

UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE



**Studium adsorpce léčiv na mesoporézní silikáty**

Study of drug adsorption on mesoporous silicates

DIPLOMOVÁ PRÁCE

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

Hradec Králové 2024

Aneta Kosová

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že tato diplomová práce je mým původním autorským dílem.

Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové dne:

Aneta Kosová

### **Poděkování**

Ráda bych poděkovala doc. PharmDr. Barboře Vraníkové, PhD. za odborné vedení, užitečné rady, připomínky a věnovaný čas, které mi poskytla při vypracování této diplomové práce. Mé poděkování rovněž patří doktorandce Noemi Frigole Verhein za cenné konzultace a asistenci během laboratorních experimentů. Vpracování diplomové práce bylo podpořeno z projektu GAUK č. 126324 „Za bližším poznáním interakcí mezi silikáty a léčivy v průběhu procesu jejich uvolňování do simulovaných médií“. Nakonec bych chtěla poděkovat své rodině za neustálou podporu.

# Obsah

1	ABSTRAKT .....	5
2	ABSTRACT .....	6
3	CÍL PRÁCE .....	7
4	SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	8
5	ÚVOD .....	9
6	TEORETICKÁ ČÁST .....	10
6.1	<i>Mesoporézní silikáty</i> .....	10
6.1.1	Charakteristika mesoporézních silikátů .....	10
6.1.2	Biokompatibilita a toxicita mesoporézních silikátů .....	12
6.1.3	Interakce mezi silikáty a léčivy .....	13
6.1.4	Využití mesoporézních silikátů .....	15
6.2	<i>Nanášení léčiva na MS</i> .....	18
6.3	<i>Kyselina Flufenamová</i> .....	19
6.3.1	Charakteristika .....	19
6.3.2	Interakce FFA s MS.....	20
7	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	21
7.1	<i>Použité přístroje a zařízení</i> .....	21
7.2	<i>Použité suroviny</i> .....	22
7.3	<i>Použité metody</i> .....	23
7.3.1	Příprava fosfátového pufu .....	23
7.3.2	Příprava biorelevantních médií .....	23
7.3.3	Stanovení rozpustnosti kyseliny flufenamové.....	25
7.3.4	Teoretické množství FFA potřebné pro vytvoření monovrstvy.....	25
7.3.5	Stanovení míry readsorpce kyseliny flufenamové na Neusilin® US2 a Aeroperl® 300 Pharma .....	26
7.3.6	Freundlichova a Langmuirova adsorpční izoterma.....	27
7.3.7	Vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC).....	28
8	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	28
8.1	<i>Stanovení rozpustnosti FFA</i> .....	28
8.1.1	Teoretické množství FFA potřebné pro vytvoření monovrstvy.....	30
8.2	<i>Vliv typu a množství mesoporézních silikátů na proces adsorpce</i> .....	30
8.2.1	Prostředí o pH 5,5 .....	30
8.2.2	Prostředí o pH 6 .....	34
8.2.3	Prostředí o pH 6,8 .....	36
8.2.4	Hodnocení adsorpčního chování léčiv .....	42
9	ZÁVĚR.....	50
10	POUŽITÁ LITERATURA.....	52

# 1 ABSTRAKT

**Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

**Katedra:** Katedra farmaceutické technologie

**Školitel:** doc. PharmDr. Barbora Vraníková, PhD.

**Konzultant:** Noemi Frigola Verhein

**Posluchač:** Aneta Kosová

**Název diplomové práce:** Studium adsorpce léčiv na mesoporézní silikáty

Tato diplomová práce se zaměřuje na studium vlivu typu mesoporézního silikátového nosiče a pH prostředí na proces readsorpce kyseliny flufenamové (FFA), modelového ve vodě špatně rozpustného léčiva, na mesoporézní silikáty (MS). Výzkum byl prováděn za použití dvou typů MS, Neusilin<sup>®</sup> US2 (NUS2) a Aeroperl<sup>®</sup> 300 Pharma, v různých množstvích (5 mg a 50 mg), a v prostředí s různou hodnotou pH (5,5; 6,0 a 6,8). K charakterizaci adsorpčního chování FFA na nosičích byly využity adsorpční izotermy, konkrétně Freundlichův a Langmuirův model. Experimenty ukázaly, že při všech testovaných pH byla míra readsorpce FFA na nosičích závislá především na iniciační koncentraci léčiva, zatímco množství použitého nosiče nemělo na míru adsorpce výrazný vliv. Nejvyšší míra adsorpce FFA byla pozorována při nižších hodnotách pH (5,5), což pravděpodobně souvisí s nižší rozpustností FFA v těchto podmínkách a vyšší afinitou léčiva k nosičům. Naopak při pH 6,8 byla adsorpce nejnižší, pravděpodobně kvůli ionizaci FFA, která snižuje její interakci s povrchy nosičů. Získané výsledky potvrzují význam vlivu pH a vlastností MS na adsorpci špatně rozpustných léčiv, což může být cenné pro optimalizaci vývoje léčiv s využitím pokročilých lékových systémů na bázi mesoporézních silikátů.

## 2 ABSTRACT

**Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové**

**Department of:** Pharmaceutical Technology

**Mentor:** doc. PharmDr. Barbora Vraníková, PhD.

**Consultant:** Noemi Frigola Verhein

**Student:** Aneta Kosová

**Title of Thesis:** Study of drug adsorption on mesoporous silicates

This thesis focuses on the study of the effect of mesoporous silicate carrier type and environmental pH on the readsorption process of flufenamic acid (FFA), a model poorly water-soluble drug, on mesoporous silicates (MS). The study was carried out using two types of MS, Neusilin<sup>®</sup> US2 (NUS2) and Aeroperl<sup>®</sup> 300 Pharma, in different amounts (5 mg and 50 mg), and in different pH environments (5.5, 6.0 and 6.8). Adsorption isotherms, specifically the Freundlich and Langmuir models, were used to characterize the adsorption behavior of FFA on the carriers. The experiments showed that at all pHs tested, the extent of FFA readsorption on the carriers was mainly dependent on the initiation concentration of the drug, while the amount of used carrier showed only insignificant effect. The highest FFA adsorption was observed at lower pH values (5.5), which is probably related to the lower solubility of FFA under these conditions and the higher affinity of the drug for the carriers. On the contrary, at pH 6.8, the adsorption was lower, probably due to the ionization of FFA, which reduces its interaction with the carrier surfaces. The obtained results confirm the importance of the effect of pH and MS properties on the adsorption of poorly soluble drugs, which may be valuable for optimizing drug development using drug delivery systems based on mesoporous silicates.

### 3 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo studium míry readsorpce hydrofobní kyseliny flufenamové (FFA) na mesoporézní silikáty (MS). Kyselina flufenamová byla vybrána jako modelové léčivo, protože představuje příklad léčiva špatně rozpustného ve vodě, jejichž farmaceutické zpracování je obecně náročné.

Teoretická část se zaměřuje na podrobný rozbor vlastností MS, jejich biokompatibility (BAV) a toxicity a na mechanismy interakce mezi MS a léčivy. Zároveň pojednává o základních charakteristikách FFA a její možné interakci se silikáty.

Experimentální část práce se pak věnuje studiu rozpustnosti FFA v různých tlumivých roztocích, stanovení teoretického množství FFA nezbytného pro vytvoření monovrstvy na nosiči a určení míry readsorpce FFA na dva mesoporézní nosiče (Neusilin<sup>®</sup> US2 a Aeroperl<sup>®</sup> 300 Pharma). Proces readsorpce léčiva totiž představuje jedno z možných vysvětlení neúplného uvolňování léčiv z lékových systémů na bázi mesoporézních silikátů. Proces readsorpce FFA je studován ve třech pufrech o rozdílném pH (5,5; 6,0 a 6,8), aby se odhalil vliv prostředí na tento děj, za pomoci adsorpčních izoterm.

