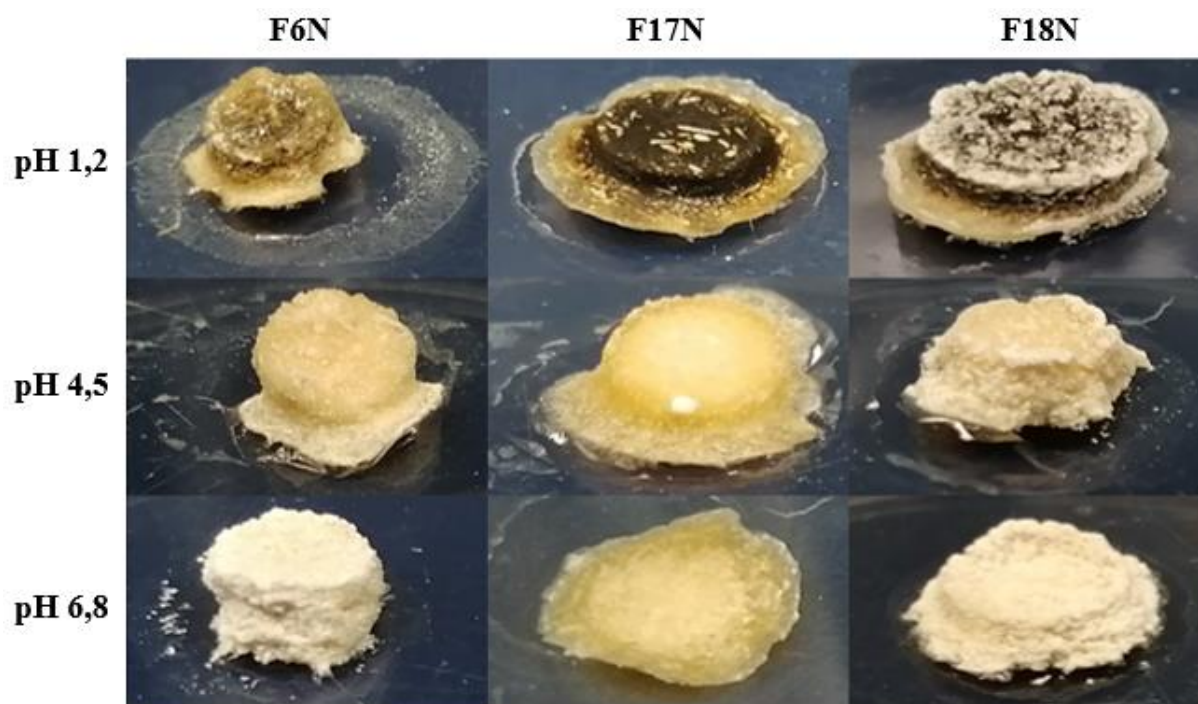
Formulace F17N po 2 hodinách v pH 1,2 nabobtnala do válcovitého kompaktního útvaru. Ve středu tablety je viditelné suché jádro tablety. Další 2 hodinovou disolucí v pH 4,5 došlo k pokračování procesu bobtnání. Suché jádro tablety bylo stále pozorovatelné. Po disoluci v pH 6,8 tableta dosáhla maximálního objemu i nabobtnání. Suchý střed tablety nebyl již pozorovatelný. Během testu tablety neztrácely materiál. Po vysušení měly všechny tablety tenký okraj ohraničující kompaktní suchý útvar. Tablety v pH 1,2 a 4,5 seschly do podobného útvaru, zatímco tableta z pH 6,8 vytvořila tenký plátek. U pH 1,2 byla patrná barevná odlišnost od zbylých dvou.

Poslední formulace F18N po dvouhodinové disoluci v prvním médiu nabobtnala do kompaktního válcovitého útvaru. Médium neproniklo až do středu tablety. Po další disoluci v pH 4,5 tablety nabobtnala více do stran. Suché jádro bylo stále pozorovatelné. V posledním pH tableta dosáhla maximálního nabobtnání i objemu. Médium zde dosáhlo až do středu tablety. K viditelné ztrátě materiálu během zkoušky opět nedošlo. Po vysušení vytvořily všechny tablety zvrásněný kompaktní útvar s prohlubní ve svém středu. Tablety měly vytvořený útvar ohraničený tenkým okrajem. Tableta z pH 1,2 měla tenký bílý povlak na svém povrchu. U všech byla viditelná barevná odlišnost.

