

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie



**Studium vlivu kombinace mukoadhezivních polymerů na chování
matricových systémů v prostředí tenkého střeva**

Effect of combination of mucoadhesive polymers on the behaviour of
matrix tablets in the small intestine

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Barbora Vraníková, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Chiazor Ugo Ogadah

Hradec Králové, 2021

Miroslav Janoušek

Čestné prohlášení

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem pro zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové,

Miroslav Janoušek

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval především PharmDr. Barboře Vraníkové, Ph.D. za odborné vedení, vstřícnost, cenné rady a věcné připomínky při vypracování této práce. Poděkování patří i Mgr. Chiazor Ugo Ogadah za konzultace. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat své rodině za podporu při studiu.

Děkuji i za finanční podporu Grantové agentury Univerzity Karlovy (70119/2019) a Specifickému vysokoškolskému výzkumu (260 547).

OBSAH

1	ABSTRAKT	6
2	ABSTRACT.....	7
3	CÍL PRÁCE	8
4	SEZNAM ZKRATEK	9
5	ÚVOD.....	10
6	TEORETICKÁ ČÁST	11
6.1	Biofarmaceutické aspekty přívodu léčiva do tlustého střeva.....	11
6.2	Lékové systémy pro cílený přívod léčiva do tlustého střeva	12
6.2.1	pH dependentní systémy	14
6.2.2	Systémy zohledňující dobu průchodu gastrointestinálním traktem	15
6.2.3	Systémy založené na biodegradaci mikroflórou tlustého střeva.....	18
6.2.4	Mukoadhezivní systémy	20
6.2.5	Osmoticky aktivní systémy.....	23
6.2.6	Systémy založené na změně tlaku v tlustém střevě	25
6.2.7	Částicové systémy.....	25
6.2.8	Systémy kapalina v pevné fázi.....	29
7	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	33
7.1	Použité přístroje a zařízení.....	33
7.2	Použité suroviny	35
7.3	Použité metody	36
7.3.1	Příprava směsí mukoadhezivních polymerů	36
7.3.2	Příprava matricových tablet.....	36
7.3.3	Příprava biorelevantního média simulující tekutiny tenkého střeva nalačno	37
7.3.4	Měření viskozity	38
7.3.5	Testování mukoadheze	38

7.3.6	Index bobtnavosti.....	40
7.3.7	Testování disoluce	40
8	VÝSLEDKY A DISKUSE	42
8.1	Měření viskozity polymerních disperzí	42
8.2	Testování mukoadhezivní síly	44
8.3	Hodnocení bobtnavosti tablet	45
8.4	Stanovení disolučních profilů modelového léčiva.....	48
9	ZÁVĚR	52
10	POUŽITÁ LITERATURA	54

1 ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Katedra farmaceutické technologie

Školitel: PharmDr. Barbora Vraníková, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Chiazor Ugo Ogadah

Posluchač: Miroslav Janoušek

Název diplomové práce: Studium vlivu kombinace mukoadhezivních polymerů na chování matricových systémů v prostředí tenkého střeva

Cílený přívod léčiva do tlustého střeva je vysoce žádoucí z důvodu přímé léčby lokálních onemocnění střev, snížení dávky léčiva a minimalizace systémových nežádoucích účinků. Tohoto efektu lze dosáhnout různými specifickými lékovými systémy založenými na rozdílných mechanismech. Obecně jsou nejpreferovanější perorální lékové formy vzhledem k relativně snadné výrobě a vysoké adherenci pacientů k léčbě. Patří mezi ně i matricové systémy založené na mukoadhezivních polymerech, které umožňují, jak cílení na požadované místo (např. tlusté střevo), tak řízené uvolňování léčivé látky.

Z výše zmíněných důvodů bylo cílem předkládané studie vyhodnotit chování dvou mukoadhezivních polymerů, konkrétně guarové klovatiny (GK), hypromelosa K15M (HPMC K15M) a jejich kombinací v biorelevantním médiu simulující tekutiny tenkého střeva (FaSSIF). Viskozita polymerních disperzí byla měřena pomocí rotačního reometru. Polymerní formulace (výlisky) obsahující modelové léčivo theofylin byly testovány na mukoadhezi (upravené rovnoramenné váhy), index bobtnání (košíčková metoda) a disoluční profily (přístroj s pádlem). Získané výsledky ukazují, že HPMC K15M vykazuje vyšší viskozitu spojenou s rapidnějším poklesem jejich hodnot s postupným ředěním disperze. U matricových tablet obsahujících vyšší podíl HPMC K15M byla naměřena větší mukoadhezivní síla a pozorováno konstantnější bobtnání spojené s pozvolným uvolňováním léčiva v průběhu 24 hodin. Jako nejvhodnější formulace pro další testování se tak jeví tablety založené pouze na HPMC K15M.

2 ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradci Králové

Department of: Pharmaceutical Technology

Mentor: PharmDr. Barbora Vraníková, Ph.D.

Consultant: Mgr. Chiazor Ugo Ogadah

Student: Miroslav Janoušek

Title of Thesis: Effect of combination of mucoadhesive polymers on the behaviour of matrix tablets in the small intestine

Colon-targeted drug delivery is highly desirable due to the direct treatment of local intestinal diseases, drug dose reduction, and minimization of systemic adverse effects. This effect can be achieved by several specific drug delivery systems based on different mechanisms. Generally, the most preferred are orally administrated formulations due to the relatively easy manufacturing and high adherence of patients to treatment. These include matrix systems based on mucoadhesive polymers that allow both targeting to the desired site (e.g. colon) and controlled drug release.

For the above-mentioned reasons, the aim of the presented study was to evaluate the behavior of two mucoadhesive polymers, namely guar gum (GK), hypromellose K15M (HPMC K15M) and their combinations in biorelevant media simulating small intestine fluids (FaSSIF). The viscosity of the polymer dispersions was measured using a rotational rheometer. Polymer formulations (compacts) containing the model drug theophylline were tested for mucoadhesion (modified balance), swelling index (basket method) and dissolution profiles (paddle apparatus). The results pointed out that HPMC K15M shows a higher viscosity associated with a more rapid decrease in their values upon the gradual dilution of the dispersion. Matrix tablets containing a higher proportion of HPMC K15M showed greater mucoadhesive strength and more constant swelling associated with a continuous release of the drug over 24 hours. Therefore, tablets based only on HPMC K15M appear to be the most suitable formulation for further testing.

3 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce je v teoretické části popsat perorální lékové systémy pro cílený přívod léčiva do tlustého střeva se zaměřením především na princip mechanismu těchto systémů, jejich výhody a limity.

Experimentální část si klade za cíl vyhodnotit vliv kombinace mukoadhezivních polymerů na chování matricových systémů v prostředí tenkého střeva. Experiment zahrnuje také měření viskozity různě koncentrovaných polymerních disperzí ve snaze simulovat postupné smáčení tablety v průběhu jejího průchodu gastrointestinálním traktem. Matricové tablety s obsahem modelového léčiva theofylinu se podrobí testování mukoadheze, indexu bobtnání a zkouškám disoluce. Tato preformulační studie je součástí rozsáhlejšího experimentu zabývajícího se přípravou moderních lékových systémů, které budou schopny účinně směřovat léčivo do tlustého střeva. Hodnocení vlastností polymerní matrice v prostředí tenkého střeva pomůže získat komplexnější informace o jejich chování napříč celým gastrointestinálním traktem a během nefyziologických výkyvů pH, které jsou typické pro tlusté střevo v zánětu.

4 SEZNAM ZKRATEK

5-ASA	mesalazin (kyselina 5-aminosalicylová)
CDDS	systémy pro přívod léčiv do tlustého střeva (z angl. colon-specific drug delivery systems)
GIT	gastrointestinální trakt
GK	guarová klovatina
HPMC	hypromelosa, hydroxypropylmethylcelulosa
CH	chitosan
IBD	zánětlivá střevní onemocnění (z angl. inflammatory bowel disease)
LS	liquisolid
LSS	systémy kapalina v pevné fázi (z angl. liquisolid systems)
LT	časová prodleva (z angl. lag time)
NP	nanočástice (z angl. nanoparticles)
PEC	pektin (z angl. pectin)
PEG	polyethylenglykol (makrogol)
PG	propylenglykol
NRNP	nanočástice obsahující nitroxidové radikály (z angl. nitroxide radical-containing nanoparticle)
UC	ulcerózní kolitida (z angl. ulcerative colitis)

5 ÚVOD

V posledních několika desetiletích stoupá celosvětově prevalence onemocnění tlustého střeva (Crohnova choroba, ulcerózní kolitida, kolorektální karcinom atd.). V popředí zájmu je tedy vyvinout takové lékové systémy, které budou účinně směřovat léčivo do těchto lokálně postižených míst, čímž se terapie zefektivní a současně se minimalizují systémové nežádoucí účinky.¹ Tlusté střevo je zároveň vhodným místem pro absorpci účinných látek určených k systémovému podání včetně léčiv na bázi peptidů nebo proteinů.²

Za účelem úspěšného zacílení léčiva do tlustého střeva je nezbytně nutné, aby navržená formulace bránila rozložení či absorpci léčivé látky v horní části gastrointestinálního traktu a umožnila její dostatečnou liberaci až v prostředí kolonu.³ Upřednostněny jsou především perorální lékové formy díky relativně snadné výrobě a pohodlnějšímu způsobu podání, jež vede ke zvýšení compliance pacientů k léčbě.²

Existuje celá řada strategií přívodu léčiva do tlustého střeva založených na rozdílných mechanismech. Využívá se např. pH senzitivních polymerních obalů, které se rozpouštějí vlivem vyššího pH v kolonu nebo polymerů biodegradovatelných pouze mikroflórou tlustého střeva, ty mohou být použity ve formě matrice nebo tvořit funkční obal lékové formy.³ V důsledku široké variability fyziologie gastrointestinálního traktu, jež může být způsobená i přítomností zánětlivého střevního onemocnění či současně podaných léčiv (např. inhibitory protonových pump, antacida, antibiotika apod.), se jednotlivé přístupy často kombinují.⁴

Lékové systémy, které jsou cíleny do tlustého střeva, mohou být založeny i na mukoadhezivních polymerech.² Jejich předností je schopnost přilnout k hlenové vrstvě sliznice a umožnit tak prodloužené setrvání lékové formy v místě aplikace, což vede ke zlepšení účinnosti terapie (zvýšení biologické dostupnosti léčiva a compliance pacientů).⁵

6 TEORETICKÁ ČÁST

6.1 Biofarmaceutické aspekty přívodu léčiva do tlustého střeva

V posledních letech se stále více studií zaměřuje na systémy s cíleným přívodem léčiva do tlustého střeva (CDDS), které se využívají při léčbě Crohnovy choroby, ulcerózní kolitidy (UC), kolorektálního karcinomu, lokálních patologických stavů tlustého střeva a k systémovému podání léčiv peptidové a bílkovinné povahy (např. insulin). Jejich potenciál spočívá především ve zlepšení léčby lokálních onemocnění tlustého střeva za současné minimalizace systémových nežádoucích účinků, jakými jsou např. imunosuprese, adenosuprese, příznaky Cushingova syndromu a resorpce kostí po perorálním nebo intravenózním podání glukokortikoidů dexamethasonu či methylprednisolonu. Targeting léčiv do tlustého střeva rovněž umožňuje snížení požadované dávky léčiva.^{2,6}

Úspěch CDDS závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech léčiva, typu lékového systému a všech ostatních faktorech, které mohou ovlivnit tranzitní čas gastrointestinálním traktem (GIT), stejně jako stupeň interakce mezi léčivem a GIT. CDDS by měl být schopen efektivně chránit léčivo na cestě GIT než doputuje na místo svého působení, tedy do tlustého střeva.^{2,6} Nemělo by tak nastat uvolňování a vstřebávání léčiva v žaludku (pH 1,5 – 3,5), duodenu (pH 6,0), jejunu a ileu (pH 5,5 – 6,8) ani slepém střevě (pH 6,8 – 7,3), ale pouze v tlustém střevě, kde se pH pohybuje v rozmezí 5,3 – 6,7 ve vzestupném tračníku a v sestupném tračníku dosahuje hodnoty okolo 7,0.^{7,8} Mírně nižší pH proximální části tlustého střeva je způsobeno velkým počtem mikroorganismů obývajících tlusté střevo (až 1100 bakterií na gram obsahu tlustého střeva), které fermentují sacharidy za vzniku krátkých mastných kyselin.⁸ Lidské střevo čítá více než 400 odlišných druhů bakterií rezidentní flóry, ty zajišťují reakce jako azoredukce a enzymatické štěpení, jež jsou zodpovědné za metabolismus mnoha léčiv.⁶

Chronická onemocnění, jako jsou např. zánětlivá střevní onemocnění (IBD), významně ovlivňují fyziologii GIT. Jejich vlivem dochází k poškození střevní bariéry v důsledku přítomnosti povrchových změn sliznice, narušení krypt a vředů, zvýšené produkci hlenu a infiltraci imunitních buněk (neutrofilů, lymfocytů apod.). Společně

tyto jevy vedou ke zvýšení propustnosti epitelu tlustého střeva a tím i ke změně koncentrace léčiv v zasaženém segmentu GIT. Těžký zánět sliznice může zapříčinit rozdílnou motilitu GIT a rozvoj průjmu, což ovlivňuje objem střeva, pH a integritu sliznice. pH tlustého střeva u pacientů s IBD je velmi variabilní a může dosahovat hodnot v rozmezí 2,3 – 5,5 v závislosti na progresi a závažnosti onemocnění. Zánět sliznice se silným průjmem také narušuje rezidentní mikrobiom (složení a rozmanitost bakteriálních druhů), který může změnit mikrobiální metabolismus v GIT. Fyziologii GIT ovlivňují i současně podaná léčiva jako např. inhibitory protonových pump, antagonisté histaminového H₂-receptoru (snížená sekrece žaludeční kyseliny), antacida (úprava pH), prokinetika (stimulace motility GIT), léčiva navozující zácpu/průjem a antibiotika, která mohou způsobit dysbiózu, jež má negativní vliv na biodegradovatelné lékové formy. Aktivní zánět a určitá léčiva tak mohou výrazně ovlivnit účinnost konvenčních CDDS.^{4,9}

6.2 Lékové systémy pro cílený přívod léčiva do tlustého střeva

Léčivá látka může být dodána do tlustého střeva po perorálním nebo rektálním podání.² Nejkratší cestu k zacílení léčiv do tlustého střeva představuje rektální podání, nicméně dosažení proximální části tlustého střeva je v tomto případě obtížné. Mezi lékové formy pro intrarektální podání patří roztoky, čípky a pěny, které se liší rozsahem distribuce v závislosti na formulačních faktorech, kapacitě retrográdního šíření a retenčním čase. Ukázalo se, že pěna a čípky jsou zadržovány hlavně v konečníku a sigmoidálním tračníku, naopak klystýrová řešení disponují velkou kapacitou šíření.⁶ Rektální podání však může být značně nepříjemné a vést ke snížení compliance pacienta k léčbě. Z tohoto důvodu se využívá spíše jako prostředek pro systémové podání léčiv nebo k dodání léčivých látek působících lokálně v rektu.²

Nejpohodlnější a nejpreferovanější je perorální způsob podání léčiva, jelikož je relativně bezpečný a zvyšuje adherenci pacienta k léčbě. Perorální lékové formy umožňují při jejich výrobě vyšší stupeň flexibility a nevyžadují sterilní přípravu.² Tradiční přístupy přívodu léčiva do tlustého střeva zahrnují systémy závislé na pH, čase nebo založené na proléčivech či polysacharidech. Jak ukazuje *Tabulka 1*, tyto přístupy byly důkladně zkoumány a FDA schválila několik z nich pro klinické

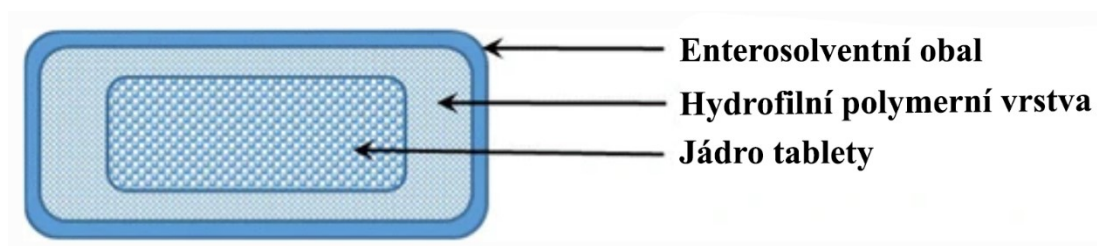
použití.¹⁰ Kromě těchto tradičních systémů existuje i celá řada dalších druhů perorálních CDDS. Veškeré v současné době využívané typy systémů jsou podrobněji popsány níže.