## 4 SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK

BAV = biologická dostupnost

$C_e$  = koncentrace kyseliny flufenamové v ekvilibriu [ $\mu\text{g/ml}$ ]

$C_i$  = iniciační koncentrace [ $\mu\text{g/ml}$ ]

COX = cyklooxygenáza

FFA = kyselina flufenamová

GIT = gastrointestinální trakt

$K_F$  = Freundlichova konstanta [ $\text{mg/g}$ ] [ $\text{ml/mg}$ ]<sup>1/n</sup>

$K_L$  = Langmuirova konstanta [ $\text{ml/mg}$ ]

$m$  = množství nosiče [g]

MCM-41 = Mobile Composition of Matter-41

MCM-48 = Mobil Composition of Matter- 48

MS = mesoporézní silikát

$n$  = Freundlichova konstanta

NOMS = neuspořádané mesoporézní silikáty

NUS2 = Neusilin<sup>®</sup> US2

OMS = uspořádané mesoporézní silikáty

$Q_a$  = množství kyseliny flufenamové adsorbované v ekvilibriu [ $\text{mg/g}$ ]

$Q_m$  = jednovrstvá adsorpční kapacita nosiče [ $\text{mg/g}$ ]

SBA-15 = Santa Barbara Amorphous-15

TEOS = tetraethoxysilan

$V$  = celkový objem roztoku [ml]



## 5 ÚVOD

Mesoporézní silikáty (MS) si v posledních letech získaly značnou pozornost díky svým jedinečným vlastnostem. Tyto materiály, charakterizované velkým měrným povrchem, upravitelnou velikostí pórů a vysokou chemickou stabilitou, představují slibnou volbu pro mnoho průmyslových odvětví, přičemž významnou roli hrají zejména ve farmaceutickém průmyslu. <sup>(1)</sup> Zde jsou MS využívány jako pomocné látky, a to především jako nosiče pro řízené uvolňování terapeutických účinných látek. Výzkumy prokázaly, že navázání léčiv na povrch MS vede k výraznému zlepšení jejich stability a biologické dostupnosti (BAV). <sup>(2), (3)</sup> Toto zlepšení otevírá nové možnosti pro cílené podávání léčiv, což je klíčové pro efektivní léčbu řady onemocnění. <sup>(4)</sup> Kromě toho se MS osvědčily jako účinné adsorbenty nečistot a toxinů. <sup>(5), (6)</sup> Jedním z hlavních přínosů MS je jejich schopnost zvýšit zdánlivou disoluci ve vodě špatně rozpustných léčiv. Toho dosahují stabilizací amorfní formy léčiva, což je umožněno díky jejich porézní struktuře, která poskytuje velký povrch pro navázání léčiva. <sup>(1)</sup>

MS jsou definované adsorpční kapacitou a selektivitou, která závisí na různých faktorech. Mezi tyto faktory patří typ adsorbované molekuly, teplota, pH prostředí a případná modifikace povrchu MS. Navzdory jejich potenciálu je však jedním z hlavních omezení MS neúplné uvolňování navázaných léčiv. Tento jev byl pozorován v disolučních studiích a představuje výzvu pro další zkoumání. <sup>(7)</sup> Neúplné uvolňování je způsobeno nejen pevnou vazbou mezi MS a léčivem, která brání uvolnění léčiva, ale také procesem readsorpce, kdy se již uvolněné léčivo znovu adsorbuje zpět na povrch MS. Pro pochopení tohoto jevu je zásadní analýza adsorpční izotermy, která popisuje vztah mezi množstvím adsorbovaného léčiva a ekvilibrační koncentrací léčiva v okolním prostředí. Analýza těchto dat umožňuje získat cenné poznatky o vlastnostech povrchu MS a interakcích mezi molekulami léčiv a povrchem MS. <sup>(8)</sup> Tyto poznatky jsou nezbytné pro pochopení mechanismů neúplného uvolňování léčiv a pro vývoj efektivnějších nosičů léčiv na bázi MS.

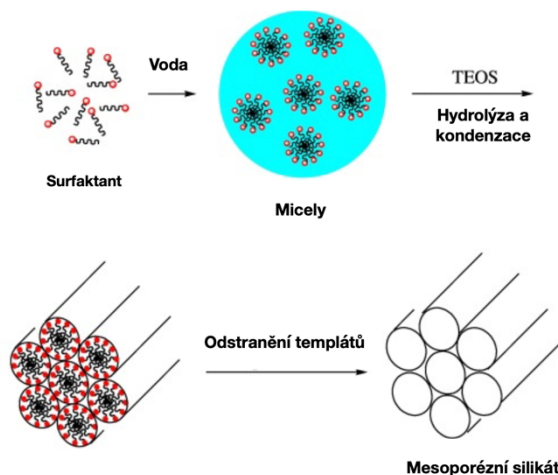
## 6 TEORETICKÁ ČÁST

### 6.1 Mesoporézní silikáty

#### 6.1.1 Charakteristika mesoporézních silikátů

Mesoporézní silikáty (MS) patří mezi anorganické sloučeniny. Jedná se o materiál, který je charakterizován svojí jedinečnou porézní strukturou a velkým specifickým měrným povrchem. Mesoporózní materiály jsou navrženy tak, aby měly velký povrch, který se skládá ze sítě vzájemně propojených pórů o průměrech v rozmezí 2–50 nm.<sup>(9)</sup> MS mají pozoruhodnou schopnost pojmout velké množství léčiva v molekulárním nebo amorfním stavu, což vede ke zvýšení biologické dostupnosti léčiv s nízkou rozpustností ve vodě. Řada odborných prací navíc ukázala, že přizpůsobením struktury, povrchových vlastností a velikosti pórů MS je možné vylepšit kinetiku uvolňování léčiv, což nabízí příležitosti pro formulaci pokročilých lékových systémů.<sup>(4), (2), (10), (11)</sup>

Dle rozsahu uspořádání pórů můžeme mesoporézní silikáty klasifikovat na uspořádané a neuspořádané.<sup>(3)</sup> Uspořádané mesoporézní (OMS) silikáty jsou syntetizovány s pravidelnou, dobře definovanou strukturou pórů. Syntéza typicky zahrnuje použití povrchově aktivních látek jako templátů pro vytvoření uspořádaných pórů. Klasickým typem syntézy MS jsou hydrolyza a kondenzace prekurzorů oxidu křemičitého, nejčastěji tetraethoxysilanu (TEOS), kolem micelárních templátů, které byly vytvořeny supramolekulárním samsoupořádáním molekul povrchově aktivních látek. Následuje odstranění templátu kalcinací nebo extrakcí rozpouštědlem.<sup>(12), (13)</sup> Příklad syntézy schematicky popisuje **Obrázek 1**. MS se dají připravit v rozdílných velikostech od mikro až po nano rozměry a s velkým povrchem (700–1000 m<sup>2</sup>/g) a objemem pórů (0,6–1 cm<sup>3</sup>/g). Povrchové vlastnosti MS mohou být hydrofilní nebo hydrofobní, dle navázaných silanolových skupin na povrchu MS.<sup>(1)</sup> Díky těmto jedinečným vlastnostem nacházejí uplatnění v různých oblastech, včetně lékových systémů.<sup>(14)</sup> Mezi nejznámější OMS patří MCM-41 a SBA-15, které jsou charakteristické hexagonálním uspořádáním mesopórů, a MCM-48 s kubickým uspořádáním.<sup>(15)</sup>



**Obrázek 1** – Schématické zobrazení syntézy uspořádaných MS<sup>(1)</sup>

Neuspořádané silikáty (NOMS), též nazývané také jako amorfní, mohou být syntetizované různými metodami, které neprodukují vysoko organizované periodické struktury charakteristické pro uspořádané mesoporézní materiály jako výše zmíněné MCM-41 nebo SBA-15. Výhodou NOMS je úspora financí při jejich výrobě, díky možnosti vynechat některá drahá činidla používaná při výrobě OMS.<sup>(16)</sup>