Všechny tablety vytvořily kompaktní útvary po vložení do média o pH 1,2. U formulací F17N a F18N je tvorba kompaktního útvaru mnohem více patrná než u tablety F6N, jelikož tyto dvě formulace obsahovaly mnohem více karagenanu ve své molekule.



Obrázek 19 - Tablety po disoluční zkoušce



Obrázek 20 - Tablety po 24-hodinovém sušení

3.5 Indexy

Pro stanovení hodnot jednotlivých indexů byly tablety váženy. Index bobtnání je parametr charakterizující množství absorbované vody, zatímco index eroze vystihuje ztrátu materiálu matricové tablety. Míra absorpce disolučního média je pak další parametr definující přírůstek hmotnosti tablety. Jednotlivé hmotnosti tablet a hodnoty vypočítaných indexů jsou uvedeny v tabulce č. 4.

Příklad výpočtu indexu bobtnání:

$$B = \frac{m_B}{m_0} \cdot 100 = \frac{0,8531}{0,0988} \cdot 100 = 864 \%$$

Příklad výpočtu indexu eroze:

$$E = \left(1 - \frac{m_0 - m_S}{m_0}\right) \cdot 100 = \left(1 - \frac{0,0988 - 0,0862}{0,0988}\right) \cdot 100 = 87 \%$$

Příklad výpočtu míry absorpce disolučního média:

$$M = \frac{m_B - m_S}{m_S} \cdot 100 = \frac{0,8531 - 0,0862}{0,0862} \cdot 100 = 890 \%$$

m_0 ... hmotnost tablety před disolucí [g]

m_B ... hmotnost tablety po disoluci [g]

m_S ... hmotnost tablety po 24-hodinovém sušení [g]

Tabulka 4 - Hmotnosti tablet a indexy pro jednotlivé formulace tablet

Formulace	pH	m_0 [g]	m_B [g]	m_S [g]	Index bobtnání [%]	Index eroze [%]	Míra absorpce disolučního média [%]
F6N	1,2	0,0988	0,8531	0,0862	864	87	890
	4,5	0,0984	1,0037	0,0787	1020	80	1175
	6,8	0,0989	1,1946	0,0603	1208	61	1881
	6,8	0,1000	1,1061	0,0617	1106	62	1693
F17N	1,2	0,1004	1,1816	0,0852	1177	85	1287
	4,5	0,0947	1,5375	0,0880	1624	93	1647
	6,8	0,0952	1,1424	0,0364	1200	38	3039
	6,8	0,0985	1,2513	0,0410	1270	42	2952
F18N	1,2	0,0990	0,7961	0,0394	804	40	1921
	4,5	0,1023	1,2996	0,0894	1270	87	1354
	6,8	0,0985	0,9635	0,0520	978	53	1753
	6,8	0,0992	0,9850	0,0535	993	54	1741

3.6 Diskuse výsledků

Na základě získaných dat bylo provedeno porovnání vlivu disolučního média na tvorbu PEC v jednotlivých matricových tabletách. Molekula chitosanu je velmi citlivá na změnu pH. Umístěním tablet do disolučního média o nízkém pH vznikne z chitosanu kladně nabitý polyelektrolyt. Ten poté reaguje se záporně nabitým karagenanem za vzniku pevného jádra PEC. Zvýšením pH dochází k rozrůstání pevného jádra PEC tabletami. Vznik PEC v matricových tabletách následně podpoří postupné prodloužené uvolňování účinné látky z tablet.

Na základě měření SEM byla u jednotlivých tablet prokázána přítomnost chitosanu a karagenanu, které jsou hlavní složky důležité pro vznik PEC. Tablety po 24-hodinové disoluci a vysušení byly pozorovány po rozkrojení. U všech byl prokázán vznik PEC, jelikož u tablet nebyly viditelné odlišné částice. Vznik PEC v tabletách při disoluční zkoušce také podpořila EDX analýza, která neprokázala odlišné složení tablet.