Tabulka 1: Současné systémy přívodu léčiva schválené FDA v terapii IBD po perorálním podání¹⁰

Léčivo	Obchodní názvy	Formulace	Mechanismus
5-ASA	Azulfidine®	5-ASA spojená azo vazbou se sulfapyridinem	Enzymatická redukce
	Asacol®	5-ASA potažená Eudragitem® S	Reagující na pH
	Asacol HD®	5-ASA potažená Eudragitem® S	Reagující na pH
	Apriso®	5-ASA potažená Eudragitem® L 100, polyakrylátovou disperzí, povidonem K a simetikonem	Reagující na pH
	Colazal®	5-ASA spojená azo vazbou s 4-aminobenzoyl-β-alaninem	Enzymatická redukce
	Colazide®	5-ASA spojená azo vazbou s 4-aminobenzoyl-β-alaninem	Enzymatická redukce
	Claversal®	5-ASA potažená Eudragitem® L	Reagující na pH
	Calitoflak®	5-ASA potažená Eudragitem® L 100	Reagující na pH
	CODES™	Polysacharidový obal spojený s polymerním obalem citlivým na pH	Reagující na pH + bakteriální degradace
	Dipentum®	5-ASA dimer spojený azo vazbou	Enzymatická redukce
	Lialda®	5-ASA potažená multimaticovým systémem (lipofilní a hydrofilní matrice)	Reagující na pH + zpožděné uvolňování
	Mezavant®	5-ASA potažená multimaticovým systémem (lipofilní a hydrofilní matrice)	Reagující na pH + zpožděné uvolňování
	Pentasa®	5-ASA mikrogranule potažené ethylcelulosou	Časově závislý
	Salazopyrin®	5-ASA spojená azo vazbou se sulfapyridinem	Enzymatická redukce
	Budesonid	Salofalk®	5-ASA potažená Eudragitem® L
SalofalkGranu-Stix®		5-ASA potažená Eudragitem® L 100, polyakrylátovou disperzí, povidonem K a simetikonem	Reagující na pH
Beklometason	Entocort EC®	Granule potažené Eudragitem® L s matricí z ethylcelulosity	Reagující na pH + časově závislý
	Uceris®	Multimaticový systém využívající obal Eudragit® S v rámci matricového jádra	Reagující na pH + zpožděné uvolňování
Beklometason	Clipper®	Tableta potažená Eudragitem® L 100-55	Reagující na pH

6.2.1 pH dependentní systémy

Polymery reagující na pH a ionty jsou široce používány v systémech s místně specifickým uvolňováním léčiva díky jejich schopnosti využívat konkrétní gradienty pH nebo iontů v lidském těle. pH senzitivní kationtové polymery uvolňují účinné látky v žaludku reakcí na jeho nízké pH, naopak aniontové polymery s karboxylovými skupinami disponují vyšší rozpustností při zásaditém pH. V CDDS se proto využívají jako obaly k zamezení žaludeční degradace léčivých látek a k dosažení vyšší biologické dostupnosti slabě bazických léčiv (*Obrázek 1*). Ideální polymerní obal se rozpouští při pH 6-7, což vede k jeho rozložení až v prostředí terminálního ilea a tlustého střeva, kde zároveň dochází k uvolnění účinné látky. Mezi takové polymery patří např. acetát ftalát celulosy, kopolymery kyseliny methakrylové a methylmethakrylátu (Eudragit[®] S 100, Eudragit[®] L, Eudragit[®] FS, Eudragit[®] P4135 F), acetát sukcinát hypromelosity nebo ftalát hypromelosity. Zejména polymery dostupné pod označením Eudragit[®] patří mezi nejpoužívanější syntetické kopolymery pro přívod léčiva do tlustého střeva pro své mukoadhezivní vlastnosti a schopnost řídit uvolnění léčiva v závislosti na pH. Hodnotu pH, při které se bude polymer rozpouštět, lze upravit množstvím karboxylových a jiných funkčních skupin ve struktuře polymeru. Příkladem může být Eudragit[®] L s poměrem karboxylových a esterových skupin 1:1, který je rozpustný při pH 6. Pokud se poměr změní na 1:2 (Eudragit[®] S), dojde k posunu pH, v níž je polymer rozpustný, na 7.^{1,11}



Obrázek 1: Schématické znázornění průřezu enterosolventního systému pro přívod léčiva do tlustého střeva²

Přestože jsou některé léčivé přípravky komerčně dostupné jako pH dependentní systémy (např. mesalazin, 5-ASA - Asacol[®], Salofalk[®], budesonid - Budenofalk[®], Entocort[®])¹², vykazují tyto systémy výrazný rozdíl v uvolňování léčivé

látky nebo dokonce selhávají po podání *in vivo* v důsledku široké intra- a interindividuální variability v kritických parametrech zahrnujících pH, objem tekutin, motilitu a dobu tranzitu GIT. Rozsah pH v GIT může být výrazně ovlivněn stravou, mikrobiálním metabolismem, příjmem vody a onemocněním (např. kyselější prostředí tlustého střeva u pacientů s UC). Z těchto důvodů dochází k pokusům o použití kombinace systémů závislých na pH s jinými strategiemi přívodu léčiv do kolonu.¹ Příkladem takového přístupu je studie Ibekwe a kol.¹³ kombinující polymer citlivý na pH (Eudragit® S) s biodegradabilním polysacharidem (kukuřičný škrob s vysokým obsahem amylosy) tvořící jednovrstvý matricový obal. Výsledky hodnocení ukázaly, že tableta odolává v prostředí žaludku i tenkého střeva a k rozpadu lékové formy dochází až v ileocekálním spojení / tlustém střevě bez ohledu na režim stravování. Oba mechanismy jsou účinné, komplementární a navzájem fungují jako zabezpečení proti selhání.¹³

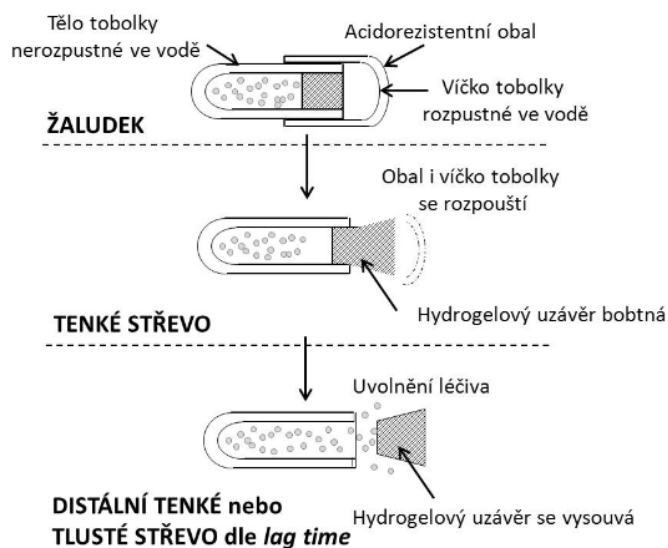
Zlepšením disoluce pH dependentního systému v oblasti ilea – tlustého střeva se zabývala také studie Liua a kol.¹⁴ V této práci byly tablety s obsahem léčiva prednisolonu potaženy dvojitou vrstvou, kdy vnitřní vrstvu tvořil částečně neutralizovaný Eudragit® S s pufovacími činidly a vnější vrstvu standardní Eudragit® S. Pro účely srovnání byly v experimentu použity i konvenční tablety s jednovrstevným obalem. Disoluce obou typů tablet byla hodnocena podle USP II (přístroj s pádlem) v disolučním médiu simulujícím tekutinu distální části tenkého střeva (fyziologický hydrogenuhličitanový pufr o pH 7,4), kterému předcházela expozice tablet v prostředí 0,1 M HCl po dobu 2 hodin. Výsledkem bylo, že tablety s dvojitým obalem vykazovaly rychlejší uvolnění léčiva (40 minut), na rozdíl od tablet s jednovrstvým obalem (120 min).¹⁴

6.2.2 Systémy zohledňující dobu průchodu gastrointestinálním traktem

Časově řízené systémy představují lékové formy se zpožděným nebo pulzním uvolňováním, které fungují na principu oddálení uvolnění léčiva, dokud nedosáhnou požadovaného místa působení. Časová prodleva (tzv. lag time – LT) je v tomto případě doba potřebná k přechodu lékového systému z úst do tlustého střeva. Zpravidla je LT 5 hodin považován za dostačující, protože čas průchodu lékové formy tenkým střevem

je relativně konstantní a pohybuje se v rozmezí 3-4 hodin. Požadované prodlevy je dosaženo použitím filmtvorného materiálu o různé tloušťce, kterým je zpravidla polymer nebo směs polymerů. Mezi nevýhody těchto systémů však patří časová nepředvídatelnost přívodu léčiva do tlustého střeva z důvodu intra- a interindividuálních rozdílů v rychlosti vyprazdňování žaludku. Také peristaltické pohyby nebo kontrakce v žaludku vedou ke změně transportu léčiva v GIT. K té dochází i u idiopatických střevních zánětů, Crohnovy choroby či průjmech. Pro menší variabilitu přepravy lékových forem v tenkém střevě a zlepšení přívodu léčiva do tlustého střeva se proto mohou kombinovat s pH dependentními systémy uvolňování.^{12,15}

Mezi systémy zohledňující dobu průchodu GIT patří např. PULSINCAP[®], CHRONOTROPIC[®] a TIME CLOCK[®] s uvolňováním řízeným membránou. V systému PULSINCAP[®] je léčivo uvnitř želatinové tobolky (*Obrázek 2*), jejíž tělo je nerozpustné ve vodě a uzavřené bobtnajícím uzávěrem překrytým rozpustným víčkem. Víčko i tělo tobolky je navíc opatřeno acidorezistentním obalem. V tenkém střevě dochází k rozpouštění obalu i víčka tobolky. Uzávěr bobtná a zvětšuje svůj objem až do doby, než dojde k jeho vysunutí. Uvolnění léčiva tedy nastane až po uplynutí předem definované prodlevy, která je potřebná k nabobtnání uzávěru a dosažení místa účinku. Bobtnající zátky jsou tvořeny různými polymery, např. polyethylenoxidem, hypromelósou (hydroxypropylmethylcelulosa, HPMC) či polyvinyl-acetátem. Tento systém se využívá například pro prevenci nočních astmatických záchvatů. V tomto případě jsou mikročástice s obsahem theofylinu obaleny směsí Eudragitu[®] L a S a umístěny do výše popsaného systému PULSINCAP[®].³



Obrázek 2: Schématické znázornění systému PULSINCAP®³

Systémy CHRONOTROPIC® jsou složeny z rezervoáru léčiva obklopeného membránou tvořenou hydrofilním polymerem (např. HPMC) a potaženého na povrchu enterosolventním obalem. Systém beze změny prochází žaludkem a k uvolnění léčiva dochází až po časové prodlevě, která je dána dobou rozpouštění hydrofilní vrstvy. Tento systém je přínosný při léčbě onemocnění, která jsou ovlivněna cirkadiánními rytmy (astma, hypertenze, revmatoidní artritida atd.).^{3,16}

Dalším příkladem časově řízeného uvolňování léčiva je systém TIME CLOCK®, který je nezávislý na pH, peristaltice střev a průběhu trávení (přítomnost enzymů GIT, mechanické působení žaludku). Jedná se o pevnou lékovou formu (tobolka, tableta), která je tvořena jádrem obsahujícím léčivo a obalem ze včelího a karnaubského vosku s obsahem tenzidů. Tablety byly hodnoceny pomocí scintigrafie na dvou skupinách zdravých dobrovolníků, přičemž každá z nich konzumovala jídlo odlišných kalorických hodnot 30 min před požitím tablety. Z výsledků hodnocení vyplývá, že průměrný čas dezintegrace systému činí po lehkém jídle 333 min a po těžkém jídle 345 min, LT je tak u obou skupin pacientů srovnatelný.¹⁷

6.2.3 Systémy založené na biodegradaci mikroflórou tlustého střeva

Biodegradovatelné systémy představují nejvhodnější a vysoce místně specifický přístup k cílení léčiva do kolonu. K uvolnění léčiva dochází v tomto případě degradací polysacharidů bakteriemi mikroflóry tlustého střeva. Horní část GIT (žaludek, duodenum) obsahuje mikroflóru v koncentraci menší než 10³-10⁴ CFU/ml, zatímco množství mikroflóry v tlustém střevě je 10¹¹-10¹² CFU/ml. Přítomné jsou zde zejména anaerobní bakterie jako *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Enterococcus* apod. Pouze mikroflóra tlustého střeva produkuje enzymy, jako je glukuronidasa, galaktosidasa, azoreduktasa, atd., které zajišťují biodegradaci těchto systémů. Z tohoto důvodu dochází k uvolnění léčiva jen v tlustém střevě.¹⁸

6.2.3.1 Systémy na bázi proléčiva

Proléčivo je farmakologicky neaktivní derivát původně aktivního léčiva, které prochází enzymatickou transformací, aby se následně uvolnila aktivní léčivá látka. Léčivo se váže kovalentní vazbou na nosič (aminokyseliny, kyselina glukuronová, glukosa atd.) a při průchodu žaludkem i tenkým střevem zůstává inaktivní. Pro uvolnění účinné látky je rozhodující typ vazby, která je vytvořena mezi léčivem a nosičem, kdy pro minimalizaci absorpce z horní části GIT je vhodné použít objemné nosiče hydrofilní povahy. K biotransformaci proléčiva dochází působením enzymů, převážně bakteriálního původu, přítomných v tlustém střevě. Proléčivo se zde přeměňuje na lipofilnější molekulu léčivé látky, jež je k dispozici pro absorpci.^{19,20}

Příkladem takového proléčiva je dexamethason konjugovaný se sacharidovými nosiči glykosidickou vazbou nebo léčivo 5-ASA navázané na azo konjugáty pomocí azo vazby.²⁰

Ve studii Vaidya a kol.²¹ se zkoumal přívod mikrosfér proléčiva pektin-metronidazol do tlustého střeva. Účinnost tohoto systému se porovnávala s pektinovými mikrosférami obsahující prostý metronidazol. Výsledky experimentu *in vitro* ukázaly, že mikrosféry s obsahem proléčiva odolávají prostředí žaludku i tenkého střeva a rozkládají se až v tlustém střevě činností bakteriální pektinázy, zatímco

pektinové mikrosféry standartního léčiva byly z větší části rozloženy již v kyselém prostředí.²¹

6.2.3.2 Systémy založené na polysacharidech

Polysacharidy (polymery monosacharidů) jsou slibnými materiály pro přívod léčiv díky jejich biokompatibilitě, vysoké stabilitě, netoxické povaze a degradačnímu chování. Zachovávají si svou integritu v prostředí žaludku a tenkého střeva a k jejich biodegradaci dochází až v tlustém střevě působením bakteriálních polysacharidáz. Mohou být použity ve formě matrice, obalu, v kombinaci nebo samostatně. V systémech se používají polysacharidy rostlinného (pektin - PEC, guarová klovatina - GK), mikrobiálního (dextran, cyklodextriny) a živočišného původu (chitosan - CH, kyselina hyaluronová) či polysacharidy získané z řas (algináty). Biologicky odbouratelné polymery jsou hydrofilní a zpravidla bobtnají v neutrálnějším pH tlustého střeva, zatímco v kyselém pH bobtnají jen omezeně.²²

Rychlost uvolňování léčiva z těchto systémů je do určité míry řízena difúzí a rozpustností léčiva, avšak hlavní mechanismus spočívá v erozi matrice enzymatickou nebo mikrobiální interakcí s polymery. Jedním z limitů daných systémů je však časné uvolnění léčiva, v horních částech GIT, způsobené nadměrnou rozpustností polysacharidů ve vodě. Z tohoto důvodu se polymery ve formulacích chemicky modifikují nebo kombinují se syntetickými biologicky nerozložitelnými polymery zavedením skupin pomocí kovalentních vazeb nebo reverzibilních komplexačních procesů. Modifikace se provádí tak, aby nebyla ohrožena jejich specifická degradace v tlustém střevě.^{1,22}