Mezi nejpoužívanější NOMS patří Neusilin<sup>®</sup>. Jedná se o syntetický magnezium aluminometasilikát, běžně používaný jako pomocná látka ve farmacii pro své vynikající absorpční a adsorpční vlastnosti<sup>(17), (18)</sup> V současné době se rozlišují čtyři typy Neusilinu<sup>®</sup>. Jedná se o alkalické typy Neusilin<sup>®</sup> S1 (NS1) a Neusilin<sup>®</sup> S2 (NS2), které se vyznačují menším adsorpčním povrchem než neutrální typy Neusilin<sup>®</sup> US2 (NUS2) a Neusilin<sup>®</sup> UFL2 (NUFL2). Poslední zmíněný typ NUFL2 disponuje nejmenší velikostí částic, jelikož se vyskytuje ve formě prášku, zatímco ostatní zmíněné typy jsou dostupné ve formě granulátu. Granulované typy Neusilinu<sup>®</sup> jsou připravovány sprejovým sušením<sup>(19)</sup>, čímž nabývají žádané sférické částice. Nejčastěji používaný NUS2 je charakterizován velkým specifickým povrchem, vysokou absorpční kapacitou, vysokou pórovitostí a dobrými tokovými i lisovacími vlastnosti.<sup>(17), (18), (20)</sup> Na svém povrchu má silanolové skupiny, díky čemuž je potenciálním donorem nebo akceptorem protonů.<sup>(20)</sup> Dalším příkladem neuspořádaného MS je Aeroperl<sup>®</sup> 300 Pharma (dále jako Aeroperl). Jedná se o granulovanou formu koloidního oxidu křemičitého, která se od svých protějšků

z řady Aerosil Pharma odlišuje vyšší hustotou. Aeroperl disponuje sférickým tvarem a malou velikostí částic. <sup>(21)</sup> Stejně jako NUS2 nachází Aeroperl díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem využití v lékových systémech. Jednou z klíčových výhod Aeroperlu je jeho schopnost absorbovat vzdušnou vlhkost. Tato vlastnost z něj činí ideální pomocnou látku pro výrobu různých lékových forem, protože přispívá k dosažení konzistentního a vysoce kvalitního produktu. <sup>(22)</sup> **Tabulka 1** shrnuje vlastnosti NUS2 a Aeroperlu.

*Tabulka 1: Porovnání vlastností Neusilinu<sup>®</sup> US2 a Aeroperlu<sup>®</sup> 300 Pharma <sup>(18), (21), (23)</sup>*

Typ MS	Neusilin <sup>®</sup> US2 (NUS2)	Aeroperl <sup>®</sup> 300 Pharma
<b>Forma</b>	granulát	granulát
<b>Průměrná velikost částic [μm]</b>	106	20-60
<b>Povrch [m<sup>2</sup>/g]</b>	300	260-320
<b>Objem pórů [cm<sup>3</sup>/g]</b>	1,5	1,5-1,9
<b>pH</b>	6-8	3,5-5,5

### 6.1.2 Biokompatibilita a toxicita mesoporézních silikátů

MS jsou obecně považovány za biokompatibilní a vykazují nízkou toxicitu, což z nich činí slibné materiály pro různé biomedicínské aplikace. Má se za to, že jsou MS chemicky inertní a nereagují s biologickými systémy, díky čemuž jsou kompatibilní s živými tkáněmi a buňkami a zároveň kompatibilní s širokou škálou molekul léčiv a pomocných látek. <sup>(23), (24)</sup>

Po zavedení do těla nevyvolávají významné imunitní reakce, což snižuje riziko nežádoucích reakcí. Některé typy MS jsou navrženy tak, aby byly biologicky odbouratelné, což znamená, že mohou být rozloženy na neškodné vedlejší produkty a časem odstraněny z těla. Biodegradabilní MS mají obvykle modifikovaný povrch, který lze rozložit enzymy, jako jsou esterázy nebo proteázy. Toho lze dosáhnout začleněním biologicky odbouratelných spojovacích molekul tzv. linkerů, jako je

polyethylenglykol (PEG) nebo kyselina polymléčná (PLA), do struktury MS. <sup>(25), (26)</sup> Nicméně je nutné dodat, že malá velikost MS (především nanočástic na bázi MS) může vyvolat obavy z jejich potenciální toxicity, zejména pokud jsou schopny pronikat buněčnými membránami. Degradace nanočástic MS může vést k uvolňování iontů oxidu křemičitého, které by mohly potenciálně působit toxicky, jsou-li přítomny ve vysokých koncentracích. Správně navržené MS s vlastnostmi řízené degradace však mohou toto riziko minimalizovat. <sup>(27)</sup>

### **6.1.3 Interakce mezi silikáty a léčivy**

Interakce mezi MS a léčivy jsou mnohostranné a závisí na různých faktorech, jako jsou fyzikálně-chemické vlastnosti silikátu, vlastnosti léčiva a požadovaný způsob podání léčiva. MS mají dva funkční povrchy, a to vnitřní cylindrický, který je tvořený póry, a vnější povrch. <sup>(28)</sup> Z toho vyplývá, že MS mají dvě odlišná rozhraní, každé s vlastními jedinečnými vlastnostmi, která mohou interagovat s molekulami léčiv.

#### **6.1.3.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti mesoporézních silikátů**

MS jsou materiály, které mají specifické fyzikálně-chemické vlastnosti. Tyto vlastnosti ovlivňují mechanismus jejich vazby s léčivy. MS mají velký povrch, a to díky velkému množství mikrokanálek. Toto uspořádání struktury jim umožňuje adsorbovat velké množství látek na svém povrchu i ve struktuře pórů. Velikost pórů může být regulována během syntézy, což přímo ovlivňuje schopnost interakce MS s léčivem. MS se také vyznačují svou vysokou chemickou, termickou a mechanickou stabilitou, což je důležité pro jejich použití v různých lékových formách. <sup>(29)</sup>

Další vlastností, která charakterizuje MS, je vysoká adsorpční kapacita, která je daná jejich velkou povrchovou plochou. Jsou tak schopny efektivně adsorbovat objemné množství rozpuštěných látek. Tyto vlastnosti dělají z mesoporezních silikátů atraktivní materiály pro různé aplikace v oblasti katalýzy, adsorpce, oddělování látek a výzkumu materiálů. <sup>(29)</sup>

### 6.1.3.2 Typy interakcí mezi silikáty a léčivy

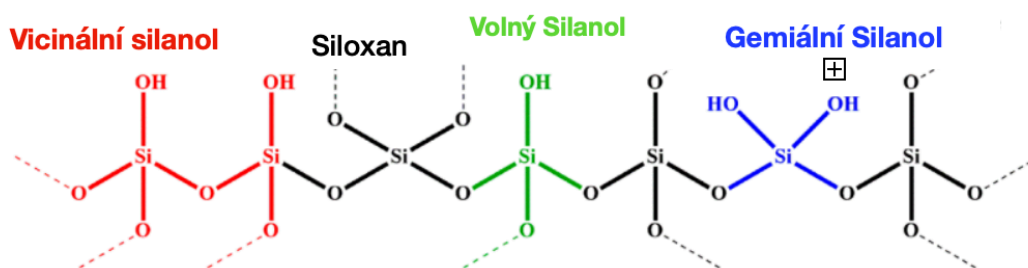
Způsobů, jimiž mohou léčiva s MS interagovat, je několik. Léčivo se vlivem své velikosti buď může zachytit v pórech a navázat se tak na cylindrický povrch silikátu, anebo se může naadsorbovat na vnější povrch silikátu. Proces adsorpce zahrnuje navázání molekul, iontů nebo částic na povrch silikátu. Při kontaktu látky s povrchem MS může dojít k adsorpci fyzikálními nebo chemickými procesy.<sup>(30)</sup>