Pomocí FTIR spektroskopie byly identifikovány pásy typické pro vazby v molekulách chitosanu a karagenanu. Ze spekter tablet bez a s účinnou látkou bylo identifikováno nejprůkaznější rozmezí, ve kterém se nacházely pásy dokazující vznik PEC v tabletách.

Tyto pásy se nacházely v okolí 1558 cm^{-1} . Ze spekter tablet s účinnou látkou bylo prokázáno postupné uvolnění kyseliny salicylové z tablet.

U tablet byly získány indexy bobtnání, eroze i míry absorpce disolučního média pro jednotlivé pH. U formulace F6N index bobtnání a míra absorpce disolučního média rostly se zvyšujícím se pH. Index eroze oproti nim se zvyšujícím se pH klesal. Klesání tohoto indexu způsobil postupný růst PEC. Obrázky č. 19 a 20 podporují vypočítané indexy.

Index bobtnání a eroze u formulace F17N dosáhl nejvyšší hodnoty u pH 4,5, po přemístění do pH 6,8 jejich hodnota poklesla. Hodnota míry absorpce disolučního média se zvyšovala se zvyšujícím pH. Hodnoty indexů podporují i fotografie tablet na obrázcích č. 19 a 20.

Poslední formulace F18N měla index bobtnání a eroze nejvyšší u pH 4,5, zatímco u pH 6,8 jejich hodnoty také poklesly jako u formulace F17N. Míra absorpce disolučního média měla nejvyšší hodnotu u pH 1,2, poté klesla a v pH 6,8 opět narostla. Snímky tablet podpořily stanovené hodnoty indexů.

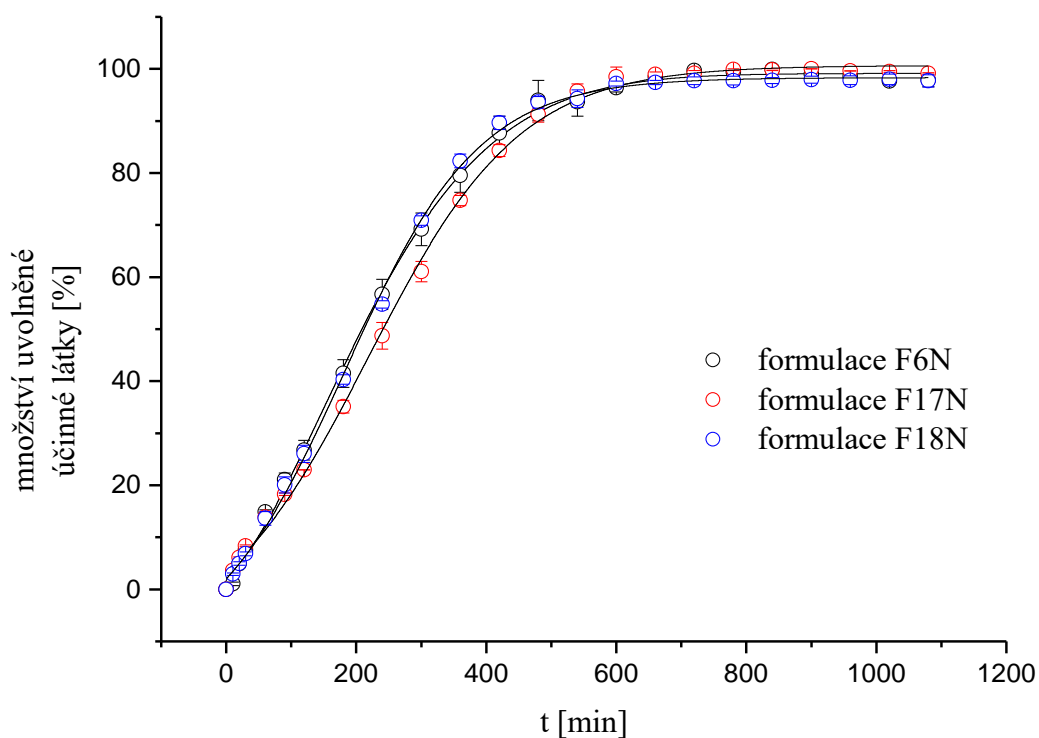
Odlíšné hodnoty indexů jsou způsobeny různým poměrem chitosanu a karagenanu v tabletách. U pH 1,2 dosáhly nejnižších hodnot indexy bobtnání a eroze u formulace F18N. Míra absorpce disolučního média měla nejnižší hodnotu u tablet F6N opět při pH 1,2. Nejvyšších hodnot dosáhly indexy bobtnání a eroze u pH 4,5 ve formulaci F17N. Míra absorpce disolučního média byla nejvyšší u pH 6,8 také v tabletách F17N. Nejvyšší hodnoty u tohoto typu tablet byly způsobeny vysokým obsahem karagenanu, jelikož snadno absorbuje vodu. Tablety F6N a F18N obsahovaly menší množství karagenanu, a proto měly hodnoty nižší.