Příklad systémů založených na polysacharidech představuje CODESTM, který využívá kombinace pH senzitivních polymerů s polymery biodegradovatelnými bakteriálními enzymy v tlustém střevě. Systém se skládá z jádra tablety obsahující laktulosu a léčivo. Jádro je následně potaženo třemi polymerními vrstvami. Vnitřní obal je tvořen Eudragitem[®] E rozpustným v kyselém prostředí, následuje izolační vrstva (např. HPMC) a poté vnější enterosolventní obal z Eudragitu[®] L. Enterosolventní obal ochraňuje tabletu v kyselém prostředí a rozpouští se až po vyprázdnění žaludku. V tenkém střevě je systém chráněn vnitřní vrstvou, která je však

mírně propustná pro gastrointestinální tekutinu, jež rozpouští polysacharid (laktulosu) uvnitř jádra tablety. Po vstupu do tlustého střeva polysacharid difunduje skrz obal ven a následně je enzymaticky degradován na mastné kyseliny s krátkým řetězcem. Kyselé produkty pak zajistí rozpuštění vrstvy Eudragitu® E a uvolnění léčiva.^{3,23,24}

Dalším příkladem je systém COLAL-PRED® firmy Alizyme fungující na principu enzymatické degradace obalu mikroflórou tlustého střeva. Tento produkt dosáhl úspěšných výsledků v II. fázi klinického testování a nyní prochází III. fází hodnocení v terapii středně těžké až těžké UC. Systém se skládá z pelet obsahujících léčivo, které jsou potaženy obalem z ethylcelulosity a amylosy odvozené od škrobu. Po perorálním podání chrání nanesený obal jádro systému před rozkladem v žaludku a tenkém střevě. Léčivo je tak uvolněno až v tlustém střevě, kde je obal enzymaticky degradován.²⁵ Podobných výsledků dosáhly také pelety, obsahující léčivo 5-ASA, potažené amylosou a Ethocalem® v poměru 1:4 (w/w).²⁶

6.2.4 Mukoadhezivní systémy

Velké množství léčiv působí na povrchu různých sliznic, avšak kvůli špatné mukoadhezi současných formulací je jejich biodostupnost často velmi nízká. Vývoj těchto systémů je proto zásadní v rámci zlepšení účinnosti zmíněných léčivých látek.²⁷ Mukoadheze je obecně definována jako adheze mezi dvěma materiály, kdy jedním z nich je slizniční povrch. Mukoadhezivní lékové formy mohou být navrženy tak, aby umožňovaly na požadovaném místě prodlouženou retenci lékové formy a řízené uvolňování léčivé látky.²⁸ Tlusté střevo je v porovnání se žaludkem a tenkým střevem vhodnějším místem pro mukoadhezi z důvodu silnější vrstvy hlenu a nižší rušivé motility, která by mohla způsobit předčasné odstranění lékového systému ze sliznice.²⁹

Mukoadhezivní vlastnosti lékové formy jsou závislé na různých faktorech, včetně povahy tkáně sliznice a fyzikálně chemických vlastnostech polymerní formulace. Mukoadhezivní polymery obsahují četné hydrofilní skupiny, jako hydroxylové, karboxylové, amidové a síranové skupiny. Tyto skupiny interagují s hlenem (mucinem) nebo buněčnou membránou různými mechanismy, např. vodíkovými vazbami, hydrofobními nebo elektrostatickými interakcemi. Hydrofilní skupiny přítomné v polymerní struktuře také ovlivňují míru bobtnání polymeru ve

vodě, díky čemuž se zvětší povrch dostupný pro adhezi.²⁸ Příkladem nejčastěji využívaných mukoadhezivních polymerů jsou GK nebo HPMC^{30,31}, které jsou blíže představeny v následujících podkapitolách.

6.2.4.1 Guarová klovatina

Jedná se o neiontový polysacharid s vysokou molární hmotností (10^6 až 2×10^6 g/mol), který se vyskytuje často v přírodě. GK se získává ze semen *Cyamopsis tetragonolobus*, čeledě *Leguminosae*. Skládá se z lineárních řetězců (1→4) β-D-mannopyranosylových jednotek s α-D-galaktopyranosylovými jednotkami připojenými (1→6) vazbami.^{30,32} Z velké části je používána ve formě prášku jako přísada do potravin, kosmetických přípravků, papíru, textilu, výbušnin a léčivých přípravků, kde funguje jako pojivo, suspendační činidlo, rozvolňovadlo, stabilizátor nebo zahušťovadlo.^{32,33} Mimo to působí také jako objemové laxativum a je efektivní při podpoře pravidelného vyprazdňování, na mírnění zácpy, Crohnovu chorobu, syndrom dráždivého tračníku, divertikulózu a UC.³⁰

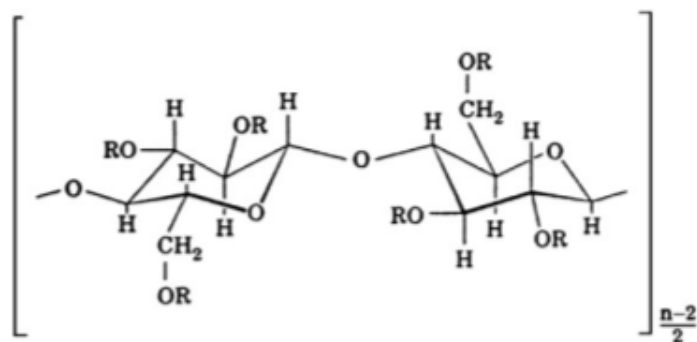
Ve vodném prostředí reagují galaktózové jednotky přítomné na manózových jednotkách s molekulami vody. Reakce vede k tvorbě zapleteného mezimolekulárního řetězce, který pomáhá při zahuštění a tvorbě viskózní disperze nebo gelu. Většina gum získává potřebnou viskozitu po dlouhém zahřívání, zatímco GK jí plně dosahuje i ve studené vodě. Koncentrace, teplota, pH a přítomnost dalších látek nejvíce ovlivňují viskozitu a rychlost hydratace GK. Nejvyšší míry hydratace se dosáhne při pH 8-9 a nejnižší rychlosti hydratace při pH > 10 a < 4. Ve formě roztoku je GK netoxická v širokém rozmezí pH díky její stabilní a nenabitě povaze.³⁰ GK se také využívá k řízenému uvolňování léčivých látek kvůli její pomalejší rychlosti bobtnání a mukoadhezivním vlastnostem, které prodlužují dobu kontaktu lékového systému a sliznicí tkáně. GK je navíc díky své polysacharidové povaze nestravitelná enzymy v tenkém střevě, avšak degradována mikroflórou v tlustém střevě. Vzhledem k velkému počtu hydroxylových skupin ji lze snadno chemicky upravit a rozšířit tak portfolio jejich biomedicínských aplikací. Příkladem takových derivátů mohou být např. karboxymethyl guarová klovatina nebo poly(akrylamidy) síťovaná GK.^{30,34,35}

Tyto výhody z ní činí velmi vhodnou pomocnou látku v systémech pro přívod léčiv do tlustého střeva.^{30,36}

Ve studii Shaikha a kol.³⁷ bylo cílem testovat mukoadhezivní tablety s obsahem léčiva itrakonazolu. Mukoadhezivní formulace byly připraveny smícháním GK a CH v různých kombinacích. Disoluce léčiva byla stanovena *in vitro* podle USP II (přístroj s pádlem) ve fosfátovém pufru (pH 1,2) po dobu 8 hodin. Z výsledků experimentu je patrné, že nejpomalejšího uvolňování léčiva (32,311 %) dosáhla formulace obsahující 60 mg GK a 10 mg CH, která současně vykazala i nejvyšší mukoadhezivní sílu *ex vivo* (střevní sliznice ovce) pomocí metody upravené rovnoramenné váhy.³⁷

6.2.4.2 Hypromelosa

HPMC se získává syntetickou modifikací přirozeně se vyskytující polymerní celulosy. Jedná se o bílý až mírně bělavý prášek nebo granule, které jsou po vysušení hygroskopické. Je prakticky nerozpustná v horké vodě, acetonu, bezvodém ethanolu a v chloroformu. Rozpouští se ve studené vodě za vzniku koloidního roztoku díky vlastnosti reverzibilní tepelné gelace. HPMC se využívá k potahování tobolek, při přípravě tuhých disperzí, jako zahušťovadlo, bioadhezivní materiál, pojivo nebo v systémech s řízeným uvolňováním. HPMC je dostupná v různých typech substitucí, ale je limitována počtem methoxy a hydroxypropoxy skupin (*Obrázek 3*). Tyto skupiny ovlivňují mnoho vlastností HPMC jako je teplota gelace, pružnost, hydrataci a viskozitu. Jednotlivé typy tohoto polymeru (K, E nebo F) se vzájemně liší poměrem výše uvedených substituentů. Typ K patří mezi nejvíce používané polymerní nosiče pro hydrofilní gelové matrice z důvodu nejrychlejší hydratace. Obsahuje 19 - 24 % methoxylových a 7 - 12 % hydroxypropoxylových skupin. Typy HPMC (4M, 15M, 100M) jsou rozdílné viskozitou svých roztoků a rigiditou vzniklých gelových vrstev. V neposlední řadě disponuje HPMC stabilitou v širokém rozpětí pH (3-11), odolností vůči enzymům, je snadno lisovatelná, nedráždivá a zdravotně nezávadná.^{31,38}



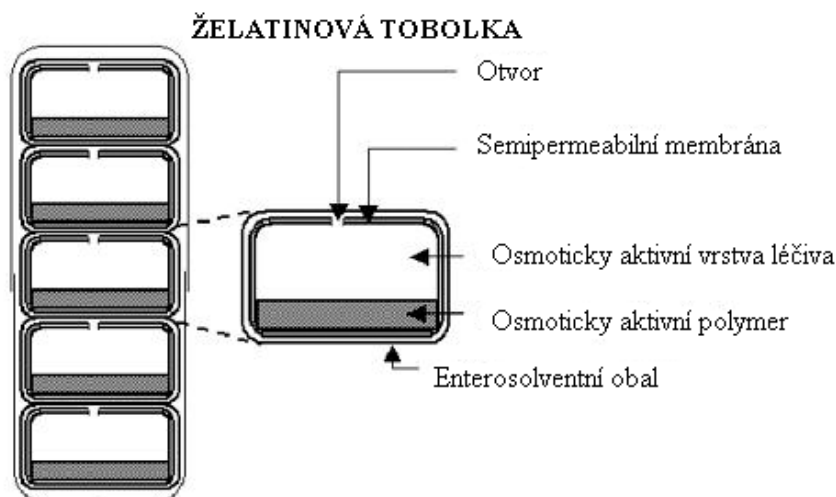
Obrázek 3: Chemická struktura HPMC, substituent R představuje buď $-CH_3$ nebo $-CH_2CH(CH_3)OH$ skupinu či atom vodíku³⁹

Testováním mukoadhezivních matricových tablet s obsahem sodné soli montelukastu se zabývala studie Bithia a kol.⁴⁰ Pro přípravu tablet byly použity mukoadhezivní polymery Methocel[®] K4M CR; Methocel[®] K15M CR; Methocel[®] K100M CR a kombinace Methocelu[®] K15M s Eudragitem[®] RLPO. Rychlost uvolňování léčiva byla stanovena *in vitro* pomocí přístroje s pádlem (USP II) v médiu simulující žaludeční tekutiny po dobu 8 hodin. Experiment ukázal, že k nejpomalejšímu uvolňování léčiva (65,5 %) dochází u formulace sestávající z kombinace Methocelu[®] K15M s Eudragitem[®] RLPO, u které byla zároveň pozorována i nejvyšší mukoadhezivní síla *ex vivo* (čerstvá střevní sliznice kozy).⁴⁰

6.2.5 Osmoticky aktivní systémy

Další možností přívodu léčiva do tlustého střeva jsou osmoticky aktivní systémy, které fungují na principu postupné změny tlaku uvnitř systému. Příkladem je systém OROS-CT[®] (Obrázek 4) navržený společností ALZA Corporation pro targeting léčiva do tlustého střeva k lokální terapii nebo dosáhnutí systémové absorpce. Systém může být samostatná osmotická jednotka nebo obsahovat 5-6 parciálních podjednotek. Ty dosahují průměru až 4 mm a jsou zapouzdřeny v tvrdé želatinové tobolce. Každé jádro jednotky obsahuje 2 vrstvy, a to léčiva s osmoticky aktivní látkou a osmoticky aktivního polymeru. Celé jádro je pak uzavřeno semipermeabilní membránou s otvorem umístěným u vrstvy s léčivem. Následně je povrch potažen enterosolventním obalem. Samotná tobolka se rozpouští již v žaludku

a uvolňuje zde jednotky systému. Ty se rozpouštějí díky acidorezistentnímu obalu až v prostředí tenkého střeva ($\text{pH} > 7$) a umožní tak vniknutí vody do jednotek. Osmoticky aktivní polymer začne bobtnat a vytlačuje roztok léčiva otvorem ven. Uvolnění léčiva nastává přibližně 3-4 hodiny po opuštění žaludku. Mezi výhody systému OROS-CT[®] patří i možnost dosažení konstantního uvolňování léčiva po dobu až 24 hodin.^{41,42}



Obrázek 4: Schématické znázornění systému OROS-CT[®] 3

Mezi systémy s osmoticky řízeným uvolňováním léčiva patří také systém PORT[®]. Základem tohoto systému je tobolka s rozpustným víčkem, která je potažená semipermeabilní membránou. Po rozpuštění víčka dochází k uvolnění první dávky léčivé látky. Součástí systému je i druhá dávka léčiva, která je v tobolce společně s osmoticky aktivní látkou. Jakmile vstoupí tekutina z GIT do nitra tobolky skrze semipermeabilní membránu, osmoticky aktivní látka vysune lipofilní zátka a zajistí tak uvolnění druhé dávky. Pomocné látky, jejich koncentrace a volba membrány určují dobu potřebnou k vytlačení zátky. Systém byl testován *in vivo* u psů k dodání léčiva methylfenidátu, který je indikován v terapii poruchy pozornosti s hyperaktivitou (ADHD).^{3,43}

6.2.6 Systémy založené na změně tlaku v tlustém střevě

Základem pro konstrukci tlakově řízených systémů, např. tobolek, je zvýšený intraluminální tlak, který se vytváří v tlustém střevě v důsledku peristaltických pohybů a vysoké viskozity obsahu tlustého střeva.⁴⁴ Připravená léková forma odolává vyšším segmentům GIT. Její poškození doprovázené uvolněním léčiva tak nastává až v tlustém střevě.³

Na tomto principu funguje například systém vyvinutý Huem a kol.⁴⁵ Je tvořený čípkem ve tvaru tobolky, který je potažen ve vodě nerozpustným polymerem ethylcelulosou. Léčivo je zde suspendováno v čípkovém základu makrogolu (PEG) 1000. Systém praská vlivem vyššího tlaku v tlustém střevě, kde uvolní většinu dávky léčiva.⁴⁵

6.2.7 Částicové systémy

Jedná se o pevné perorální lékové formy, které jsou složeny z několika menších jednotek, mezi nimiž je rozdělena dávka. Zahrnují pelety, granule, mini tablety, mikročástice a nanočástice (NP). Každá jednotka může být ve formě jednodílné matrice nebo potažena jednou či více vrstvami polymeru, které řídí uvolňování léčiva. Mezi přednosti částicových systémů patří předvídatelnost, reprodukovatelnost, stabilita, snížení rizika systémové toxicity, zlepšená biologická dostupnost, dosažení jedinečného modelu uvolňování léčiva, dobrá snášenlivost, menší variabilita absorpce, snížení frekvence dávkování a tím zvýšení adherence pacientů k léčbě. Naopak limitem těchto systémů je zpracování pouze omezeného množství léčiva a vyšší náročnost výroby z důvodu velkého množství formulačních kroků.^{8,46,47} Mezi technologie, využívající více částic, patří např. systémy Geoclock[®], COLAL[®], Pulsincap[®], PRODAS[®], Orbexa[®], SyncroDose[®], Chronset[®], Geminex[®].⁴⁷

6.2.7.1 Pelety

Pelety jsou volně tekoucí sférické nebo semisférické jednotky s obvyklou velikostí 0,5 – 1,5 mm. Připravují se pomocí různých technologií jako je

extruze/sferonizace, rotační aglomerace, vrstvení léčivé látky na inaktivní jádra atd.^{8,48} Přívod léčiva do tlustého střeva je zajištěn potažením pelet přírodními nebo syntetickými polymery jako jsou např. azo-polymery, PEC, CH, methakryláty (Eudragit[®]) atd. Pelety se mohou plnit do tvrdých želatinových tobolek nebo se lisovat do tablet. Tabletování je oproti plnění do tobolek výhodnější z důvodu nižších výrobních nákladů a vyšší výrobní kapacitě, avšak existuje zde riziko narušení integrity pelet při lisování.⁸