Fyzikální adsorpci (fyzisorpci) dominují slabé nekovalentní interakce, jako jsou van der Waalsovy síly, vodíkové vazby a elektrostatické vazby. Ty udržují molekuly léčiva na povrchu MS relativně slabými silami, které nemusí přetrvat. Tyto interakce ovlivňuje především povrchový náboj silikátů, který se může měnit v souvislosti s pH prostředí. Slabší interakce poskytují nižší hladiny adsorbovaného léčiva spolu se zrychleným uvolňováním. Pro dosažení prodlouženého uvolňování se používá substituce silanolových skupin, které jsou přítomny na povrchu MS, různými funkčními skupinami. V závislosti na použité funkční skupině tento proces mění izoelektrický bod povrchu nebo zvyšuje hydrofobnost materiálu, obojí přispívá k řízenému nebo místně specifickému uvolňování léčivé látky.<sup>(30)</sup>

U chemické adsorpce (chemisorpce) vznikají mezi adsorbátem a povrchovými funkčními skupinami MS silnější chemické vazby. Tento proces je obvykle nevratný a zahrnuje tvorbu kovalentních vazeb mezi molekulami léčiva a funkčními skupinami na povrchu silikátu nebo silnějších interakcí.<sup>(1)</sup> Kovalentní vazby poskytují stabilní vazbu mezi léčivem a silikátem, která představuje možný důvod pro prodloužené uvolňování a zároveň minimalizaci předčasného uvolnění léčiva. To souvisí také s větší absorpcí léčiva do systému.

Důležitým prvkem u procesu adsorpce je struktura povrchu MS. Stěny pórů MS vykazují neuspořádanou síť siloxanových (Si-O-Si) skupin a volných silanolových (Si-OH) skupin, které slouží jako potenciální reaktivní místa pro vhodné hostující molekuly.<sup>(31)</sup> Vyšší podíl siloxanů činí materiál hydrofobnějším, zatímco silanoly udělují hydrofilitu tím, že působí jako donory i akceptory vodíkových vazeb.<sup>(1)</sup> Vodíková vazba je nejběžnější interakcí mezi molekulami léčiva a povrchem silikátu. Tyto relativně slabé interakce mohou být snadno narušeny v přítomnosti vody, což usnadňuje rychlé uvolňování začleněného léčiva z pórů nosiče prostřednictvím difúze,

což vede k tvorbě přesycených roztoků a zvyšuje BAV léčiva. Silanoly s izolovanými hydroxylovými skupinami vykazují zvýšenou reaktivitu a vytvářejí silnější vazbu s léčivem, na rozdíl od silanolů s geminálními nebo vicinálními hydroxylovými skupinami. <sup>(30)</sup> **Obrázek 2** zobrazuje různé typy silanolů.



**Obrázek 2:** Různé typy silanolů vyskytujících se na povrchu mesoporézních silikátů <sup>(32)</sup>

Na druhou stranu nevýhodou těchto interakcí, které poskytují silné vazby, a tím zachycují léčivo v póru, je, že brání uvolňování léčiva, a vedou tak k tzv. neúplnému uvolňování léčiva. K tomuto jevu dochází tehdy, když se molekula léčiva nedokáže plně disociovat z povrchu MS, což vede k tomu, že se do okolního prostředí uvolňuje menší množství volného léčiva. Toto neúplné uvolňování může mít významné důsledky pro účinnost léčiva, protože může vést ke snížení BAV a v konečném důsledku ke snížení účinnosti. K neúplnému uvolňování léčiva může docházet také prostřednictvím procesu readsorpce, kdy se již uvolněné léčivo váže zpět na materiál MS a účinně se znovu adsorbuje na povrch. K tomu může dojít v důsledku různých faktorů, včetně hydrofobní povahy materiálu MS, který může přitahovat lipofilní molekuly léčiva, nebo přítomnosti již výše zmíněných funkčních skupin na povrchu. <sup>(30)</sup>

#### 6.1.4 Využití mesoporézních silikátů

MS mají široké využití v různých odvětvích, především díky svým jedinečným vlastnostem. Tyto vlastnosti lze vylepšit úpravou podmínek syntézy, jako je výběr povrchově aktivní látky, katalyzátoru či rozpouštědla. <sup>(1)</sup> Původně byly MS vyvinuty jako molekulová síta, katalyzátory a nosiče organokovových sloučenin. Ve farmaceutické technologii byly mesoporézní křemičité materiály použity k vývoji

systemů s řízeným uvolňováním léčiv pro řadu terapeuticky účinných látek, např.: ibuprofenu <sup>(31)</sup> či kaptoprilu. <sup>(33)</sup>

Řízeného uvolňování léčiva se dosahuje především vazbou léčiva na silanové skupiny v pórech MS <sup>(23)</sup>, přičemž významnou roli při modulaci kinetiky uvolňování hraje také velikost pórů. <sup>(34)</sup> Kromě aplikací ve farmaceutické technologii byly MS zkoumány také z hlediska jejich možného využití při odstraňování znečišťujících látek z ovzduší a podzemních vod. <sup>(5), (6), (35)</sup>

#### **6.1.4.1 Mesoporézní silikáty jako nástroj pro odstraňování těžkých kovů a zachycování CO<sub>2</sub>**

MS byly zkoumány jako slibný materiál pro odstraňování iontů těžkých kovů z kontaminované vody. Vlastnosti MS (velký povrch, velký objem pórů) z něj činí účinný adsorbent pro odstraňování iontů těžkých kovů, jako je olovo, rtuť a kadmium. <sup>(5), (6)</sup> Kromě toho se ukázalo, že MS jsou účinné při zachycování CO<sub>2</sub> prostřednictvím výše zmíněného procesu chemisorpce, kdy molekuly CO<sub>2</sub> reagují s povrchovými funkčními skupinami za vzniku stabilního komplexu. <sup>(35)</sup> Funkcionalizace povrchu MS specifickými skupinami, jako je amin nebo thiol, může dále zvýšit jeho adsorpční kapacitu. <sup>(36), (37)</sup> Tento přístup byl navržen jako potenciální metoda pro zachycování CO<sub>2</sub> z emisí elektráren po jejich spálení s potenciálem snížit emise skleníkových plynů a zmírnit změnu klimatu. <sup>(38)</sup>

#### **6.1.4.2 Zvýšení rozpustnosti léčiv pomocí MS**

Léčiva BCS třídy II se vyznačují nízkou rozpustností ve vodných roztocích, což může omezovat jejich absorpci a biologickou dostupnost. To je často způsobeno přítomností hydrofobních nebo lipofilních skupin v molekule, které mohou vést k agregaci a vysrážení ve vodě. V důsledku toho mohou tato léčiva vyžadovat vysoké dávky nebo složité formulace k dosažení adekvátních terapeutických hladin, což může zvýšit riziko nežádoucích účinků. Jedním ze způsobů, jak se těmto nežádoucím účinkům vyhnout a zvýšit tak biologickou dostupnost špatně rozpustných léčiv, je použití MS jako nosičů.



Struktura MS disponuje velkým povrchem pro adsorpci, malou velikostí pórů a vysokou pórovitostí, což poskytuje ideální prostředí pro začlenění léčiv špatně rozpustných ve vodě a MS tak mohou být použity jako nosiče pro kontrolované uvolňování léčiv. <sup>(39)</sup>, <sup>(40)</sup>, <sup>(41)</sup> Velký povrch a objem pórů umožňují účinné nanášení léčiva, zatímco rozdílná velikost pórů nabízí různou kinetiku uvolňování, čímž se zvyšuje účinnost léčiva (zvyšuje se BAV) a snižují se vedlejší účinky. <sup>(34)</sup> Velký povrch a objem pórů MS zároveň poskytuje dostatek vazebných míst pro molekuly léčiva, ke kterým se mohou připojit, což umožňuje účinné nanášení.