Je tedy zřejmé, že disoluční médium má zásadní vliv na vznik PEC v matricových tabletách. Tento závěr také podporují fotografie tablet na obrázcích č. 19 a 20, kde je viditelné, že tablety vytvářely kompaktní útvary, které prokázaly vznik PEC v tabletách.

Na obrázku č. 21 jsou uvedené disoluční profily jednotlivých formulací. U všech třech je pozorovatelný charakter prodlouženého uvolňování kyseliny salicylové. Profily byly zpracovány pomocí nelineární regresní analýzy. Formulace F6N vyhovovala obecnému empirickému Weibullovu modelu. Avšak formulace F17N a F18N tomuto modelu nevyhovovaly. Pro vyhodnocení byl využit farmakologický model.

U tablet F6N a F18N byl pozorován rychlejší proces uvolnění účinné látky oproti formulaci F17N. Rychlejší uvolňování účinné látky závisí na schopnosti tablety bobtnat.

Bobtnání jim zajišťuje schopnost karagenanu vázat vodu. Z toho vyplývá, že čím více tablety bobtnaly, tím snáze se z nich uvolňovala účinná látka. Avšak proces uvolnění ovlivňuje i obsah karagenanu. Čím více karagenanu tablety obsahovaly, tím více se zpomalil proces uvolňování účinné látky. Tablety F17N obsahovaly nejvíce karagenanu. Díky tomu se vytvořilo nejvíce PEC v tabletách a proces uvolňování se zpomalil. Formulace F18N měla karagenanu menší podíl, a proto měla proces uvolnění léčiva rychlejší. Nejrychlejší uvolnění látky bylo u posledního typu tablet F6N, jelikož obsahovaly nejméně karagenanu.



Obrázek 21 - Srovnání disolučních profilů

4 ZÁVĚR

Hlavním cílem této práce bylo prozkoumat tvorbu PEC a prostudovat vlastnosti karagenanu z hlediska tvorby PEC. Předložené vzorky matricových tablet byly charakterizovány pomocí měření SEM a FTIR spektroskopie. Pro posouzení vlivu disolučního média na tvorbu PEC v matricových tabletách s karagenanem byla provedena disoluční zkouška se třemi disolučními médii o třech různých hodnotách pH. Součástí práce bylo i stanovení indexů bobtnání, eroze a míry absorpce disolučního média. Pro posouzení vzniku PEC byly u tablet popisovány vizuální změny.

Předložené vzorky matricových tablet byly charakterizovány pomocí měření SEM a FTIR spektroskopie. Měření pomocí techniky SEM byla prokázána přítomnost látek, které jsou hlavní složky důležité pro vznik PEC. Pozorováním tablet po provedení disolučního testu byl prokázán vznik PEC v matricových tabletách. Ze spekter získaných pomocí FTIR spektroskopie byla identifikována nejprůkaznější oblast výskytu pásu typického pro tvorbu PEC. Bylo zjištěno, že obě metody v kombinaci s disolučním testem jsou vhodné pro studium tvorby PEC, jeho chování i vlastností. Existují však i další metody vhodné pro charakterizaci PEC v tabletách, například diferenční skenovací kalorimetrie či rentgenová difrakční analýza.

Pomocí disoluční zkoušky předložených tablet byly získány disoluční profily kyseliny salicylové. Tablety byly během disoluční zkoušky přemísťovány z média o pH 1,2 do média o pH 4,5 a na závěr do média o pH 6,8. Cílem bylo simulovat podmínky v trávicím traktu. V kombinaci s metodami SEM a FTIR byl PEC prokázán ve všech pozorovaných formulacích. Během experimentu byly studovány tři typy tablet s rozdílnými poměry chitosanu a karagenanu. Bylo prokázáno, čím více karagenanu tablety obsahovaly, tím více se zpomalil proces uvolnění účinné látky.