Cílením léčiva (5-ASA) do tlustého střeva prostřednictvím pelet se zabývala např. studie Xua a kol.⁴⁹ Jádro pelety bylo formulováno metodou extruze/sferonizace z mikrokrytalické celulosy a bioadhezivních látek, karbomeru 940 a hyprolisy v poměru 1:1. To bylo dále potaženo dvojitou vrstvou, kdy vnitřní vrstvu tvořil Surelease[®] a vnější vrstvu pH dependentní polymer Eudragit[®] S100. Disoluční zkouška *in vitro* ukázala, že nedošlo k žádnému uvolnění 5-ASA v 0,1 M HCl (pH 1,0) po dobu 2 hod. Méně než 5 % léčiva bylo uvolněno v následujících 2 hodinách ve fosfátovém pufru (pH 6,0) a úplná disoluce byla pozorována po celkové době 20 hod v médiu simulujícím prostředí tlustého střeva (pH 7,4).⁴⁹

6.2.7.2 Minitablety

Mini tablety se produkují tradičním způsobem výroby tablet pomocí specializovaných razidel s vícero hroty. Pro svou menší velikost se lépe polykají a zlepšují tak pacientovu adherenci k léčbě. Přínosem těchto tablet je snížená variabilita vstřebávání a vysoká flexibilita při úpravě dávky.⁸

Ve studii Vemula a kol.⁵⁰ bylo cílem připravit mini tablety, které budou směřovat léčivo ketorolak-trometamol do tlustého střeva. Jádra mini tablet byly opatřeny dvěma obaly, a to vnitřním časově řízeným z HPMC K100M a vnějším acidorezistentním z Eudragitu[®] S100. Disoluce byla hodnocena *in vitro* pomocí přístroje USP XXIV typu I postupně v 0,1 M HCl (2 hod), v pufru o pH 5,5 (2 hod) a ve fosfátovém pufru o pH 7,4 (20 hod). Nejlepšího výsledku dosáhla formulace obsahující 30 mg HPMC K100M a 30 mg Eudragitu[®] S100, která uvolnila po 5 hod pouze $3,51 \pm 0,15$ % léčiva a $99,82 \pm 0,69$ % po celkové době 24 hod.⁵⁰

6.2.7.3 Mikročástice a nanočástice

Mikročástice jsou definovány jako částice přibližně kulovitého tvaru o velikosti 1-1000 μm , zatímco termín nanočástice (NP) obvykle označuje širokou skupinu formulací s velikostí ne větší než 100 nm. Mikročástice a NP se vyznačují zvýšeným poměrem objemu ku povrchu. Díky tomu léčivá látka dosahuje větší kontaktní plochy při stejné dávce, což ve výsledku umožňuje efektivnější přívod a vede ke snížení její toxicity.⁸ Výhodou těchto částicových systémů (násobných lékových forem) oproti jednotkovým lékovým formám je rychlejší přívod léčiva do tlustého střeva a jejich udržení ve vzestupném tračníku po relativně dlouhou dobu. Vzhledem k menší velikosti také snadněji procházejí GIT, což vede k menšímu vlivu intra- a interindividuální variability na transport léčivé látky.¹⁹

Přívodem polypeptidu do tlustého střeva se zabývali ve studii Situa a kol.⁵¹ Mikročástice byly v této práci potaženy speciálně upraveným škrobem, který byl získán vysokoteplotní tlakovou reakcí, enzymatickým odvětčováním a retrogradací. U takto připraveného škrobu byla zvýšena odolnost proti degradaci kyselinami a enzymy v horní části GIT. Mikročástice s obsahem insulinu opatřené tímto obalem vykazovaly vynikající výsledky prodlouženého uvolňování léčiva. Po perorálním podání u potkanů s diabetes II. typu nejprve snížily hladinu glukózy v plazmě a poté ji udržely v normálním rozmezí po dobu 14-22 hodin v závislosti na dávce. Zároveň nebyla pozorována žádná glykopenie ani glykemická fluktuace.⁵¹

Nanočásticové systémy mohou využívat i výše zmíněné pH dependentní polymery. Příkladem je studie Makhlofa a kol.⁵², ve které se připravily nanosféry s obsahem budesonidu za použití polymerních směsí kopolymeru kyseliny glykolové a mléčné s Eudragitem[®] S100. Experiment *in vivo* u krys s UC následně prokázal vynikající terapeutickou účinnost při zmírňování zánětu a menší systémovou toxicitu ve srovnání s konvenčními enterickými mikročásticemi obsahujícími léčivo.⁵²

Testováním NP citrusových pektinů s obsahem 5-fluorouracilu, které byly potaženy Eudragitem[®] S100, se zabývala studie Subudhia a kol.⁵³ Citrusový pektin zároveň působí jako ligand pro receptory galektinu-3, jež se nadměrně exprimují v buňkách kolorektálního karcinomu. Zkouška disoluce *in vitro* prokázala selektivní uvolňování léčiva v tlustém střevě (více než 70 % po 24 hod). Připravené NP se také

podrobily *in vitro* testu cytotoxicity proti rakovinným buňkám HT-29, ve kterém dosáhly 1,5krát vyšší účinnosti v porovnání s roztokem 5-fluorouracilu.⁵³

Střevní sliznice pacientů s IBD je charakterizována nadprodukcí reaktivních forem kyslíku a nerovnováhou důležitých antioxidantů, což vede k jejímu poškození. Ve studii Vonga a kol.⁵⁴ byly navrženy NP obsahující nitroxidové radikály (NRNP), které se akumulují ve sliznici tlustého střeva, kde potlačují zánět (působí jako antioxidant) a snižují nežádoucí účinky NRNP. Ty byly syntetizovány sestavením amfifilního blokového kopolymeru, který obsahuje stabilní NRNP v ethericky vázaném hydrofobním postranním řetězci. Jejich účinnost byla porovnána s nízkomolekulárními léčivy (5-ASA a 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl) *in vivo* na myších s kolitidou. Po 7 dnech terapie bylo zjištěno, že perorálně podané NRNP snižují zánět nejúčinněji.⁵⁴

NP získané z oddenku zázvoru byly účinně zacíleny do tlustého střeva ve studii Zhanga a kol.⁵⁵ K jejich absorpci po perorálním podání došlo primárně buňkami intestinálního epitelu, které jsou aktivními místy zánětu u IBD. Podání vedlo ke zvýšení přežití a proliferaci buněk střevního epitelu z důvodu snížení hladin prozánětlivých cytokinů (TNF- α , IL-6, IL-8) a zvýšení hladin protizánětlivých cytokinů (IL-10, IL-22) u modelů myší kolitidy. Z toho vyplývá, že NP získané ze zázvoru představují nový mechanismus zacílení v prevenci a terapii IBD. Tato strategie je výhodná i díky nižší toxicitě a vyššímu rozsahu produkce v porovnání s běžnými syntetickými NP.⁵⁵

Ucelené představy o většině zmíněných lékových systémech lze docílit jejich vzájemným srovnáním. To je uvedeno v *Tabulce 2*, kde jsou porovnány jednotlivé strategie přívodu léčiva do tlustého střeva včetně jejich limitací a spjatých výzev v souvislosti s fyziologií GIT a vývojem produktů.

Tabulka 2: Porovnání rozdílných strategií přívodu léčiva do tlustého střeva, jejich limity a tím i výzvy do budoucna ²⁵

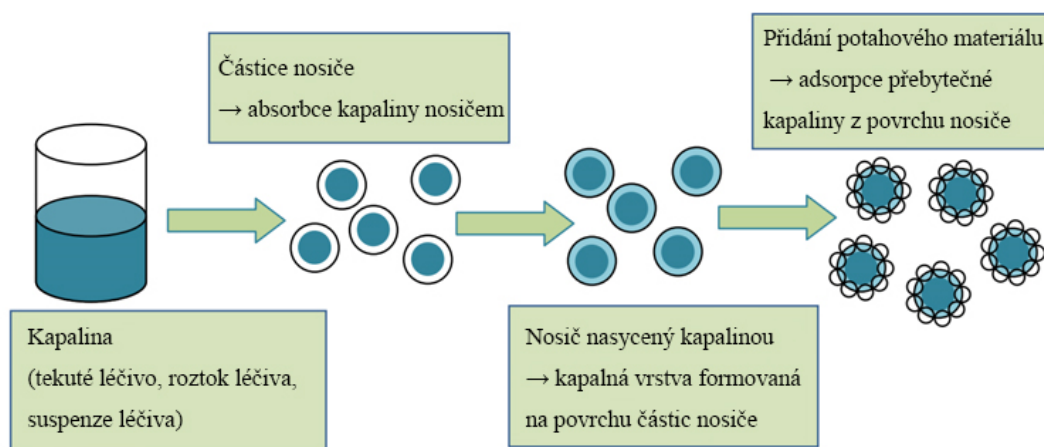
Lékové systémy	závislé na pH	závislé na čase	tlakem, osmoticky řízené	aktivované mikroflórou (polysacharidy/proléčiva)	pokročilé systémy (NP/mikročástečky, hydrogely)
Limity (výzvy)					
<i>Perorální podání:</i>					
Selektivita v cílení léčiva	+	+	+	+	+++
Citlivost ke střevnímu zánětu	+	+	+	++	+++
Lokální dostupnost léčiva v tlustém střevě	++	++	++	++	+++
Efekt dynamické změny pH v GIT	žádný vliv	možný	možný	žádný vliv	možný
Enzymatická degradace mikroflórou	žádný vliv	možný	žádný vliv	možný (vysoce)	možný
Přívod léčiva reagující na onemocnění	+	+	+	+	+++
Stabilita při skladování	+++	+++	++	+++	+
Problém s převedením produktu do velkovýroby	+	+	++	+	+++
Cena	+	+	+++	+	+++

+++ vysoká/ý ++ střední + nízká/ý

6.2.8 Systémy kapalina v pevné fázi

Převedení léčiva do podoby roztoku v místě absorpce (např. v tlustém střevě) je základním předpokladem pro jeho úspěšné cílení do určitého segmentu GIT. To však může být omezujícím faktorem pro špatně rozpustná léčiva, jelikož obsah tekutin v tlustém střevě je mnohem nižší než v horní části GIT. Systémy kapalina v pevné fázi (angl. liquid solid systems – LSS) představují novou techniku, která vede ke zvýšení rychlosti uvolňování ve vodě špatně rozpustných léčiv, a to díky přívodu léčiva v již rozpuštěné podobě. Tyto systémy byly poprvé představeny Spireasem a kol.⁵⁶ a jsou založeny na konverzi kapaliny ve volně tekoucí, nepřilnavý, snadno stlačitelný suchý prášek skrze jednoduché smísení s vybraným nosičem a obalovacím materiálem. Kapalná část je tvořena kapalným léčivem, nebo roztokem či suspenzí pevného

nerozpustného léčiva ve vhodném netěkavém rozpouštědle. Jakmile jsou póry nosiče nasyceny kapalinou, začne se formovat na jeho povrchu tenká vrstva tekutiny. Ta je následně absorbována částicemi obalovacího materiálu (Obrázek 5). Zrychleného uvolňování a následně zvýšené biologické dostupnosti léčiva po perorálním podání je tak dosaženo lepší smáčivostí povrchu lékové formy a přítomností kapalného léčiva na celém povrchu nosiče.^{57–60}



Obrázek 5: Mechanismus tvorby LSS⁵⁷

Jako kapalná vehikula se používají organická rozpouštědla, která jsou bezpečná po perorálním podání, mísitelná s vodou a disponují vysokou teplotou varu. Jsou jimi např. propylenglykol (PG) nebo PEG 400. Nosiče představují porézní materiály s velkým specifickým povrhem a dostatečnou absorpční kapacitou pro léčiva v kapalně podobě. Nejčastěji se používá mikrokrytalická celulóza – MCC (Avicel[®], Ceolus[®], Vivapur[®]), dále magnesium aluminometasilikáty (Neusilin[®], Pharmsorb[®]), mezoporézní silikáty nebo bezvodý hydrogenfosforečnan vápenatý (Fujicalin[®]). Jako obalovací materiál lze použít pomocné látky s velmi malou velikostí částic a vysokými absorpčními vlastnostmi. Používá se např. koloidní oxid křemičitý (Aerosil[®], Cab-O-sil[®] M5), amorfní silikagel (Syloid[®]) nebo křemičitan vápenatý (Florite[®]).^{57,58,61,62}

6.2.8.1 Výhody LSS

K pozitivům LSS patří: ^{60,62}

- možnost formulovat do podoby LSS řadu kapalných a pevných léčiv, která jsou ve vodě špatně rozpustná
- zlepšení disolučního profilu a biologické dostupnosti ve vodě omezeně rozpustných léčiv
- možnost použití LSS pro přípravu lékových forem s řízeným uvolňováním
- nízké výrobní náklady v porovnání s výrobou měkkých želatinových tobolek

6.2.8.2 Nevýhody LSS

Omezeními a nevýhodami LSS jsou: ^{62,63}

- problematická formulace vysoké dávky ve vodě špatně rozpustných léčiv (např. karbamazepinu, flutamidu)
- riziko vytlačování kapaliny ze systému během lisování
- vyšší hmotnost tablet z důvodu nutnosti obsahu většího množství nosičů a obalovacího materiálu, vedoucí k problémům s polykáním

6.2.8.3 Aplikace LSS v cílení léčiv do kolonu

LSS je možné využít i pro směřování léčiv do tlustého střeva. Důkazem je studie Kumara a kol. ⁶⁴, ve které se testoval přívod ve vodě špatně rozpustného léčiva kurkuminu (používán v terapii kolorektálního karcinomu) právě do kolonu. Pro tyto účely byly připraveny liquisolid (LS) tablety za použití PG jako rozpouštědla, Avicelu[®] PH 101 jako nosiče a koloidního oxidu křemičitého jako obalovacího materiálu. Takto připravené LS tablety byly následně potaženy Eudragitem[®] L 100 a GK, aby se dosáhlo prodlouženého uvolňování a zabránilo se degradaci léčiva v žaludku. Na základě výsledku studie byla jako nejvhodnější shledána formulace potažená Eudragitem[®] L 100 a GK v poměru 10:40, jelikož uvolňovala až 86,4 % léčiva v tlustém střevě s minimálním uvolněním v žaludku a tenkém střevě, což vedlo i k menší systémové toxicitě. ⁶⁴

Přívodem léčiva indometacinu do tlustého střeva pomocí liquisolid techniky se zabývala také studie Elkhodairy a kol.⁵⁹ CDDS byl založen na polymethakrylátech (Eudragit[®] RL 100) a enzymaticky odbouratelných polysacharidech (GK, PEC a CH). Tyto polysacharidy byly použity společně s Avicelm[®] PH 102 jako nosiče v LSS buď samostatně nebo ve směsích s odlišnými poměry (GK + CH 1:3, PEC + CH 3:1, PEC + CH 1:3). V LSS byl dále použit PEG 400 jako netěkavé rozpouštědlo a Aerosil[®] 200 jako obalovací materiál. Uvolňování léčiva ze všech matricových LS tablet bylo charakterizováno zanedbatelným uvolňováním v počáteční fázi (2 hod v médiu o pH 1,2) a následně řízeným uvolňováním po dobu 24 hodin (pH média 6,8).⁵⁹

Podobného výsledku dosáhla i studie Maharshia a kol.⁶⁵ Zde se vytvořila formulace, kde byl kombinován pH dependentní polymer (Eudragit[®] S100) s mikrobiálně odbouratelnými polymery (PEC, GK) a přístupem LS technologie.⁶⁵

7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

7.1 Použité přístroje a zařízení

Analytické váhy

Typ: Entris 224i-1S

Výrobce: Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG, Německo

Laboratorní váhy

Typ: KERN 440-45N

Výrobce: KERN & SOHN GmbH, Německo

Vodní lázeň

Typ: GRANT JB5

Výrobce: Grant Instruments (Cambridge) Ltd., Velká Británie

Absolutní rotační reometr

Typ: Malvern Kinexus Pro+

Výrobce: Malvern Instruments Ltd., Velká Británie

Zařízení na měření adheze

Upravené rovníramenné váhy Chirana

pH metr

Typ: HI 221

Výrobce: Hanna Instruments

Spektrofotometr

Typ: SPECORD® 205

Výrobce: Analytik Jena GmbH, Německo

Disoluční přístroj

Typ: Sotax AT7 Smart

Výrobce: SOTAX AG, Švýcarsko

Zařízení na odběr vzorků (autosampler)

Typ: Sotax C613

Výrobce: SOTAX AG, Švýcarsko

Mísící zařízení

Typ: Turbula® T2F

Výrobce: Willy A. Bachhofen AG, Švýcarsko

7.2 Použité suroviny

Theofylin – modelové léčivo, šarže: TAM/13053R, Dr. Kulich Pharma, s.r.o., Česká republika

Mucin – hlen z prasečího žaludku, typ III, vázané kyseliny sialové 0,5 – 1,5 %, částečně vyčištěný prášek, šarže: 111M7000V, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Německo

Guarová klovatina – polymer, šarže: SLCB9098, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Německo

Methocel™ K15M Premium CR Grade Hydroxypropylmethylcelulosa – polymer, šarže: DT366117/000001, Colorcon Limited, Velká Británie

Prášek pro přípravu biorelevantního média FaSSIF / FeSSIF / FaSSGF – šarže: FFF-0918-B, Biorelevant.com Ltd, Velká Británie

Hydroxid sodný (NaOH) – šarže: 030806, PENTA s.r.o., Česká republika

Dihydrogenfosforečnan sodný dihydrát (NaH₂PO₄ · 2H₂O) - šarže: A28619A, Dr. Kulich Pharma, s.r.o., Česká republika

Chlorid sodný (NaCl) – šarže: CRS100310, Dr. Kulich Pharma, s.r.o., Česká republika

Kyselina chlorovodíková 35% p.a. (HCl) – šarže: 1804150413, PENTA s.r.o., Česká republika

Čištěná voda

7.3 Použité metody

7.3.1 Příprava směsí mukoadhezivních polymerů

Polymery GK a HPMC K15M se nejdříve přesítovaly přes síto (velikost ok 400 μm), čímž se docílilo rozbití všech shluků. Směsi polymerů byly následně připraveny smísením v tříosém homogenizátoru Turbula[®] T2F. Proces probíhal 10 minut při rychlosti 34 otáček za minutu. Takto vznikly 3 směsi (*Tabulka 3*) lišící se poměrem jednotlivých polymerů.