Nanášení léčiva na MS probíhá již výše zmíněnými procesy fyzisorpce, chemisorpce nebo uzavřením léčiva v pórech. Mechanismus nanášení závisí, stejně jako samotné interakce, na faktorech, jako jsou fyzikálně-chemické vlastnosti molekul léčiva (např. velikost, polarita, rozpustnost), povrchové vlastnosti MS (např. velikost pórů, chemie povrchu) a podmínky nanášení (např. pH, teplota). <sup>(30)</sup>, <sup>(42)</sup> Malá velikost pórů MS omezuje pohyb molekul léčiva uvnitř pórů, čímž zabraňuje jejich agregaci a srážení. Toto omezení vede k vysoce dispergovanému stavu, kdy jsou molekuly léčiva rovnoměrně rozmístěny v pórech, místo aby vytvářely velké agregáty. <sup>(43)</sup> Zároveň toto ohraničení v pórech zabraňuje krystalizaci molekuly léčiva a udržuje ji v amorfním stavu, který obvykle vykazuje vyšší rozpustnost ve srovnání se svým krystalickým protějškem. Z tohoto důvodu se amorfizace ukázala jako účinná strategie pro zvýšení rozpustnosti a rychlosti rozpouštění léčiv dle BCS třídy II. <sup>(44)</sup>, <sup>(45)</sup> Kombinace amorfního stavu naneseného léčiva na MS a uzavření léčiva v pórech umožňuje během uvolňování léčiva vznik supersaturovaného roztoku, který je charakterizován koncentrací léčiva, která je vyšší, než by se očekávalo na základě jeho rozpustnosti. Tato zvýšená koncentrace léčiva v roztoku vede ke zlepšení biologické dostupnosti, protože pro absorpci je k dispozici více molekul léčiva, a zároveň léčivo v supersaturovaném roztoku vykazuje vyšší rozpustnost, protože více molekul léčiva může interagovat s okolní vodou a dalšími rozpouštědly. <sup>(46)</sup>

Rozpustnost léčiva může dále ovlivňovat povrchová modifikace MS. Ta může zlepšit jeho adsorpční vlastnosti zavedením funkčních skupin, které zvyšují afinitu ke specifickým adsorbátům. Techniky modifikace povrchu zahrnují kovalentní připojení organických nebo anorganických částí, jako jsou aminoskupiny či karboxylové skupiny, na povrch MS nebo potahování MS polymery, čímž se změní jeho

hydrofobní/hydrofilní vlastnosti, a následně se také zlepší kompatibilita mezi MS a léčivem a rozpustnost léčiva. <sup>(47), (48)</sup>

MS modifikovaný thiolovými skupinami byl použit například jako nosič doxorubicinu pro léčbu rakoviny. Bylo zjištěno, že doxorubicin v kombinaci s modifikovaným MS vykazoval vyšší cytotoxicitu vůči rakovinovým buňkám a indukoval efektivnější apoptózu než v případě čistého léčiva nebo jeho kombinaci se standardním MS. <sup>(4)</sup>

## 6.2 Nanášení léčiva na MS

V průběhu let bylo vyvinuto několik metod nanášení léčiv na MS. Tyto metody můžeme rozdělit na metody bez využití rozpouštědel a metody založené na použití rozpouštědel. Metody bez použití rozpouštědel zahrnují míchaní MS s léčivem s následným zahříváním za účelem roztavení léčiva či použití tzv. superkritických kapalin. Tyto kapaliny vznikají za speciálních termo-fyzikálních podmínek, při kterých nabydou schopnost pronikat látkami jako plyn a rozpouštět je jako kapalina.

Nejpoužívanější superkritickou kapalinou je oxid uhličitý, jelikož je nehořlavý a lze ho pořídit za nízkou cenu. <sup>(49), (50)</sup> Ačkoli metody adsorpce léčiva na MS bez použití rozpouštědel nabízejí zjevné výhody, např. nízký dopad na životní prostředí či absenci požadavků na kontrolu zbytkového rozpouštědla v léčivých přípravcích, jsou nadále zkoumány, aby bylo dosaženo optimální účinnosti nanášení a stability pro termolabilní léčiva. <sup>(51)</sup>

Na druhou stranu přístupy založené na rozpouštědlech nabízejí praktické a jednoduché řešení pro amorfizaci léčiv a jejich následné uzavření do struktury MS. Ty zahrnují prostou dispergaci částic MS v kapalném prostředí obsahujícím léčivo, které je předmětem zájmu. Molekuly léčiva difundují do pórů materiálu MS kapilárním působením nebo molekulární difuzí. Proces adsorpce léčiva na MS může být usnadněn mícháním nebo jemným protřepáváním. V ideálním případě by většina nanášeného léčiva měla být umístěna na vnitřním povrchu MS, který není tak náchylný k vnějšímu prostředí (vlhkost, teplota, světlo) jako vnější povrch MS, a nedochází tak k rekrystalizaci. Další faktor přinášející do metody vysoké riziko rekrystalizace je filtrace, která je její součástí. <sup>(50), (52)</sup> Dalším typem metody adsorpce, která využívá

rozpouštědel je metoda odpařování, která zahrnuje rozpuštění léčiva ve vhodném organickém rozpouštědle následovaném impregnací MS roztokem léčiva. Rozpouštědlo se poté odpaří a molekuly léčiva zůstanou zachyceny v pórech MS. Je vhodné vybrat co nejméně toxické rozpouštědlo, aby nedošlo k případným nežádoucím účinkům vlivem zbytkového rozpouštědla. <sup>(50)</sup> Další alternativou metod adsorpce pomocí rozpouštědel představuje metoda vrstvení, kdy dochází k postupnému nanášení molekul léčiva a doplňkových materiálů na povrch částic MS. Tato metoda umožňuje přesnou kontrolu nad navázkou léčiva a kinetikou jeho uvolňování pomocí změny počtu a složení nanášených vrstev. <sup>(53), (54)</sup> Optimalizace podmínek nanášení na MS, včetně koncentrace léčiva, doby kontaktu a míchání, je nezbytná pro dosažení vysoké účinnosti nanášení a rovnoměrné distribuce molekul léčiva v mesoporézní matici oxidu křemičitého. <sup>(55)</sup>

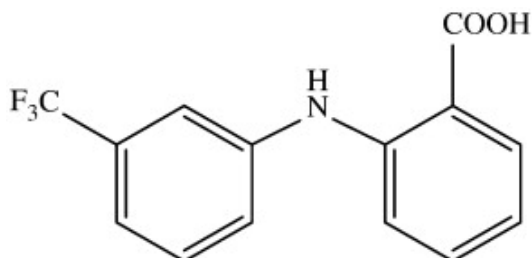
## 6.3 Kyselina Flufenamová

### 6.3.1 Charakteristika

Kyselina flufenamová (FFA), chemicky kyselina N-(a,a,a-trifluor-m-tolyl)anthranilová, je nesteroidní protizánětlivé, analgetické léčivo, které se používá k léčbě zánětu a úlevy od bolesti; typicky ve formě snadno rozpustné sodné soli. <sup>(56)</sup> Patří do skupiny derivátů kyseliny anthranilové (fenamátů). <sup>(57)</sup> Protizánětlivý efekt je dán zejména snížením produkce prostaglandinů z kyseliny arachidonové inhibicí cyklooxygenázy (COX). <sup>(58)</sup> Pro své účinky se FFA používá při muskuloskeletálních a kloubních poruchách a podává se orálně a topicky. <sup>(59)</sup> Avšak pro své nežádoucí účinky na gastrointestinální trakt není FFA hojně využívána. <sup>(60)</sup>

FFA je slabá organická kyselina špatně rozpustná ve vodě s hodnotou pKa 4,09. <sup>(61)</sup> Dle biofarmaceutického klasifikačního systému spadá FFA do BCS třídy II, což znamená, že má nízkou rozpustnost ve vodě, ale vysokou schopnost procházet biologickými membránami. <sup>(62), (63)</sup> V literatuře bylo popsáno sedm polymorfních forem FFA, avšak pouze formy I a III jsou schopny existovat při laboratorní teplotě. Forma I je na pohled bílý prášek, kdežto forma III se jeví jako žlutý prášek. <sup>(64)</sup> Z chemického hlediska obsahuje FFA kyselou karboxylovou funkční skupinu

a trifluormethylový substituent, který zajišťuje její atraktivní chemické a biologické vlastnosti, protože ovlivňuje elektronové a sterické parametry molekuly, což může ovlivňovat farmakokinetiku a biologickou dostupnost. <sup>(65)</sup> Chemická struktura FFA je vidět na **Obrázku č. 3**.