Na základě získaných dat bylo zjištěno, že pH disolučního média má zásadní vliv na tvorbu PEC v matricových tabletách. Tablety s nejvyšším obsahem karagenanu vytvořily nejvíce PEC, díky kterému se zpomalil i proces uvolňování. Poté s klesajícím obsahem karagenanu klesalo i množství tvořeného PEC v tabletách a s tím stoupala rychlost uvolnění účinné látky.

Na základě získaných výsledků by bylo vhodné dané téma více prozkoumat a využít pro charakterizaci PEC i další metody. Jelikož byly zkoumány pouze tři formulace, bylo by dobré vyzkoušet i jiné poměry chitosanu a karagenanu, čímž by se mohl více prozkoumat vznik PEC a jeho vlastnosti i chování.

5 LITERATURA

1. LUO, Yangchao a Qin WANG. Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2014, **64**(53), 353-367 [cit. 2021-02-08]. ISSN 1879-0003. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.12.017>
2. KULKARNI, Abhijeet D., Yogesh H. VANJARI, Karan H. SANCHETI, Harum M. PATEL, Veena S. BELGAMWAR, Sanjay J. SURANA a Chandrakantsing V. PARDESHI. Polyelectrolyte complexes: mechanisms, critical experimental aspects, and applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology: An International Journal* [online]. 2016, **44**(7), 1615-1625 [cit. 2021-02-10]. ISSN 2169-141X. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.3109/21691401.2015.1129624>
3. MACIEL, Jeanny S., Durcilene A. SILVA, Haroldo C.B. PAULA a Regina C.M. DE PAULA. Chitosan/carboxymethyl cashew gum polyelectrolyte complex: synthesis and thermal stability. *European Polymer Journal* [online]. 2005, **41**(11), 2726-2733 [cit. 2021-02-10]. ISSN 1873-1945. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2005.05.009>
4. KRAYUKHINA, Maria A., Nadezhda A. SAMOILOVA a Igor A. YAMSKOV. Polyelectrolyte complexes of chitosan: formation, properties and applications. *Russian Chemical Reviews* [online]. 2008, **77**(9), 799-813 [cit. 2021-02-10]. ISSN 1468-4837. Dostupné z: doi:[10.1070/RC2008v077n09ABEH003750](https://doi.org/10.1070/RC2008v077n09ABEH003750)
5. SIVAKANTHAN, Subajiny, Sarathadevi RAJENDRAN, Ashoka GAMAGE, Terrence MADHUIJITH a Sudhagar MANI. Antioxidant and antimicrobial applications of biopolymers: A review. *Food Research International* [online]. 2020, **136**(109327), 1-19 [cit. 2021-02-08]. ISSN 1873-7145. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109327>
6. GEORGE, Ashish, Mavinkere R. SANJAY, Jyotishkumar PARAMESWARANPILLAI a Suchart SIENGCHIN. A comprehensive review on chemical properties and applications of biopolymers and their composites. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2020, **154**, 329-338 [cit. 2021-02-08]. ISSN 1879-0003. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.120>