Tabulka 3: Směsi mukoadhezivních polymerů

Vzorek	GK [g]	HPMC K15M [g]
100:0	15,00	-
85,4:14,6	12,81	2,19
50:50	7,50	7,50
14,6:85,4	2,19	12,81
0:100	-	15,00

7.3.2 Příprava matricových tablet

Tablety byly připraveny v rámci experimentální části diplomové práce Karolíny Johnové s názvem *Studium vlivu kombinace mukoadhezivních polymerů na chování matricových systémů v prostředí žaludku*.⁶⁶

Tabletovací směsi s obsahem modelového léčiva theofylinu a mukoadhezivních polymerů nebo jejich směsí se zhotovily smísením v poměru 1:1 za pomoci tříosého homogenizátoru Turbula[®] T2F. Na analytických vahách se navážilo $200,0 \pm 1,0$ mg tabletoviny, která byla následně kvantitativně přemístěna do lisovacího přípravku Adamus HT určeného k lisování tablet. K lisování tablet o průměru 7 mm se využil přístroj Zwick/Roell T1-FRO 50 (Zwick GmbH, Německo) spolu se softwarem TestXpert III- V1.2. Lisovací síla byla volena tak, aby vznikly tablety

s pevností v rozmezí 60 – 80 N. Před dalším hodnocením byly tablety uchovávány v uzavíratelných polyethylenových sáčcích po dobu minimálně 24 hodin.

7.3.3 Příprava biorelevantního média simulující tekutiny tenkého střeva nalačno

Následující postup se vztahuje k přípravě 1 000 ml média FaSSIF (z angl. Fasted State Simulated Intestinal Fluid), jehož složení je uvedeno v *Tabulce 4*. V první fázi se na analytických vahách navážilo 0,420 g hydroxidu sodného, 4,470 g dihydrogenfosforečnanu sodného dihydrátu a 6,186 g chloridu sodného. Všechny tyto složky se poté kvantitativně převedly do kádinky a přidalo se přibližně 900 ml čištěné vody. Po kompletním rozpuštění se pH metrem zkontrolovalo pH pufru a za stálého míchání se upravila jeho hodnota pomocí hydroxidu sodného 1M nebo kyseliny chlorovodíkové 1M na hodnotu 6,5. V dalším kroku se doplnil objem pufru čištěnou vodou na celkových 1 000 ml. Takto připravený pufr se převedl do odměrné baňky o objemu 1 000 ml s obsahem 2,240 g prášku FaSSIF. Po kompletním rozpuštění prášku se připravené médium nechalo před experimentem minimálně 2 hodiny odstát, aby došlo ke vzniku micel, což se projevilo opalescencí. Biorelevantní médium FaSSIF se po přípravě skladovalo za pokojové teploty a používalo maximálně po dobu 48 hodin.

Tabulka 4: Složení biorelevantního média FaSSIF⁶⁷

Složení	FaSSIF
Taurocholát sodný [mM]	3
Lecitin [mM]	0,2
Kyselina maleinová [mM]	19,12
Hydroxid sodný [mM]	34,8
Chlorid sodný [mM]	68,62
Vlastnosti	
pH	6,5
Osmolarita [mosm kg ⁻¹]	180 ± 10
Pufrační kapacita [mmol/L/pH]	10

7.3.4 Měření viskozity

Na laboratorních vahách se nejprve navážilo $1,00 \pm 0,01$ g polymeru nebo jejich směsi. Toto množství polymeru se následně v nerezové třence smísilo s 12,5; 15; 20; 30 nebo 50 ml média FaSSIF za vzniku polymerní disperze. Pro každý polymer či směs se připravily odděleně 3 disperze, kdy každá z nich byla hodnocená 3krát. Před samotným měřením se připravená disperze nechala 5 minut odstát, přičemž se nerezová třenka překryla alobalem, aby se minimalizovalo riziko odpařování média.

Viskozita polymerní disperze se stanovila za pomoci absolutního rotačního reometru Malvern Kinexus Pro+ za využití softwaru rSpace for Kinexus. K měření se zvolila geometrie CP 2/20 (kužel s úhlem 2° a průměrem 20 mm) a nastavila se nulová mezera (*zero gap*). Po nanesení přiměřeného množství disperze na spodní geometrii reometru se nastavily parametry měření (*Tabulka 5*) a spustil se test Alternative Flow Curve – Toolkit V005 Shear Rate Ramp.

Tabulka 5: Přehled parametrů měření

Typ geometrie	CP 2/20 (kužel s úhlem 2° a průměrem 20 mm)
Teplota	37 °C
Počet měření v dekádě	10
Rozsah rychlostního spádu	0,01 – 100 s ⁻¹

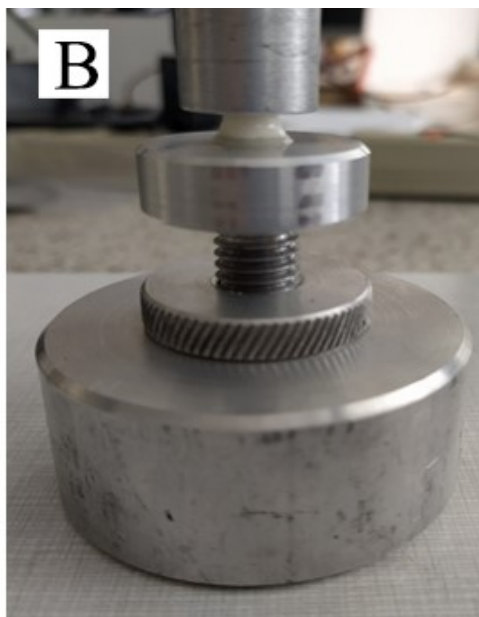
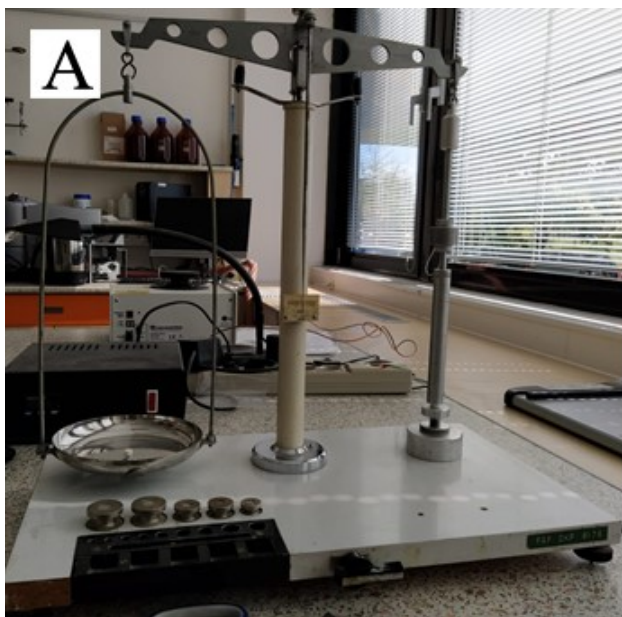
7.3.5 Testování mukoadheze

K testu mukoadheze se použily upravené rovnoramenné váhy (*Obrázek 6*). Celkem bylo hodnoceno 5 tablet z každého vzorku. Testovaná matricová tableta byla připevněna pomocí oboustranné lepicí pásky na speciální závěsný nástavec z nerezové oceli, který se následně umístil na pravé rameno rovnoramenné váhy. Ramena rovnoramenné váhy se zvedla a vyrovnala do vodorovné polohy (přidání závaží na misku vah, které odpovídalo hmotnosti nalepené tablety). Poté se 50 μ l 2% disperze mucinu v biorelevantním médiu FaSSIF nanaslo na základnu, která se předem nastavila pomocí závitů do výšky kontaktu s tabletou upevněnou na nástavci. Základna

se opatrně vsunula pod nástavec s tabletou, tak aby došlo ke kontaktu s disperzí mucinu, aniž by byl na tabletu vyvíjen tlak. Po 5 minutách se na rameno s miskou postupně přidávalo po malých přírůstcích závaží, dokud nedošlo k odtržení tablety od základny pokryté disperzí mucinu. Hmotnost nezbytná pro odtržení tablety od mucinové vrstvy v gramech se zaznamenala a použila pro výpočet mukoadhezivní síly podle *Rovnice 1*.

$$F = \frac{m \cdot g}{A} \quad (1)$$

- F - mukoadhezivní síla [mN/mm²]
m - přidané závaží (hmotnost) [g]
g - gravitační zrychlení [m/s²]
A - povrch tablety [mm²]



Obrázek 6: (A) Upravené rovníramenné váhy a (B) Detail kontaktu nástavce s tabletou se základnou pokrytou disperzí mucinu

7.3.6 Index bobtnavosti

Touto zkouškou se zjišťuje míra nabobtnání matrice v čase (tzv. index bobtnavosti). Šest přesně zvážených testovaných tablet z každé šarže se odděleně vložilo do disolučních košíčků, které se předem rovněž přesně zvážíly. Každý košíček s tabletou byl poté umístěn do kádinky obsahující 75 g biorelevantního média FaSSIF. Kádinky byly v průběhu zkoušky přikryty hliníkovou fólií, aby nedocházelo k odpařování vody, a umístěny do vodní lázně GRANT JB5 vytemperované na $37 \pm 0,5$ °C. Ve stanovených časových intervalech (15, 30, 60, 120, 180, 240, 360, 480 minut) byly košíčky s tabletami vyjmuty z kádinek a po opatrném vysušení košíčku absorpčním papírem zváženy na analytických vahách. Procentuální změna hmotnosti tablet byla vypočtena jako index bobtnání pomocí *Rovnice 2*.

$$\% = \frac{(W_t - W_0)}{W_0} \cdot 100 \quad (2)$$

- IB - index bobtnání (% změna hmotnosti tablety)
 W_t - hmotnost tablety po bobtnání [g]
 W_0 - hmotnost suché tablety v čase 0 [g]

7.3.7 Testování disoluce

Pro hodnocení disoluce tablet s obsahem modelového léčiva theofylinu se použil standartní přístroj s pádlem podle Českého lékopisu 2017⁶⁸ (Sotax AT7 Smart, *Obrázek 7*). Rychlost otáček byla nastavena na 100 ot/min a jako disoluční médium se použilo médium FaSSIF (900 ml) předem vytemperované na $37 \pm 0,5$ °C. Aby se zabránilo flotaci matricových tablet, byly tablety před zkouškou opatrně umístěny do sinkerů. Vzorky (5 ml) se v průběhu disolučního testu odebíraly automaticky (autosamplerem) po 0,25; 0,5; 0,75; 1; 2; 4; 6; 8; 12; 16; 20 a 24 hod; odebrané množství se následně v každém intervalu doplnilo stejným množstvím nového média.



Obrázek 7: Disoluční přístroj Sotax AT7 Smart včetně autosampleru

Odebrané vzorky se naředily v poměru 1:3 (vzorek: FaSSIF) a následně vyhodnotily spektrofotometricky (SPECORD[®] 205). Absorbance každého vzorku se měřila vždy 2krát proti slepému vzorku (FaSSIF) při vlnové délce 272 nm. Ze zjištěných hodnot absorbancí se následně vypočítalo množství uvolněného léčiva z tablet podle kalibrační křivky (Rovnice 3).

$$y = 0,0542x + 0,0551 \quad (R^2 = 0,9985) \quad (3)$$

8 VÝSLEDKY A DISKUSE

Experimentální část této diplomové práce byla zaměřená na studium vlivu mukoadhezivních polymerů, a to guarové klovatiny (GK), hypromelosa K15M (HPMC K15M) a jejich směsí (*Tabulka 3*), v médiu simulujícím tekutiny tenkého střeva nalačno (FaSSIF o pH 6,5). Pomocí rotačního reometru se stanovila viskozita různě koncentrovaných polymerních disperzí, tak aby se simulovalo postupné smáčení polymeru v průběhu průchodu gastrointestinálním traktem, respektive tenkým střevem. Následně se připravily polymerní matrice (tablety) s obsahem modelového léčiva theofylinu, které se podrobily testování indexu bobtnání, hodnocení disolučních profilů a stanovení mukoadhezivní síly.

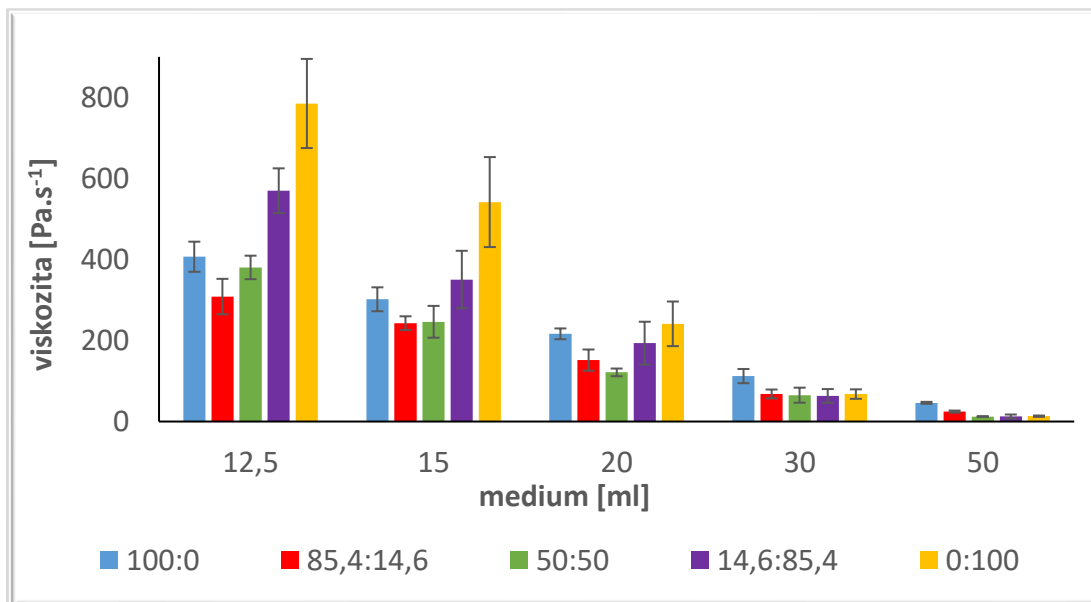
Výsledky hodnocení polymerních matic v prostředí tenkého střeva umožní získat komplexnější poznatky o jejich chování napříč celým GIT, kterých pak může být využito nejen při návrhu lékových forem cílených do tlustého střeva.