**Obrázek 3:** Kyselina Flufenamová <sup>(66)</sup>

### 6.3.2 Interakce FFA s MS

Povaha vazby mezi FFA s MS může být ovlivněna několika faktory, včetně povrchové chemie, morfologie částic MS a podmínek interakce (například teplota, pH, rozpouštědlo) a zároveň i fyzikálně-chemickými vlastnostmi FFA. Pochopení těchto vlastností je klíčové pro navrhování systémů pro dodávání léčiv na bázi MS pro zlepšené nanášení léčiva, řízené uvolňování a zvýšenou terapeutickou účinnost kyseliny flufenamové a dalších léčiv špatně rozpustných ve vodě. FFA má potenciál navazovat vazby se silanolovými skupinami prostřednictvím kyselé karboxylové funkční skupiny. <sup>(31)</sup>

V závislosti na pH roztoku mohou silanoly vykazovat různé míry protonace vedoucí k pozitivnímu, negativnímu nebo žádnému povrchovému náboji. Bylo prokázáno, že léčiva interagují s povrchem MS buď prostřednictvím elektrostatických interakcí nebo vodíkových vazeb v závislosti na chemii léku a podmínkách pH. <sup>(30)</sup> Aminové modifikace MS lze použít k řízenému uvolňování slabě kyselých léčiv (např. FFA) při podmínkách vyššího pH v důsledku silných elektrostatických interakcí mezi záporně nabitým léčivem a kladně nabitým MS. <sup>(30), (67)</sup>

## **7 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

### **7.1 Použité přístroje a zařízení**

#### **Analytické váhy**

Typ: Entris

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

#### **HPLC sestava**

Typ: 1260 Infinity

Výrobce: Agilent Technologies, USA

#### **pH metr**

Typ: HI 221

Výrobce: Hanna Instruments, USA

#### **Vícebodová magnetická míchačka**

Typ: Cimarec i Poly 15 multipoint

Výrobce: Thermo Fischer Scientific, USA

#### **Vícebodová magnetická míchačka + řídicí jednotka**

Typ míchačky: MIXdrive 15

Typ řídicí jednotky: MIXcontrol eco

Výrobce: 2mag, Německo

#### **Vodní lázeň**

Typ: WNB(WNE) 29

Výrobce: Memmert GmbH + Co. KG, Německo

## 7.2 Použité suroviny

- **Kyselina flufenamová**
  - Výrobce: Biosynth s.r.o., Slovenská republika
  - Význam: modelové léčivo
- **Neusilin® US2**
  - Výrobce: Fuji Chemical Industry Co., Ltd., Japonsko
  - Význam: mesoporézní nosič
- **Prášek pro přípravu biorelevantního média FaSSGF/FaSSIF/FeSSIF**
  - Výrobce: Biorelevant Ltd, Velká Británie
  - Význam: příprava FaSSIF/FaSSGF média
- **Dihydrogenfosforečnan draselný čistý**
  - Výrobce: Penta s.r.o., Chemicals unlimited, Česká republika
  - Význam: příprava fosfátového pufru
- **Hydroxid sodný**
  - Výrobce: Lach-Ner s.r.o., Česká republika
  - Význam: příprava fosfátového pufru
- **Chlorid sodný**
  - Výrobce: Dr. Kulich Pharma, s.r.o., Česká republika
  - Význam: příprava FaSSIF/FaSSGF média
- **Kyselina chlorovodíková 35%**
  - Výrobce: Lach-Ner, s.r.o., Česká republika
  - Význam: korekce pH fosfátového pufru
- **Kyselina octová 99,8%**
  - Výrobce: Penta s.r.o., Chemicals unlimited, Česká republika
  - Význam: příprava mobilní fáze pro HPLC
- **Methanol**
  - Výrobce: Honeywell, Riedel-de Haen, Francie
  - Význam: příprava mobilní fáze pro HPLC
- **Aceton p.a.**
  - Výrobce: Penta s.r.o., Chemicals unlimited, Česká republika
  - Význam: příprava zásobního roztoku FFA

- **Čištěná voda pro HPLC (FaF UK)**
  - Význam: příprava mobilní fáze pro HPLC

### 7.3 Použité metody

#### 7.3.1 Příprava fosfátového pufru

Na přípravu 1000 ml fosfátového pufru se použilo 6,8 g dihydrogenfosforečnanu draselného čistého a 2 g hydroxidu sodného. Každá z navážených surovin se převedla do kádinky a následně bylo přidáno přibližně 250 ml čištěné vody pro HPLC. Po úplném rozpuštění se obsahy obou kádinek smísily a roztok se doplnil čištěnou vodou pro HPLC do celkového objemu 1000 ml. Fosfátový pufr se připravil ve třech různých hodnotách pH, a to 5,5, 6 a 6,8, přidavkem 1 M roztokem kyseliny chlorovodíkové či hydroxidu sodného.

#### 7.3.2 Příprava biorelevantních médií

Testy rozpustnosti probíhaly v prostředí biorelevantního média simulujícího stav žaludku na lačno (FaSSGF, z angl. Fasted State Simulated Gastric Fluid) a také simulované střevní tekutiny nalačno (FaSSIF, z angl. Fasted State Simulated Intestinal fluid), jejichž složení je uvedeno v **Tabulce 2**. Biorelevantní média se od ostatních pufrů odlišují tím, že obsahují komponenty jako trávicí enzymy, lecithin či žlučové kyseliny, které umožňují *in vitro* simulaci podmínek v různých částech trávicího traktu. <sup>(68)</sup>

**Tabulka 2:** Složení biorelevantních médií<sup>(68)</sup>

Složky	FaSSGF	FaSSIF
Taurocholát sodný [mM]	0,08	3
Fosfolipidy [mM]	0,02	0,75
Sodík [mM]	34	148
Chlorid [mM]	59	106
Fosfát [mM]	-	29
<b>Vlastnosti</b>		
pH	1,6	6,5

### 7.3.2.1 Příprava FaSSGF média

Následující postup popisuje přípravu 100 ml biorelevantního média FaSSGF. Příprava se skládala ze dvou kroků. V první fázi se na analytických vahách navážilo 0,1999 g chloridu sodného a kvantitativně se toto množství převedlo do kádinky s přibližně 90 ml čištěné vody. Po úplném rozpuštění chloridu sodného se zkontrolovalo pH vzniklého roztoku pomocí pH metru a upravilo se na hodnotu 1,6 prostřednictvím 1 M roztoku kyseliny chlorovodíkové. Poté se objem pufru v odměrné baňce doplnil čištěnou vodou na 100 ml. V druhé části přípravy se navážilo 0,00597 g práškové směsi FaSSGF a kvantitativně se převedlo do odměrné baňky o objemu 100 ml a doplnilo po rysku připraveným pufrem. Baňka byla poté umístěna na magnetickou míchačku a ponechala se zde až do úplného rozpuštění FaSSGF prášku. Médium FaSSGF bylo možné použít ihned po přípravě. Okamžitě nevyužitě médium se skladovalo za pokojové teploty a podléhalo době spotřeby do 48 hodin.