7. SUN, Xiaoxiao, Chao LIU, Ahmed M. OMER, Li-Ye YANG a Xiao-kun OUYANG. Dual-layered pH-sensitive alginate/chitosan/kappa-carrageenan microbeads for colon-targeted release of 5-fluorouracil. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2019, **132**, 487-494 [cit. 2021-02-08]. ISSN 1879-0003. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.225>
8. VOLOD'KO, Aleksandra V., Viktoria N. DAVYDOVA, Evgeniy CHUSOVITIN, et al. Soluble chitosan–carrageenan polyelectrolyte complexes and their gastroprotective activity. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2014, **101**(137), 1087-1093 [cit. 2021-02-10]. ISSN 1879-1344. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.049>
9. PACHECO-QUITO, Edison-Mauricio, Roberto RUIZ-CARO a Maria-Dolores VEIGA. Carrageenan: Drug Delivery Systems and Other Biomedical Applications. *Marine Drugs* [online]. 2020, **18**(11), 1-39 [cit. 2021-02-19]. ISSN 1660-3397. Dostupné z: doi:[10.3390/md18110583](https://doi.org/10.3390/md18110583)
10. RINAUDO, Marguerite. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polymer International* [online]. 2008, **57**(3), 397-430 [cit. 2021-02-19]. ISSN 1097-0126. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/pi.2378>
11. GÜNTER, Elena A., Vladislav V. MARTYNOV, Vladislav S. BELOZEROV, Ekaterina A. MARTINSON a Sergey G. LITVINETS. Characterization and swelling properties of composite gel microparticles based on the pectin and κ -carrageenan. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2020, **164**, 2232-2239 [cit. 2021-02-19]. ISSN 1879-0003. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.024>
12. TAPIA, Cristián, Zunilda ESCOBAR, Edda COSTA, Jaime SAPAG-HAGAR, Fernando VALENZUELA, Carlos BASUALTO, María N. GAI a Mehrdad YAZDANI-PEDRAM. Comparative studies on polyelectrolyte complexes and mixtures of chitosan – alginate and chitosan – carrageenan as prolonged diltiazem chloride release systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [online]. 2004, **57**(1), 65-75 [cit. 2021-02-24]. ISSN 1873-3441. Dostupné z: doi:[https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(03\)00153-X](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(03)00153-X)

13. PECHOVÁ, Veronika a Jan GAJDZIOK. *Texturní analýza jako moderní přístup k hodnocení lékových forem* [online]. Brno, 2016 [cit. 2021-03-29]. Dostupné z: <https://docplayer.cz/33180450-Texturni-analyza-jako-moderni-pristup-k-hodnoceni-lekovych-forem.html>. Podklady pro praktická cvičení. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno.
14. RABIŠKOVÁ, Miloslava. Perorální matricové tablety s řízeným uvolňováním léčiva. *Remedia* [online]. 2007, **17**(2), 188-192 [cit. 2021-03-29]. ISSN 2336-3541. Dostupné z: <http://www.remédia.cz/Clanky/Lekove-formy/Peroralni-matricove-tablety-s-rizenym-uvolnovanim-leciva/6-H-hD.magarticle.aspx>
15. *Český lékopis 2002 (ČL 2002): Pharmacopoea Bohemica MMII (Ph. B. MMII) 1. díl*. Praha: Grada, 2002, 1136 s. ISBN 80-247-0464-1.
16. MUSELÍK, Jan, Alena KOMERSOVÁ, Václav LOCHAŘ a Kateřina KUBOVÁ. Regresní analýza disolučního profilu léčiva a odhad mechanismu uvolňování léčiva. *Chemické listy* [online]. 2019, **113**(5), 328-336 [cit. 2021-03-29]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/3359/3315>
17. REED, Stephen J. B. *Electron microprobe analysis and scanning electron microscopy in geology*. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2005, 189 s. ISBN 978-0-521-14230-4.
18. GÜNZLER, Helmut a Harald Böck. *IR-Spektroskopie: eine Einführung*. 2. Aufl. überarb. Weinheim: Chemie Physik Verlag, 1983, 403 s. ISBN 3-527-21089-X.
19. TANIGUCHI, Keiichi a Hirotoshi KAKUTA. Bixalomer, a novel phosphate binder with a small swelling index, improves hyperphosphatemia in chronic kidney disease rat. *European Journal of Pharmacology* [online]. 2015, **766**(1), 129-134 [cit. 2021-03-29]. ISSN 1879-0712. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.10.001](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.10.001)
20. ABRAHAMSSON, Bertil, Magne ALPSTEN, Björn BAKE, Ulf E. JONSSON, Maria ERIKSSON-LEPKOWSKA a Annhild LARSSON. Drug absorption from nifedipine hydrophilic matrix extended-release (ER) tablet-comparison with an osmotic pump tablet and effect of food. *Journal of Controlled Release* [online]. 1998, **52**(3), 301-310