8.1 Měření viskozity polymerních disperzí

Poměr polymeru a léčiva v matrici, rozměry tablety, míra rozpustnosti účinné látky, přítomnost dalších pomocných látek a zejména viskozita použitých polymerů patří mezi nejvýznamnější faktory ovlivňující uvolňování léčivé látky z hydrofilních matricových tablet⁶⁹, a proto je hodnocení viskozity také nedílnou součástí této studie.

Výsledky měření viskozity různě koncentrovaných polymerních disperzí jsou znázorněny na *Obrázku 8*. Z dosažených hodnot je možné konstatovat, že u všech vzorků docházelo dle očekávání ke snížení jejich viskozity s rostoucím naředěním disperze. Nejvíce patrný pokles hodnot byl zaznamenán z vzorku 0:100 (HPMC K15M), kde byla naměřena nejvyšší viskozita ze všech disperzí při zředění 12,5 ml média ($784,99 \pm 109,99 \text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$), zatímco u nejméně koncentrované disperze (50 ml) klesla až k hodnotě $13,15 \pm 1,68 \text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$. Získané hodnoty jsou v souladu s výsledky studie Cheong a kol.⁷⁰, kde se stanovovala viskozita různě koncentrovaných disperzí HPMC s rozdílnými stupni viskozity, tedy K4; K15; K30; K50 a K100. Hodnocení zde ukázalo pozitivní vliv vyššího viskozitního stupně polymeru a koncentrovanější

disperze na růst její viskozity.⁷⁰ Vlivem viskozity a obsahu polymeru HPMC na uvolňování léčiva z matricových tablet se zabírala také studie Patela a kol.⁶⁹ Experimentem bylo zjištěno, že zvyšující se viskozita a obsah polymeru HPMC v matrici vede k pomalejšímu uvolňování léčiva.⁶⁹



Obrázek 8: Viskozita jednotlivých typů polymerních disperzí

Naopak nejméně výrazný vliv zředění na výslednou viskozitu byl pozorován u polymerních disperzí GK (vzorek 100:0), které při nejvyšší koncentraci vykázaly viskozitu ($406,74 \pm 37,19 \text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$), ale s rostoucím množstvím média FaSSIF již nedocházelo k tak výraznému poklesu jejich hodnot ($46,14 \pm 2,43 \text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ při 50 ml) jako tomu bylo v případě HPMC K15M. Odborná literatura³³ zdůvodňuje obecně vyšší viskozitu GK interakcemi, k nimž dochází mezi galaktosovým postranním řetězcem polymeru s molekulami vody. S rostoucí koncentrací GK se zvýší i intermolekulární interakce či propletení řetězců, které následně vede k její vyšší viskozitě.³³ To potvrzují i výsledky ze studie Casas a kol.⁷¹, kde byl u roztoku GK sledován růst viskozity s jeho zvyšující se koncentrací. Ve zmíněné studii byl také zdokumentován pozitivní vliv kombinace GK a xanthanové klovatiny, když byla u dané směsi naměřena vyšší viskozita než u samostatně testovaných polymerů.⁷¹ Z grafu (Obrázek 8) výsledného hodnocení viskozit je však zřejmé, že žádná z polymerních směsí (85,4:14,6; 50:50 a 14,6:85,4) nejevila synergický efekt kombinace polymerů, který

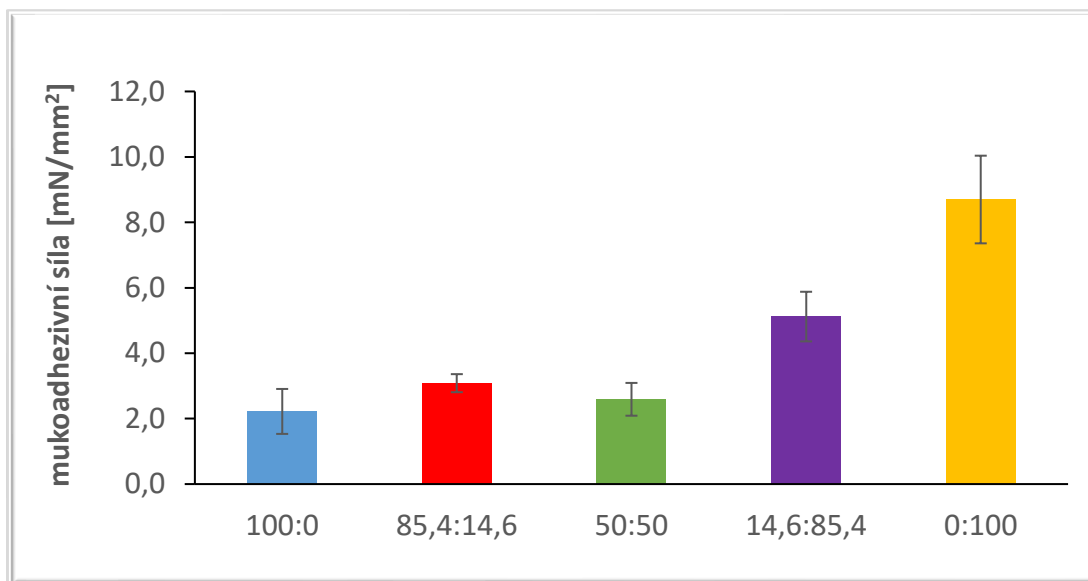
by vedl ke zvýšené viskozitě disperze, u žádného ze zředění, jež byla pro měření zvolena.

8.2 Testování mukoadhezivní síly

Mukoadheze je definována jako schopnost polymeru přilnout k mukózním membránám (hleny) v lidském těle a zajistit tak jeho dočasnou retenci na sliznici.⁷² Při tomto ději dochází nejprve ke smáčení a nabobtnání polymeru, což vyústí v jeho těsnější kontakt s hlenovou vrstvou. Poté následuje propletení řetězců polymeru s glykoproteiny mucinu a vytvoření chemických vazeb (např. vodíkové, Van der Waalsovy vazby) mezi řetězci, jenž vedou ke spojení mukoadhezivního polymeru se sliznicí.⁵ Za účelem stanovení míry mukoadheze byla provedena odtrhávací zkouška umožňující stanovení mukoadhezivní síly vzniklé při kontaktu testovaných matricových tablet s 2% disperzí mucinu v biorelevantním médiu FaSSIF za pomoci speciálně upravených rovnoramenných vah.

Z grafu vzájemného porovnání mukoadhezivních sil matricových tablet s rozdílným obsahem polymerů (*Obrázek 9*) je patrné, že nejnižší hodnoty ($2,22 \pm 0,69$ mN/mm²) vykazuje vzorek 100:0, tedy matrice na bázi čisté GK, zatímco nejvyšší hodnoty byly pozorovány u matric obsahujících pouze HPMC K15M (vzorek 0:100). Naměřená nejvyšší mukoadhezivní síla matric z HPMC K15M ($8,70 \pm 1,34$ mN/mm²) je rovněž v souladu se studií Dalvadi a kol.⁷³, ve které tento polymer také vykazoval nejvyšší mukoadhezivní sílu ze všech testovaných polymerů (GK, xanthanová klovatina, HPMC K4M a HPMC K15M). Vysoké hodnoty mukoadhezivní síly mohou být vysvětleny vyšší viskozitou tohoto polymeru (*Obrázek 8*). Toto tvrzení podporuje studie Chandira a kol.⁷⁴, kde byla zaznamenána vyšší mukoadhezivní síla u tablet z HPMC K15M v porovnání s formulacemi obsahující polymer HPMC K4M s nižším viskozitním stupněm.⁷⁴ Vyšší schopnost mukoadheze je taktéž připisována přítomností velkého množství karboxylových a hydroxylových skupin ve struktuře polymeru, které jsou zodpovědné za adhezi.⁷⁵ Podobné chování matricových systémů obsahující pouze GK nebo HPMC K15 ve vztahu k mukoadhezivní síle bylo popsáno i pro médium simulující prostředí žaludku. Důkazem jsou studie Dalvadi a kol.⁷³ a

Singh a kol.⁷⁶, kde v obou případech tablety složené z HPMC K15M vykazovaly daleko vyšší mukoadhezivní sílu než výlisky z GK.^{73,76}



Obrázek 9: Mukoadhezivní síla rozdílných typů matricových tablet

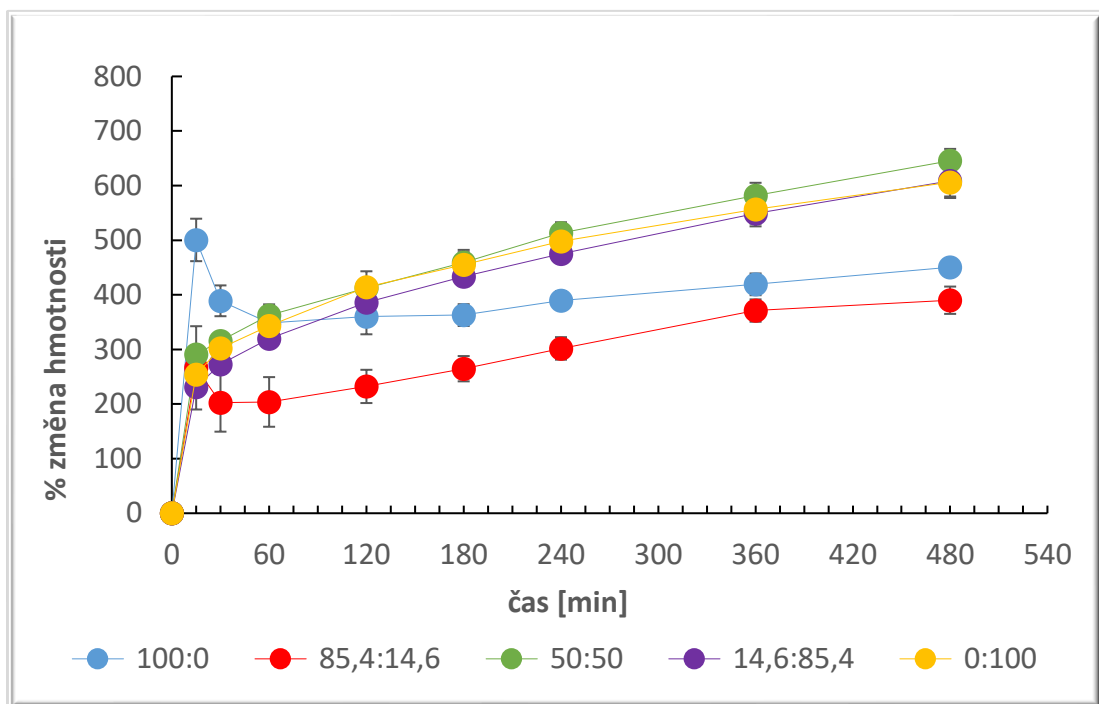
Odborná literatura⁵ pak uvádí, že kombinace odlišných polymerů může vést ke zlepšení mukoadheze dané formulace. Příkladem synergického působení polymerů je studie Dalvadi a kol.⁷³, kde byla naměřena nejvyšší pevnost mukoadhezivního spojení u tablet obsahujících kombinaci HPMC K15M a xanthanové klovatiny v poměru 50:50 s celkovou koncentrací polymerů 40 %.⁷³ Navýšení mukoadhezivní síly kombinací polymerů však v předkládané práci nebylo pozorováno. Získané výsledky ovšem naznačují, že s rostoucím zastoupením HPMC K15M ve formulaci se zvyšuje i mukoadhezivní síla. Výjimku představují pouze tablety 50:50, u kterých byla pozorována síla ($2,59 \pm 0,50 \text{ mN/mm}^2$) srovnatelná se vzorkem 85,4:14,6 ($3,08 \pm 0,28 \text{ mN/mm}^2$).

8.3 Hodnocení bobtnavosti tablet

Při expozici hydrofilních matricových tablet vodnému prostředí (gastrointestinální tekutiny) se jejich povrch nejprve zvlhčí, čímž se umožní postupná hydratace polymeru následována procesem bobtnání. Tím se na povrchu systému vytváří gelová vrstva, která slouží jako bariéra řídicí uvolňování léčiva.⁷⁷ Během

bobtnání dochází obvykle nejprve ke zvětšení tloušťky viskózní vrstvy, poté následuje synchronizační fáze, kdy se rychlost bobtnání a eroze vyrovná, a nakonec dominuje eroze polymeru. Nezbytnou podmínkou pro funkčnost lékových forem s prodlouženým uvolňováním je proto rychlé nabobtnání polymeru při prvním kontaktu s GIT tekutinami, čímž se výrazně omezí či zabrání předčasnému uvolnění aktivní látky a jiných ve vodě rozpustných pomocných látek do média.⁷⁸ Už dřívější studií Peppase a kol.⁷⁹ bylo prokázáno, že uvolňování léčiv z nabobtnalé hydrofilní matrice závisí na tloušťce gelové vrstvy, která se formuje během hydratace a bobtnání polymeru.⁷⁹ Stupeň nabobtnání určuje délku difúzní dráhy léčivé látky a je proto důležitým parametrem řídícím rychlost uvolňování léčiva, tzn., čím je gelová membrána silnější, tím je rychlost uvolňování z matrice pomalejší.⁷⁸ Z těchto důvodů bylo cílem zkoušky stanovit index bobtnavosti, tedy míru nabobtnání, jednotlivých typů hydrofilních matricových tablet v médiu simulujícím tekutiny tenkého střeva (FaSSIF).

Výsledky zkoušky bobtnání jsou demonstrovány na *Obrázku 10*. Zjištěné hodnoty ukázaly, že matrice složené čistě z GK (100:0) vykazovaly nejvyšší hmotnostní přírůstek po prvních 15 minutách testu ($500,52 \pm 38,91$ %), což je způsobeno rychlejší a mohutnější hydratací GK v počáteční fázi bobtnání.⁸⁰ V důsledku toho dochází následně k dominanci erozního působení v povrchové vrstvě matrice a tím i úbytku hmotnosti tablety až na $348,72 \pm 23,74$ % (60 minut). Ve zbylém časovém úseku se již matrice založené pouze na GK vyznačují konstantním mírným nárůstem hmotnosti, tzn. postupnou převažující hydratací a bobtnáním centrálněji situovaných vrstev matrice. Obdobný trend je patrný také u tablet s vyšším poměrem GK (vzorek 85,4:14,6), kde však díky přítomnosti malého množství HPMC K15M v matrici nedochází k tak razantní prvotní hydrataci tablety, a tedy i následný pokles indexu bobtnání, způsobený erozí matrice, je méně výrazný.