### 7.3.2.2 Příprava FaSSIF média

Příprava biorelevantního média FaSSIF probíhala obdobně jako příprava média FaSSGF. Na 100 ml média se nejprve na analytických vahách navážilo 0,042 g hydroxidu sodného, 0,447 g dihydrogenfosforečnanu sodného dihydrátu a 0,6186 g chloridu sodného. Všechny tyto komponenty byly následně kvantitativně převedeny do kádinky a bylo přidáno přibližně 90 ml čištěné vody. Kádinka byla umístěna na



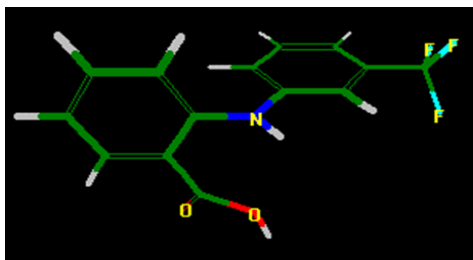
magnetickou míchačku a po úplném rozpuštění se pH metrem ověřilo pH připraveného pufru, které se případně upravilo pomocí 1 M roztoku kyseliny chlorovodíkové či hydroxidu sodného na hodnotu 6,5. Poté se pufr doplnil čistou vodou na objem 100 ml. Ve druhém kroku se navázilo 0,224 g prášku FaSSIF, které se kvantitativně převedlo do odměrné baňky a doplnilo do 100 ml připraveným tlumivým roztokem. Po kompletním rozpuštění prášku se nachystané biorelevantní médium nechalo před použitím alespoň 2 hodiny odstát. Během této doby vznikly micely, které způsobily opalescenci roztoku. Médium se skladovalo při pokojové teplotě a používalo se maximálně po dobu 48 hodin po přípravě.

### 7.3.3 Stanovení rozpustnosti kyseliny flufenamové

Rozpustnost kyseliny flufenamové se stanovovala ve fosfátovém pufru a biorelevantních disolučních médiích (FaSSGF a FaSSIF). Pro stanovení rozpustnosti FFA byl přebytek krystalické FFA přidán do 10 ml výše zmíněných rozpouštědel. Následně se tyto směsi nechaly 24 hodin na magnetické míchačce při pokojové teplotě, aby se dosáhlo ekvilibria. Po 24 hodinách byly odebrány asi 2 ml z jednotlivých vzorků, které se přefiltrovaly přes nesterilní 0,22  $\mu\text{m}$  hydrofilní PTFE stříkačkové filtry (Syringe Filter Avantor by VWR International, Čína), aby se odstranilo přebytečné množství léčiva. Filtrát byl neprodleně naředěn jednotlivými médii do vialek (10  $\mu\text{l}$  roztok léčiva, 990  $\mu\text{l}$  média) a analyzován prostřednictvím HPLC (viz kapitola 7.3.9). Stanovení rozpustnosti bylo provedeno třikrát pro každé rozpouštědlo a ze získaných hodnot byl vypočítán průměr a směrodatné odchylky měření.

### 7.3.4 Teoretické množství FFA potřebné pro vytvoření monovrstvy

Pomocí postupu popsaného ve studii Le a spol.<sup>(51)</sup> bylo vypočteno teoretické množství FFA potřebné pro vytvoření monovrstvy na NUS2 a Aeroperl. Molekulové rozměry FFA (**Obrázek 4**) byly změřeny pro strukturu FFA vytvořenou v chemickém programu (ChemicaElectrica Gateway). Za předpokladu, že větší rozměry (12,93 Å  $\times$  8,18 Å) definují kontaktní plochu mezi FFA a povrchem pórů NUS2/Aeroperlu, a s ohledem na specifický povrch (SSA), lze teoretické množství FFA nezbytné pro vytvoření monovrstvy na povrchu nosiče odhadnout pomocí rovnice 1.



**Obrázek 4:** Struktura kyseliny flufenamové z *ChemicaElectrica Gateway*

$$\left(\% \frac{g}{g}\right) = \frac{SSA \times M_w \times 10^{20}}{SA_M \times N_A} \quad (1)$$

kde SSA je specifický povrch ( $\text{m}^2/\text{g}$ ), konkrétně pro NUS2 =  $363,2 \text{ m}^2/\text{g}$  a Aeroperl =  $237,9 \text{ m}^2/\text{g}$  <sup>(69)</sup>,  $M_w$  je molekulová hmotnost FFA ( $281,23 \text{ g/mol}$ ),  $SA_M$  je maximum kontaktní plochy jednotlivé molekuly ( $105,82 \text{ \AA}^2$ ) vypočítané pomocí dvou největších molekulárních dimenzí molekuly léčiva.

### 7.3.5 Stanovení míry readsorpce kyseliny flufenamové na Neusilin<sup>®</sup> US2 a Aeroperl<sup>®</sup> 300 Pharma

Pro adsorpční experimenty byly jako mesoporézní nosiče použity Neusilin<sup>®</sup> US2 (NUS2) a Aeroperl<sup>®</sup> 300 Pharma. 50 mg nosiče (NUS2 nebo Aeroperl<sup>®</sup> 300 Pharma) se vložilo do uzavíratelných skleněných lahví obsahujících 40 ml fosfátového pufru o pH 6,8. Vzorky se nechaly ekvilibrovat při 300 rpm ve vodní lázni o teplotě  $37 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 60 minut. Po dosažení ekvilibria se přidávalo takové množství zásobního roztoku FFA v methanolu ( $10 \text{ mg/ml}$ ), aby se vytvořily různé koncentrace FFA v roztoku ( $2,5\text{-}25 \text{ ug/ml}$ ) a vzorky byly ponechány ve vodní lázni dalších 60 minut kvůli dosažení rovnováhy. Po této době byly odebrány vzorky (cca 2 ml), které se přefiltrovaly přes membránový filtr ( $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ , PTFE membrána) a následně analyzovaly pomocí HPLC (viz kapitola 7.4.9). Koncentrace FFA byla získána pomocí kalibrační křivky ze získané plochy pod píkem a množství FFA adsorbované v ekvilibriu ( $Q_a$ ) na nosič bylo vypočítáno pomocí následující rovnice:

$$Q_a = \frac{(C_i - C_e)V}{m} \quad (2)$$

kde  $C_i$  je iniciační koncentrace FFA [ $\mu\text{g} / \text{ml}$ ],  $C_e$  je koncentrace FFA v ekvilibriu [ $\mu\text{g} / \text{ml}$ ],  $V$  je celkový objem roztoku [ $\text{ml}$ ], a  $m$  je množství NUS2/Aeroperlu přidanych do roztoku [ $\text{g}$ ].<sup>(7)</sup> Aby se ověřil vliv množství nosiče na míru absorpce, byly experimenty zopakovány stejným postupem také pro nižší množství jednotlivých nosičů nosiče (5 mg).

### 7.3.6 Freundlichova a Langmuirova adsorpční izoterma

K vyhodnocení adsorpčního chování byly použity adsorpční modely podle Freundlicha a Langmuira. Vynesením grafů podle výše zmíněných modelů byla získána hodnota korelačního koeficientu  $R^2$ , podle které lze vybrat, který model nejvíce odpovídá experimentálním výsledkům.<sup>(70)</sup> Lineární formy Langmuirových a Freundlichových rovnic jsou zobrazeny jako rovnice 3 a 4.

$$\frac{1}{Q_a} = \frac{1}{Q_m K_L C_e} + \frac{1}{Q_m} \quad (3)$$

$$\log Q_a = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (4)$$

kde  $Q_a$  je množství FFA adsorbované v ekvilibriu [ $\text{mg} / \text{g}$ ],  $Q_m$  je jednovrstvá adsorpční kapacita NUS2/Aeroperlu [ $\text{mg} / \text{g}$ ],  $C_e$  je koncentrace FFA zbývající v roztoku po dosažení ekvilibria s NUS2/Aeroperlu [ $\mu\text{g} / \text{ml}$ ],  $K_L$  je Langmuirova konstanta [ $\text{ml} / \text{mg}$ ] a  $K_F$  [ $\text{mg} / \text{g}$ ] [ $\text{ml} / \text{mg}$ ]<sup>1/n</sup> a  $n$  jsou Freundlichovy konstanty.<sup>(71)</sup> Langmuirova konstanta  $K_L$  je určena z rovnice grafu  $\frac{1}{Q_a}$  proti  $\frac{1}{C_e}$  na základě lineární regrese, zatímco Freundlichovy konstanty  $K_F$  a  $n$  jsou získány z rovnice grafu  $\log Q_a$  proti  $\log C_e$ .