- [cit. 2021-03-29]. ISSN 1873-4995. Dostupné z: doi:[https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(97\)00267-8](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(97)00267-8)
21. ECKERTOVÁ, Ludmila. *Metody analýzy povrchů: elektronová spektroskopie*. Praha: Academia, 1990, 323 s. ISBN 80-200-0261-8.
22. *Elektronová mikroskopie pro biology* [online]. České Budějovice: Jana Nebesářová, 2001 [cit. 2021-03-30]. Dostupné z: <http://triton.paru.cas.cz/old-lem/book/index.html>
23. STUART, Barbara. Infrared Spectroscopy. *Encyclopedia of Chemical Technology* [online]. 2005, **14**, 1-20 [cit. 2021-03-30]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/0471238961.0914061810151405.a01.pub2>
24. SCHEUING, David R. *Fourier transform infrared spectroscopy in colloid and interface science*. Washington: American Chemical Society, 1990, 294 s. ISBN 0-8412-1895-1.
25. MUSELÍK, Jan. Aplikace blízké infračervené spektroskopie ve farmaceutické analýze. *Chemické listy* [online]. 2012, **106**(1), 10-15 [cit. 2021-04-04]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_01_10-15.pdf
26. KANIA, Patrik. *Infračervená spektroskopie* [online]. Praha [cit. 2021-04-04]. Dostupné z: <https://www.vscht.cz/files/uzel/0005766/Infračervená+spektrometrie.pdf?redirected>. Laboratorní návod. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.
27. ALPERT, Nelson L., William E. KEISER a Herman A. SZYMANSKI. *IR: theory and practice of infrared spectroscopy*. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1970, 380 s. ISBN 306-30399-X.
28. FAIX, O. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* [online]. Berlin: Springer, Berlin, Heidelberg, 1992 [cit. 2021-04-04]. ISBN 978-3-642-74065-7. Dostupné z: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-74065-7_7
29. *Český lékopis 2009 (ČL 2009): Pharmacopoea Bohemica MMIX (Ph. B. MMIX)*. Praha: Grada, 2009, 3968 s. ISBN 978-80-247-2994-7.
30. ERWEKA GmbH: Home. *Erweka* [online]. Lagen: ERWEKA, 2021 [cit. 2021-03-31]. Dostupné z: <https://www.erweka.com>

31. DVOŘÁČKOVÁ, Kateřina, Tereza BAUTZOVÁ a Miloslava RABIŠKOVÁ. Disoluční studie v hodnocení perorálních léků s řízeným uvolňováním léčiva. *Chemické listy* [online]. 2011, **105**, 50-54 [cit. 2021-04-01]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_01_50-54.pdf
32. VRANÍKOVÁ, Barbora, Aleš FRANC, Jan GAJDZIOK a David VETCHÝ. Biorelevantní disoluční media simulující podmínky trávicího traktu. *Chemické listy* [online]. 2016, **110**(2), 126-132 [cit. 2021-04-06]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2016_02_126-132.pdf
33. GRUBEROVÁ, Lucie a Bohumil KRATOCHVÍL. Disoluční přístroje pro simulaci in vivo podmínek. *Chemické listy* [online]. 2015, **109**(12), 908-912 [cit. 2021-04-06]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2015_12_908-912.pdf
34. ZOUNAROVÁ, Martina. *Degradace nosičů léčiv in vitro* [online]. Hradec Králové, 2009 [cit. 2021-04-10]. Dostupné z: https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/24752/RPTX_2008_2_11160_0_277774_0_78736.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Rigorózní práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové.
35. CARBINATTO, Fernanda M., Ana D. DE CASTRO, Raul C. EVANGELISTA a Beatriz S.F. CURY. Insights into the swelling process and drug release mechanisms from cross-linked pectin/high amylose starch matrices. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2014, **9**(1), 27-34 [cit. 2021-04-10]. ISSN 1818-0876. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajps.2013.12.002>
36. CACCAVO, Diego, Sara CASCONI, Gaetano LAMBERTI, Anna A. BARBA a Anette LARSON. *Swellable Hydrogel-based Systems for Controlled Drug Delivery* [online]. Turecko: Marmara University, 2016 [cit. 2021-04-10]. ISBN 978-953-51-6652-8. Dostupné z: <https://www.intechopen.com/books/smart-drug-delivery-system/swellable-hydrogel-based-systems-for-controlled-drug-delivery>
37. DASH, Suvakanta, Padala N. MURTHY, Lilakanta NATH a Prasanta CHOWDHURY. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica* [online]. 2010, **67**(3), 217-223 [cit. 2021-04-10]. ISSN 2353-5288. Dostupné z:

https://scholar.google.com/scholar_lookup?author=S%20Dash&atitle=KINETIC%20MODELING%20ON%20DRUG%20RELEASE%20FROM%20CONTROLLED%20DRUG%20DELIVERY%20SYSTEMS&publication_year=2010&hl=en&journal=ACTA%20POLONIAE%20PHARMACEUTICA&volume=67&issue=3&pages=217-223&issn=0001-6837&pmid=20524422