Obrázek 10: Porovnání indexu bobtnání všech typů matricových tablet

Naopak formulace obsahující HPMC K15M alespoň v 50 % zastoupení (50:50, 14,6:85,4 a 0:100) bobtnaly konstantněji a v celkovém čase 8 hod dosáhly vyššího hmotnostního přírůstku (až $645,53 \pm 21,72$ % u vzorku 50:50) v porovnání s tabletami, kde převažovala GK. To je pravděpodobně způsobeno vyšší viskozitou disperzí samotného polymeru HPMC K15M i směsí s jeho vyšším zastoupením, jak bylo diskutováno výše. Vyšší viskozita spojená s výraznějším stupněm nabobtnání může být v tomto případě přisouzena přítomnosti vysoce hydrofilních hydroxypropoxylových skupin v HPMC.⁸¹ Závislost schopnosti polymeru přijímat vodu na viskozitě byla pozorována také ve studii Vueba a kol.⁸², kde se zabývali vlivem polymerů etherů celulosy na uvolňování ketoprofenu z hydrofilních matricových tablet. Výsledky testování ukázaly, že u matricových tablet obsahujících methylcelulosu 25 a hydroxypropylcelulosu bylo množství absorbované vody nižší (stupeň nabobtnání) ve srovnání s formulacemi z HPMC K15M nebo HPMC K100M. Důvod nižšího nabobtnání methylcelulosy 25 souvisí právě s absencí hydrofilních hydroxypropoxylových skupin v její struktuře, což následně vede k nižší schopnosti absorpce vody polymerní maticí.⁸²

Podobné výsledky z hodnocení indexu bobtnání matric založených na GK a HPMC K15M byly pozorovány také v médiu simulujícím kyselé prostředí žaludku (0.1N HCl, pH 1,2). Srivastava a kol.⁸³ ve své studii prokázali, že formulace na bázi HPMC K15M bobtnala konstantně po celou dobu zkoušky (8 hod), zatímco u tablet z GK byl pozorován nárůst hmotnosti v úvodních 3 hodinách a poté již převažoval proces eroze nad hydratací a bobtnáním polymeru.⁸³

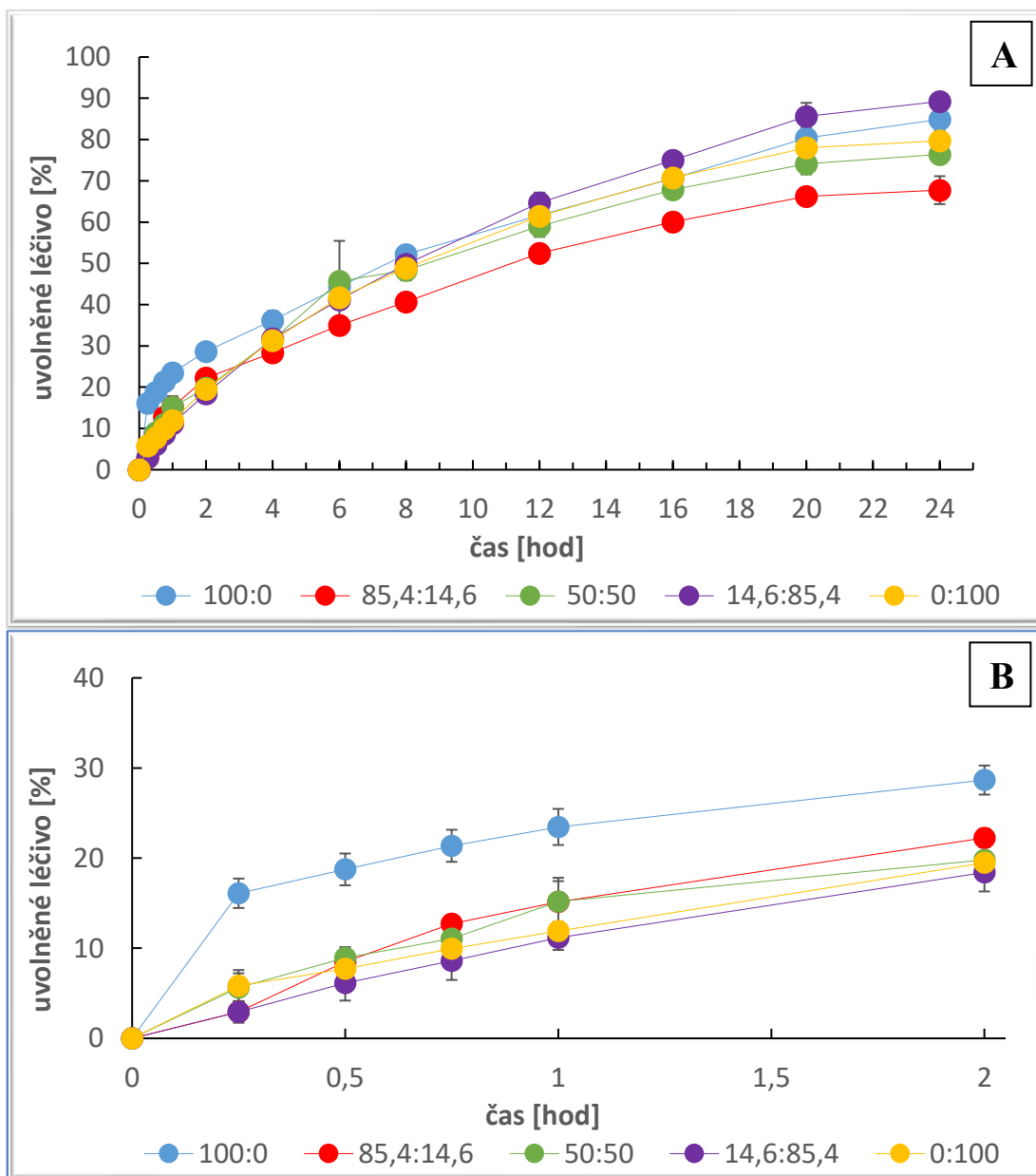
Přestože odborná literatura⁷³ uvádí, že během 5 hodin dochází v kyselém prostředí u GK k dosažení maximálního stupně nabobtnání⁷³, nebylo dosažení maxima pozorováno u žádného z testovaných vzorků (s výjimkou počáteční eroze vzorků 100:0 a 85,4:14,6). Z tohoto důvodu je možné usuzovat, že k převládnutí procesu eroze je v případě zásaditého prostředí tenkého střeva potřebná delší doba a je možné tak předpokládat, že k uvolňování léčiva bude docházet po delší časový úsek.

8.4 Stanovení disolučních profilů modelového léčiva

Jednotlivé matricové tablety se podrobily zkouškám disoluce v médiu FaSSIF za účelem stanovení jejich schopnosti prodloužit uvolňování modelového léčiva theofylinu. Jelikož se jedná o hydrofilní matrice, je uvolnění léčiva z těchto tablet řízeno bobtnáním a následnou erozí matrice. Prvně zmíněný mechanismus je založen na principu průniku vody do suché matrice, tedy její postupné hydratace, a schopnosti polymeru tvořit viskózní gel, jež následně zpomalí difúzi rozpuštěného léčiva prostřednictvím nabobtnalého gelu. Vzniklý gel navíc inhibuje další vstup média do nitra tablety. Kvůli vysokému obsahu vody dochází časem k prodloužení délky difúzní dráhy, což má za následek prodloužení uvolňování. Protichůdně působí proces rozpouštění polymeru a rozvolňování jeho řetězců, jenž může nastat v důsledku vysokého naředění spojeného s nedostatečnou viskozitou. Jedná se o erozi gelové vrstvy, která vede ke zkrácení délky difúzní dráhy a zvýšení rychlosti uvolňování účinné látky.^{84–86}

Profily uvolňování modelového léčiva theofylinu z testovaných matricových tablet jsou znázorněny na *Obrázku 11*. Na základě získaných hodnot je možné konstatovat, že všechny typy tablet byly schopny prodlouženě uvolňovat léčivo po dobu 24 hodin. Zaznamenaný průběh bobtnání matrice z GK (její rychlá hydratace

následovaná erozí povrchové vrstvy v počáteční fázi) se promítl i ve výsledcích disoluční zkoušky, kdy je u tohoto typu matrice (vzorek 100:0) pozorován tzv. burst efekt charakterizovaný rychlým uvolněním léčiva při kontaktu s disolučním médiem ($16,10 \pm 1,63$ % po 15 minutách) (*Obrázek 11B*). Tento jev může být způsoben tvorbou pórů v gelové vrstvě, přítomností méně viskózních polymerů nebo rozpuštěním určitého procenta léčiva nacházejícího se na povrchu tablety. Počáteční rychlé uvolnění léčiva z matrice lze potlačit zvýšením obsahu polymeru a tím i jeho viskozity, nebo kombinací různých polymerů, které se mohou stát díky synergickému působení viskóznějšími.⁸⁴ Je však nutné zmínit, že zaznamenaný burst efekt byl méně výrazný než v případě použití biorelevantního média simulujícího prostřední žaludku (FaSSGF), kde bylo pozorováno prvotní uvolnění $21,36 \pm 1,99$ % léčiva theofylinu.⁶⁶ Toto zjištění je pravděpodobně důsledkem vyšší viskozity GK v zásaditém prostředí (maximální hodnoty při pH 6 – 9) oproti kyselému (nejnižší viskozita okolo pH 3,5).⁸⁷



Obrázek 11: Porovnání disolučních profilů matricových tablet s obsahem theofylinu v průběhu 24 hodin (A) a během prvních 2 hodin zkoušky (B)

Přestože tablety 85,4:14,6 rovněž vykazovaly rychlé nabobtnání s následnou erozí matrice, rychlejší uvolnění léčiva v prvních minutách nebylo u tohoto vzorku pozorováno (Obrázek 11B). Přítomnost HPMC K15M v matrici je tedy spojena s omezením burst efektu a vede k pozvolnému uvolňování léčiva v průběhu celé disoluční zkoušky.

Analogii ve výsledcích lze spatřit i ve studii Maad a kol.⁸⁸, kde se zabývali přípravou matricových tablet s obsahem extraktu z rostliny *Solenostemma argel* cílených do tlustého střeva. Zkouška disoluce v tomto případě probíhala první 2 hodiny v médiu o pH 1,2 a posléze další 3 hodiny ve fosfátovém pufru simulující střevní tekutiny. Z výsledků studie je patrné, že množství uvolněného léčiva po 5 hodinách z matric založených na směsi polymerů GK a HPMC K15M je menší (13,9 - 28,2 %) než z matric obsahujících samotnou GK (30,00 - 35,74 %).⁸⁸ K podobnému závěru dospěla i studie Yamsaniho a kol.⁸⁹, kde testovali disoluční profily matricových tablet obsahující mj. samostatně GK a HPMC K15M. Tablety byly nejprve podrobeny testování v médiu o pH 1,2 po dobu 2 hod a poté byly dalších 10 hod hodnoceny ve fosfátovém pufru o pH 6,8. Výsledky studie ukázaly, že matrice složená z GK uvolnila již po 1. hod 33,87 % léčiva eplerenonu a celkově po 12 hod 101,00 %, zatímco formulace sestávající z HPMC K15M jen 10,99 % a v celkovém čase přibližně 52,00 %.⁸⁹ I zde tak dochází v případě formulace z GK k uvolnění většího množství léčiva během iniciační fáze disolučního testu.

9 ZÁVĚR

Předkládaná práce je preformulační studií, která je součástí rozsáhlejšího experimentu zabývající se cílením lékových systémů do tlustého střeva. Jejím cílem bylo vyhodnotit chování mukoadhezivních polymerů, a to GK, HPMC K15M a jejich kombinací v biorelevantním médiu simulující tekutiny tenkého střeva nalačno (FaSSIF) s hodnotou pH 6,5 tak, aby se získaly komplexní informace o jejich chování v průběhu průchodu lékového systému celým gastrointestinálním traktem.

Měření viskozity různě koncentrovaných polymerních disperzí ukázalo, že u všech testovaných vzorků docházelo k poklesu viskozity s jejich rostoucím zředěním. Tento vliv byl nejméně patrný u disperzí z GK (100:0), které ovšem vykazovaly nižší viskozitu v porovnání se vzorky obsahující vyšší zastoupení HPMC K15M (14,6:85,4 a 0:100).

Z výsledků testování mukoadheze vyplývá, že nejsilnější vazbu s mucinem (hlenem z prasečího žaludku) vytvářely tablety složené výhradně z HPMC K15M. Vyšší hodnoty mukoadhezivní síly lze vysvětlit přítomností velkého množství karboxylových a hydroxylových skupin ve struktuře HPMC K15M a vyšší viskozitou tohoto polymeru.

Index bobtnavosti matricových výlisků u vzorků 100:0 a 85,4:14,6 byl charakterizován prudkým nabobtnáním matric v iniciální fázi testu, čímž následně došlo ke ztrátě jejich hmotnosti z důvodu eroze kompletně hydratovaných povrchových vrstev. Oproti tomu formulace s 50% a vyšším zastoupením HPMC K15M ve směsi bobtnaly mnohem konstantněji a v celkovém čase 8 hodin vykázaly větší hmotnostní přírůstek.

U všech typů matricových tablet bylo pozorováno prodloužené uvolňování léčiva theofylinu po celou dobu zkoušky (24 hodin). Avšak matrice obsahující přídavek HPMC K15M uvolňovaly léčivo konstantněji ve srovnání se vzorkem 100:0; (GK), kde byl úvodu zkoušky zaznamenán tzv. burst efekt způsobený rychlým nabobtnáním matrice vedoucím k rozpuštění jejich vnějších vrstev.

Na základě zjištěných výsledků je možné konstatovat, že se jako nejvhodněji pro další testování jeví matrice sestávající pouze z polymeru HPMC K15M, u nichž

byly naměřeny nejvyšší hodnoty mukoadhezivní síly a během disoluční zkoušky uvolňovaly léčivou látku konstantně, aniž by došlo k burst efektu v počáteční fázi.

10 POUŽITÁ LITERATURA

1. Lee SH, Bajracharya R, Min JY, Han J-W, Park BJ, Han H-K. Strategic Approaches for Colon Targeted Drug Delivery: An Overview of Recent Advancements. *Pharmaceutics*. 2020;12(1):68. doi:10.3390/pharmaceutics12010068
2. Amidon S, Brown JE, Dave VS. Colon-Targeted Oral Drug Delivery Systems: Design Trends and Approaches. *AAPS PharmSciTech*. 2015;16(4):731-741. doi:10.1208/s12249-015-0350-9
3. Dvořáčková K, Franc A, Kejdušová M. Směřování léčiv do tlustého střeva. *Chem List*. 2013;107:522-529.
4. Hua S. Advances in Oral Drug Delivery for Regional Targeting in the Gastrointestinal Tract - Influence of Physiological, Pathophysiological and Pharmaceutical Factors. *Front Pharmacol*. 2020;11(April):1-22. doi:10.3389/fphar.2020.00524
5. Gajdziok J. Mukoadheze a její uplatnění při aplikaci léku do dutiny ústní. *Prakt. lékáren*. 2016;12(3):105-107.
6. Philip A, Philip B. Colon Targeted Drug Delivery Systems: A Review on Primary and Novel Approaches. *Oman Med J*. 2010;25(2):70-78. doi:10.5001/omj.2010.24
7. Zhang L, Sang Y, Feng J, Li Z, Zhao A. Polysaccharide-based micro/nanocarriers for oral colon-targeted drug delivery. *J Drug Target*. 2016;24(7):579-589. doi:10.3109/1061186X.2015.1128941
8. Arévalo-Pérez R, Maderuelo C, Lanao JM. Recent advances in colon drug delivery systems. *J Control Release*. 2020;327(June):703-724. doi:10.1016/j.jconrel.2020.09.026
9. Hua S, Marks E, Schneider JJ, Keely S. Advances in oral nano-delivery systems for colon targeted drug delivery in inflammatory bowel disease: Selective targeting to diseased versus healthy tissue. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med*. 2015;11(5):1117-1132. doi:10.1016/j.nano.2015.02.018
10. Zhang M, Merlin D. Nanoparticle-based oral drug delivery systems targeting the colon for treatment of ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*.

- 2018;24(7):1401-1415. doi:10.1093/ibd/izy123
11. Yoshida T, Lai TC, Kwon GS, Sako K. pH- and ion-sensitive polymers for drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2013;10(11):1497-1513. doi:10.1517/17425247.2013.821978
 12. Verma S, Kumar V, Mishra DN, Singh SK. Colon targeted drug delivery: Current and novel perspectives. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 2012;3(5):1274-1284.
 13. Ibekwe VC, Khela MK, Eans DF, Basit AW. A new concept in colonic drug targeting: a combined pH-responsive and bacterially-triggered drug delivery technology. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;28(7):911-916. doi:10.1111/j.1365-2036.2008.03810.x
 14. Liu F, Moreno P, Basit AW. A novel double-coating approach for improved pH-triggered delivery to the ileo-colonic region of the gastrointestinal tract. *Eur J Pharm Biopharm.* 2010;74(2):311-315. doi:10.1016/j.ejpb.2009.11.008
 15. Patel A, Bhatt N, Patel KR, Patel NM, Patel MR. Colon targeted drug delivery system: A review system. *Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research.* 2011;1(1):37-49.
 16. Qureshi AM, Momin M, Rathod S, Dev A, Kute C. Colon targeted drug delivery system: A review on current approaches. *Indian J Pharm Biol Res.* 2013;1(04):130-147. doi:10.30750/ijpbr.1.4.24
 17. Pozzi F, Furlani P, Gazzaniga A, Davis S, Wilding I. The time clock system: a new oral dosage form for fast and complete release of drug after a predetermined lag time. *J Control Release.* 1994;31(1):99-108. doi:10.1016/0168-3659(94)90255-0
 18. Singh CK, Saxena S, Yadav M, Samson AL. A review on novel approaches for colon targeted drug delivery systems. *PharmaTutor.* 2018;6(7):11. doi:10.29161/PT.v6.i7.2018.11
 19. P. D. Kothawade, H.H. Gangurde, R. K. Surawase, M. A. Wagh ST. Conventional and Novel Approaches for Colon Specific Drug Delivery: A Review. *e-Journal Sci Technol.* 2011;6(2):33-56.
 20. Amritpal S, Ankush S, Pooja, Anju. Novel approaches for colon targeted drug delivery system. *Int J Res Dev Pharm Life Sci.* 2014;3(2):877-886.

21. Vaidya A, Jain S, Agrawal RK, Jain SK. Pectin–metronidazole prodrug bearing microspheres for colon targeting. *J Saudi Chem Soc.* 2015;19(3):257-264. doi:10.1016/j.jscs.2012.03.001
22. Patel PK, Satwara RS, Pandya SS. Bacteria aided biopolymers as carriers for colon specific drug delivery system: A review. *Int J PharmTech Res.* 2012;4(3):1192-1214.
23. Kumar PS, Prathibha D, Parthibarajan R, Reichal RC. Novel colon specific drug delivery system: A review. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2012;4(SUPPL.1):22-29.
24. Katsuma M, Watanabe S, Kawai H, Takemura S, Masuda Y, Fukui M. Studies on lactulose formulations for colon-specific drug delivery. *Int J Pharm.* 2002;249(1-2):33-43. doi:10.1016/S0378-5173(02)00429-5
25. Kotla NG, Rana S, Sivaraman G, et al. Bioresponsive drug delivery systems in intestinal inflammation: State-of-the-art and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019;146:248-266. doi:10.1016/j.addr.2018.06.021
26. Milojevic S, Newton JM, Cummings JH, et al. Amylose as a coating for drug delivery to the colon: Preparation and in vitro evaluation using 5-aminosalicylic acid pellets. *J Control Release.* 1996;38(1):75-84. doi:10.1016/0168-3659(95)00112-3
27. Ouellette M, Masse F, Lefebvre-Demers M, et al. Insights into gold nanoparticles as a mucoadhesive system. *Sci Rep.* 2018;8(1):1-15. doi:10.1038/s41598-018-32699-2
28. Donnelly R, Shaikh R, Raj Singh T, Garland M, Woolfson Ad. Mucoadhesive drug delivery systems. *J Pharm Bioallied Sci.* 2011;3(1):89. doi:10.4103/0975-7406.76478
29. Hombach J, Bernkop-Schnürch A. Mucoadhesive Drug Delivery Systems. In: *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences.* 2010;3(1):251-266. doi:10.1007/978-3-642-00477-3_9
30. Sharma G, Sharma S, Kumar A, et al. Guar gum and its composites as potential materials for diverse applications: A review. *Carbohydr Polym.* 2018;199:534-545. doi:10.1016/j.carbpol.2018.07.053
31. Al-Tabakha MM. HPMC Capsules: Current Status and Future Prospects. *J Pharm Pharm Sci.* 2010;13(3):428-442. doi:10.18433/J3K881

32. Prabakaran M. Prospective of guar gum and its derivatives as controlled drug delivery systems. *Int J Biol Macromol.* 2011;49(2):117-124. doi:10.1016/j.ijbiomac.2011.04.022
33. Mudgil D, Barak S, Khatkar BS. Guar gum: processing, properties and food applications-A Review. *J Food Sci Technol.* 2014;51(3):409-418. doi:10.1007/s13197-011-0522-x
34. Giri A, Ghosh T, Panda AB, Pal S, Bandyopdhyay A. Tailoring carboxymethyl guar gum hydrogel with nanosilica for sustained transdermal release of diclofenac sodium. *Carbohydr Polym.* 2012;87(2):1532-1538. doi:10.1016/j.carbpol.2011.09.050
35. Sen G, Mishra S, Jha U, Pal S. Microwave initiated synthesis of polyacrylamide grafted guar gum (GG-g-PAM)-Characterizations and application as matrix for controlled release of 5-amino salicylic acid. *Int J Biol Macromol.* 2010;47(2):164-170. doi:10.1016/j.ijbiomac.2010.05.004
36. Vemula SK, Bontha VK. Colon Targeted Guar Gum Compression Coated Tablets of Flurbiprofen: Formulation, Development, and Pharmacokinetics. *Biomed Res Int.* 2013;2013:1-8. doi:10.1155/2013/287919
37. Shaikh AA, Pawar YD, Kumbhar ST. An in-vitro study for mucoadhesion and control release properties of guar gum and chitosan in itraconazole mucoadhesive tablets. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 2012;3(5):1411-1414.
38. Dvořáčková K. Drug release from oral matrix tablets containing hypromellose. *Chem List.* 2009;103(1):66-72.
39. Siepmann J, Peppas NA. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(SUPPL.):163-174. doi:10.1016/j.addr.2012.09.028
40. Bithi FA, Saha T, Ahmed N, Hasan I, Reza MS. Preparation and In vitro Evaluation of Mucoadhesive Tablets of Montelukast Sodium. *Bangladesh Pharm J.* 2018;20(2):123-131. doi:10.3329/bpj.v20i2.37865
41. Kaur A, Kaur A, P. Kaur V, Kaur M, Murthy RSR. Polymeric Drug Delivery Approaches for Colon Targeting: A Review. *Drug Deliv Lett.* 2014;4(1):38-48. doi:10.2174/22103031113036660017

42. Gupta BP, Thakur N, Jain NP, Banweer J, Jain S. Osmotically Controlled Drug Delivery System with Associated Drugs. *J Pharm Pharm Sci.* 2010;13(3):571-588. doi:10.18433/J38W25
43. Singh A, Dubey H, Shukla I, Singh DP. Pulsatile drug delivery system: An approach of medication according to circadian rhythm. *J Appl Pharm Sci.* 2012;2(3):166-176.
44. Krishnaiah YSR, Khan MA. Strategies of targeting oral drug delivery systems to the colon and their potential use for the treatment of colorectal cancer. *Pharm Dev Technol.* 2012;17(5):521-540. doi:10.3109/10837450.2012.696268
45. Hu Z, Kimura G, Mawatari S, Shimokawa T, Yoshikawa Y, Takada K. New preparation method of intestinal pressure-controlled colon delivery capsules by coating machine and evaluation in beagle dogs. *J Control Release.* 1998;56(1-3):293-302. doi:10.1016/S0168-3659(98)00090-X
46. Patel PB, Dhake AS. Multiparticulate approach: An emerging trend in colon specific drug delivery for chronotherapy. *J Appl Pharm Sci.* 2011;1(5):59-63.
47. Ashish B, Kumar S, Jeet K. Recent technological advancements in multiparticulate formulations: The smart drug delivery systems. *Asian J Pharm.* 2015;9(4):13-25.
48. Häring A, Vetchý D, Janovská L, Krejčová K, Rabišková M. Differences in Characteristics of Pellets Prepared by Different Pelletization Methods. *Drug Dev Ind Pharm.* 2008;34(3):289-296. doi:10.1080/03639040701655960
49. Xu M, Sun M, Qiao H, Ping Q, Elamin ES. Preparation and evaluation of colon adhesive pellets of 5-aminosalicylic acid. *Int J Pharm.* 2014;468(1-2):165-171. doi:10.1016/j.ijpharm.2014.04.040
50. Vemula SK. Formulation and pharmacokinetics of colon-specific double-compression coated mini-tablets: Chronopharmaceutical delivery of ketorolac tromethamine. *Int J Pharm.* 2015;491(1-2):35-41. doi:10.1016/j.ijpharm.2015.06.007
51. Situ W, Chen L, Wang X, Li X. Resistant Starch Film-Coated Microparticles for an Oral Colon-Specific Polypeptide Delivery System and Its Release Behaviors. *J Agric Food Chem.* 2014;62(16):3599-3609. doi:10.1021/jf500472b

52. Makhlof A, Tozuka Y, Takeuchi H. pH-Sensitive nanospheres for colon-specific drug delivery in experimentally induced colitis rat model. *Eur J Pharm Biopharm.* 2009;72(1):1-8. doi:10.1016/j.ejpb.2008.12.013
53. Subudhi M, Jain A, Jain A, et al. Eudragit S100 Coated Citrus Pectin Nanoparticles for Colon Targeting of 5-Fluorouracil. *Materials (Basel).* 2015;8(3):832-849. doi:10.3390/ma8030832
54. Vong LB, Tomita T, Yoshitomi T, Matsui H, Nagasaki Y. An orally administered redox nanoparticle that accumulates in the colonic mucosa and reduces colitis in mice. *Gastroenterology.* 2012;143(4):1027-1036.e3. doi:10.1053/j.gastro.2012.06.043
55. Zhang M, Viennois E, Prasad M, et al. Edible ginger-derived nanoparticles: A novel therapeutic approach for the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer. *Biomaterials.* 2016;101:321-340. doi:10.1016/j.biomaterials.2016.06.018
56. Spireas SS, Jarowski CI, Rohera BD. Powdered Solution Technology: Principles and Mechanism. *Pharmaceutical Research.* 1992;9(10):1351-1358.
57. Wang D, Xing H, Jiang J, et al. Liquisolid technique and its applications in pharmaceuticals. *Asian J Pharm Sci.* 2017;12(2):115-123. doi:10.1016/j.ajps.2016.09.007
58. Vraníková B, Gajdziok J, Vetchý D, Kratochvíl B, Seilerová L. Liquid-solid systems as a modern trend for increasing drug bioavailability. *Chem List.* 2013;107(9):681-687.
59. Elkhodairy KA, Elsaghir HA, Al-Subayiel AM. Formulation of indomethacin colon targeted delivery systems using polysaccharides as carriers by applying liquisolid technique. *Biomed Res Int.* 2014;2014:17. doi:10.1155/2014/704362
60. Burra S, Yamsani M, Vobalaboina V. The Liquisolid technique: An overview. *Brazilian J Pharm Sci.* 2011;47(3):475-482. doi:10.1590/S1984-82502011000300005
61. Chandel P, Kumari R, Kapoor A. Liquisolid technique: An approach for enhancement of solubility. *J Drug Deliv Ther.* 2013;3(4):131-137. doi:10.22270/jddt.v3i4.556
62. Vraníková B, Gajdziok J. Liquisolid systems and aspects influencing their

- research and development. *Acta Pharm.* 2013;63(4):447-465. doi:10.2478/acph-2013-0034
63. Pawar JD, Jagtap RS, Doijad RC, et al. Liquisolid compacts: A promising approach for solubility enhancement. *J Drug Deliv Ther.* 2017;7(4):6-11. doi:10.22270/jddt.v7i4.1466
 64. Kumar VS, Rijo J, Sabitha M. Guar gum and Eudragit® coated curcumin liquid solid tablets for colon specific drug delivery. *Int J Biol Macromol.* 2018;110:318-327. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.01.082
 65. Maharshi P, Singh SK, Gulati M, et al. A Novel Three-pronged Approach for Colon Delivery of Sulfasalazine: Concomitant Use of pH- Responsive, Microbially Triggered Polymers and Liquisolid Technology. *Curr Drug Deliv.* 2018;15(7):1038-1054. doi:10.2174/1567201815666180320095703
 66. Johnová, K. Studium vlivu kombinace mukoadhezivních polymerů na chování matricových systémů v prostředí žaludku. Diplomová práce, Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové (2021).
 67. Marques MRC, Loebenberg R, Almukainzi M. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. *Dissolution Technol.* 2011;18(3):15-28. doi:10.14227/DT180311P15
 68. ČR, M. zdravotnictví. *Český Lékopis 2017.* (GRADA Publishing, a.s., 2017) ISBN: 859-404-924-045-6
 69. Patel VF, Patel NM. Statistical evaluation of influence of viscosity and content of polymer on dipyridamole release from floating matrix tablets: A technical note. *AAPS PharmSciTech.* 2007;8(3):1-5. doi:10.1208/pt0803069
 70. Cheong LWS, Heng PWS, Wong LF. Relationship between polymer viscosity and drug release from a matrix system. *Pharm Res.* 1992;9(11):1510-1514. doi:10.1023/A:1015883501871
 71. Casas JA, Mohedano AF, García-Ochoa F. Viscosity of guar gum and xanthan/guar gum mixture solutions. *J Sci Food Agric.* 2000;80(12):1722-1727. doi:10.1002/1097-0010(20000915)80:12<1722::AID-JSFA708>3.0.CO;2-X
 72. Khutoryanskiy VV. Advances in Mucoadhesion and Mucoadhesive Polymers. *Macromol Biosci.* 2011;11(6):748-764. doi:10.1002/mabi.201000388
 73. Dalvadi HP, Patel JK, Rajput GC, Muruganatham V, Jayakar B. Development

- and characterization of controlled release mucoadhesive tablets of captopril. *Ars Pharm.* 2011;52(2):31-37.
74. Chandira M, Sachin, Bhowmik D, Jayakar B. Formulation and Evaluation of Mucoadhesive Oral Tablet of Clarithromycin. *T. Pharm. Res.* 2009;2:30-42.
 75. Bala Ramesha Chary R, Vani G, Madhusudan Rao Y. In vitro and in vivo adhesion testing of mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Dev Ind Pharm.* 1999;25(5):685-690. doi:10.1081/DDC-100102226
 76. Singh SK, Bothara SB, Singh S, Patel R, Dodia R. Formulation and Evaluation of Mucoadhesive Tablet: Influence of Some Hydrophilic Polymers on the Release Rate and In Vitro Evaluation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology.* 2010;3(3):1111-1121.
 77. Mašková E, Kubová K, Mašek J. Modulate uvolňování léčiv z moderních perorálních a orálních hydrofilních matricových systémů na bázi hypromelosity. *Chem List.* 2019;113:491–499.
 78. Chaibva FA, Khamanga SMM, Walker RB. Swelling, erosion and drug release characteristics of salbutamol sulfate from hydroxypropyl methylcellulose-based matrix tablets. *Drug Dev Ind Pharm.* 2010;36(12):1497-1510. doi:10.3109/03639045.2010.488648
 79. Peppas NA, Gurny R, Doelker E, Buri P. Modelling of drug diffusion through swellable polymeric systems. *J Memb Sci.* 1980;7(3):241-253. doi:10.1016/S0376-7388(00)80471-8
 80. Patel VF, Patel NM. Statistical Evaluation of Influence of Xanthan Gum and Guar Gum Blends on Dipyridamole Release from Floating Matrix Tablets. *Drug Dev Ind Pharm.* 2007;33(3):327-334. doi:10.1080/03639040601050155
 81. Kumar V, Banker GS. Chemically-modified cellulosic polymers. *Drug Development and Industrial Pharmacy.* 1993;19(1&2):1-31.
 82. Vueba ML, Batista de Carvalho LAE, Veiga F, Sousa JJ, Pina ME. Influence of cellulose ether polymers on ketoprofen release from hydrophilic matrix tablets. *Eur J Pharm Biopharm.* 2004;58(1):51-59. doi:10.1016/j.ejpb.2004.03.006
 83. Srivastava AK, Wadhwa S, Ridhurkar D, Mishra B. Oral Sustained Delivery of Atenolol from Floating Matrix Tablets - Formulation and In Vitro Evaluation. *Drug Dev Ind Pharm.* 2005;31(4):367-374. doi:10.1081/DDC-200054313

84. Mughal MA, Iqbal Z, Neau SH. Guar Gum, Xanthan Gum, and HPMC Can Define Release Mechanisms and Sustain Release of Propranolol Hydrochloride. *AAPS PharmSciTech*. 2011;12(1):77-87. doi:10.1208/s12249-010-9570-1
85. Khullar P, Khar RK, Agarwal SP. Evaluation of Guar Gum in the Preparation of Sustained-Release Matrix Tablets. *Drug Dev Ind Pharm*. 1998;24(11):1095-1099. doi:10.3109/03639049809089955
86. Sriamornsak P, Thirawong N, Korkerd K. Swelling, erosion and release behavior of alginate-based matrix tablets. *Eur J Pharm Biopharm*. 2007;66(3):435-450. doi:10.1016/j.ejpb.2006.12.003
87. Thombare N, Jha U, Mishra S, Siddiqui MZ. Guar gum as a promising starting material for diverse applications: A review. *Int J Biol Macromol*. 2016;88:361-372. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.04.001
88. Maad AH, Ali Shayoub ME-H, Elnima EI, Osman Z, F. Magbool F. Formulation and Evaluation of Colon Targeted Matrix Tablets Containing Extract of *Solenostemma Argel* (Hargel). *Univers J Pharm Res*. 2019;4(4):35-40. doi:10.22270/ujpr.v4i4.297
89. Yamsani MR, Reddy S, Katakam V, Somagoni JM, Panakanti P, Dharani S. Effect of polymers on in-vitro performance of eplerenone sustained release matrix tablets. *Arch Pharm Pract*. 2012;3(3):223-228. doi:10.4103/2045-080X.116604