38. CASCONE, Sara. Modeling and comparison of release profiles: Effect of the dissolution method. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2017, **106**(37), 352-361 [cit. 2021-04-10]. ISSN 1879-0720. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.06.021](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.06.021)
39. MARCINIAK, Dominik M., Andrzej DRYS, Janusz PLUTA a Aleksander A. KUBIS. The use of kinetic n-order model in description of active substance release from various drug forms. Part 1. premises and mathematical analysis of the n-order model. *Acta Poloniae Pharmaceutica* [online]. 2008, **65**(1), 101-105 [cit. 2021-04-10]. ISSN 2353-5288. Dostupné z: https://ptfarm.pl/pub/File/wydawnictwa/acta_pol_2008/1/101-105.pdf
40. MARCINIAK, Dominik M., Andrzej DRYS, Janusz PLUTA a Aleksander A. KUBIS. The use of kinetic N-order model in description of active substance release from various drug forms. Part 2. Analysis of paracetamol and sodium diclofenac release from methylcellulose. *Acta Poloniae Pharmaceutica* [online]. 2008, **65**(1), 107-118 [cit. 2021-04-10]. ISSN 2353-5288. Dostupné z: https://ptfarm.pl/pub/File/Acta_Poloniae/2008/1/107.pdf
41. VOLOD'KO, Aleksandra V., Viktoria N. DAVYDOVA, Valeriy P. GLAZUNOV, Galina N. LIKHATSKAYA a Irina M. YERMAK. Influence of structural features of carrageenan on the formation of polyelectrolyte complexes with chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2016, **84**, 434-441 [cit. 2021-05-24]. ISSN 1879-0003. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.12.031](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.12.031)
42. LI, Junjie, Boguang YANG, Yufeng QIAN, et al. Iota-carrageenan/chitosan/gelatin scaffold for the osteogenic differentiation of adipose-derived MSCs in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* [online]. 2015, **103**(7), 1498-1510 [cit. 2021-05-24]. ISSN 1552-4981. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1002/jbm.b.33339](https://doi.org/10.1002/jbm.b.33339)

43. DEVI, Nirmala a Tarun K. MAJI. A Novel Microencapsulation of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) Seed Oil (NSO) in Polyelectrolyte Complex of kappa-Carrageenan and Chitosan. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2009, **113**(3), 1576-1583 [cit. 2021-05-24]. ISSN 1097-4628. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/app.30038>
44. RABELO, Renata S., Guilherme M. TAVARES, Ana S. PRATA a Miriam D. HUBINGER. Complexation of chitosan with gum Arabic, sodium alginate and kappa-carrageenan: Effects of pH, polymer ratio and salt concentration. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2019, **223**, 1-11 [cit. 2021-05-24]. ISSN 1879-1344. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115120>
45. ALAVI, Sonia a Seyed A. MORTAZAVI. Freeze-Dried K-Carrageenan/Chitosan Polyelectrolyte Complex-Based Insert: A Novel Intranasal Delivery System for Sumatriptan Succinate. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* [online]. 2018, **17**(4), 1172-1181 [cit. 2021-05-24]. ISSN 1726-6890. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/329824240_Freeze-Dried_K-CarrageenanChitosan_Polyelectrolyte_Complex-Based_Insert_A_Novel_Intranasal_Delivery_System_for_Sumatriptan_Succinate
46. MACIEL, Diana J. a Ivana L. DE MELLO FERREIRA. Properties evaluation of polyelectrolyte complex based on iota carrageenan and chitosan in acidic and basic media. *Materials Letters* [online]. 2018, **229**(36), 142-147 [cit. 2021-05-24]. ISSN 1873-4979. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2018.06.122>