### 7.3.7 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

HPLC analýza byla provedena prostřednictvím přístroje Agilent HPLC 1260 Infinity System vybaveným analytickou kolonou LiChrospher 100 RP-18 LiChroCART 125-4 (5  $\mu\text{m}$ , 4 mm ID x 125 mm). Mobilní fáze byla složena z methanolu, čištěné vody pro HPLC a kyseliny octové v poměru 80:20:0,5. Rychlost průtoku byla nastavena na 1,35 ml/min, množství vstřikovaného objemu vzorku činilo 50  $\mu\text{l}$ . Délka analýzy byla nastavena na 5 minut, jelikož retenční čas vzorku odpovídal času 2,9 minut. Analýza vzorku byla realizovaná při teplotě 25 °C a vlnová délka UV detekce byla nastavena na 286 nm.

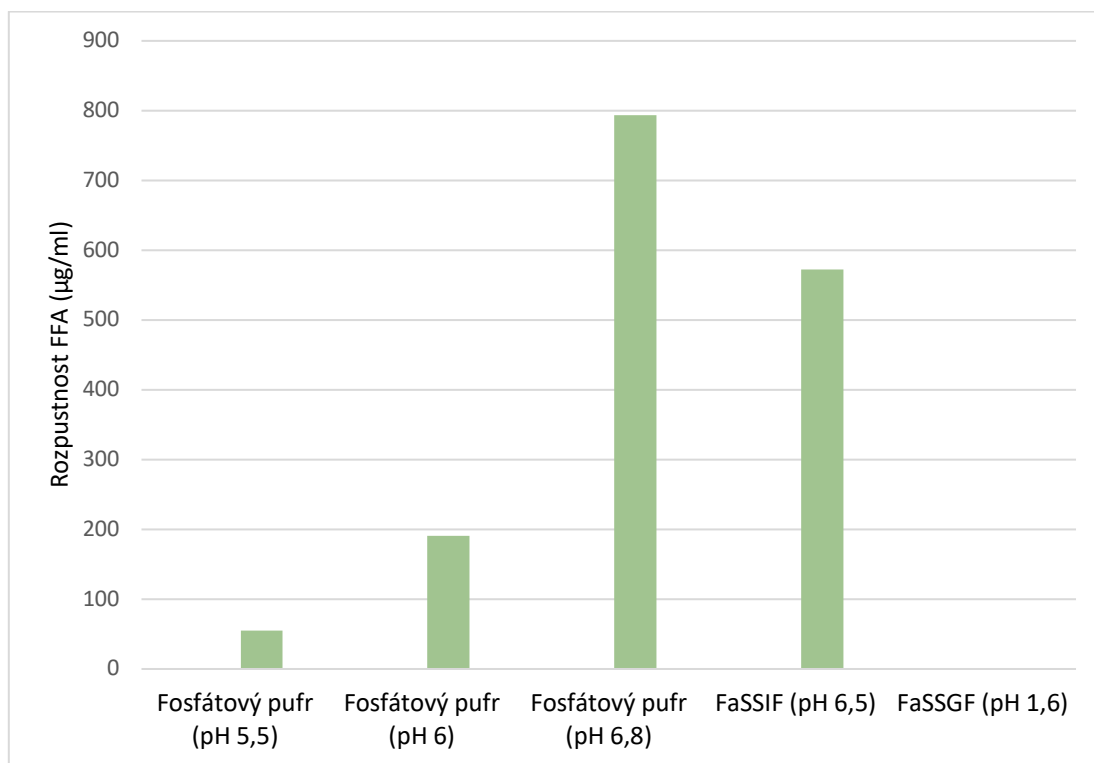
## 8 VÝSLEDKY A DISKUZE

Experimentální část této diplomové práce se zaměřila na studium vlivu množství a typu mesoporézního nosiče a pH prostředí na proces readsorpce kyseliny flufenamové (FFA) jako modelového ve vodě špatně rozpustného léčiva na mesoporézní silikát (MS). Neusilin<sup>®</sup> US2 (NUS2) a Aeroperl<sup>®</sup> 300 Pharma v množství 5 a 50 mg byly použity jako mesoporézní nosiče z řad silikátů. Různá prostředí byla simulována použitím pufrů s různou hodnotou pH. K vyhodnocení adsorpčního chování FFA se použily modely adsorpčních izoterm, konkrétně Freundlichův a Langmuirův model.

### 8.1 Stanovení rozpustnosti FFA

Rozpustnost FFA se stanovila ve třech pufrách o různém pH a dvou biorelevantních médiích. Jelikož je FFA slabá organická kyselina, dá se předpokládat, že se bude snáze rozpouštět v zásaditém prostředí. Tento předpoklad byl, jak ukazuje **Obrázek 5**, potvrzen, jelikož nejvyšší množství FFA se rozpustilo ve fosfátovém pufru o pH 6,8, a to 793,39  $\mu\text{g}$  v 1 ml. Tato hodnota se překvapivě výrazně liší od hodnot publikovaných Maestrellim a spol.<sup>(62)</sup> V této studii byla stanovována rozpustnost dvou polymorfních forem FFA (I a III) při pH 6,8, která se pohybovala v rozmezí 15–17  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Tento rozdíl může být zapříčiněn použitím různé polymorfní formy FFA

či rozdílným složením média, kdy zmíněná studie konkrétní složení použitého pufru neuvádí.



**Obrázek 5:** Porovnání rozpustnosti FFA v jednotlivých rozpouštědlech

Jak je vidět na **Obrázku 5** s klesajícím pH docházelo také k postupnému poklesu rozpustnosti FFA v médiu, přičemž rozpustnost FFA v biorelevantním médiu simulujícím prostředí žaludku na lačno (FaSSGF) s pH 1,6 nebyla kvůli příliš nízké koncentraci modelového léčiva měřitelná. Toto pozorování souvisí s ionizací FFA při vyšších hodnotách pH, což vede k vyšší rozpustnosti. Naopak v prostředí FaSSGF zůstává FFA neionizovaná a téměř nerozpustná, což činí toto médium nevhodným pro další experimenty. Pro následující testování míry reabsorbce nebylo vybráno ani biorelevantní médium simulující prostředí tenkého střeva na lačno (FaSSIF), a to z důvodu obsahu řady dalších komponent<sup>(68)</sup> a zároveň hodnoty pH média, které je blízké pH dříve zmíněného fosfátového pufru.

### 8.1.1 Teoretické množství FFA potřebné pro vytvoření monovrstvy

Před vyhodnocením míry readsorpce FFA na povrch MS se stanovilo teoretické množství FFA potřebné pro vytvoření monovrstvy na povrchu nosiče (rovnice 1). Bylo zjištěno, že teoretické množství FFA potřebné pro vytvoření monovrstvy na NUS2 je 160,29 mg/g nebo 16% w/w a na Aeroperlu 104,99 mg/g nebo 10,5% w/w. Z toho plyne, že NUS2 má vyšší teoretickou kapacitu pro adsorpci FFA ve srovnání s Aeroperlem, což znamená, že NUS2 může teoreticky pojmout větší množství FFA na jednotku hmotnosti. Vyšší adsorpční kapacita NUS2 může být způsobena větší specifickou plochou povrchu nebo větším objemem pórů než jaké poskytuje Aeroperl. (17), (21)

## 8.2 Vliv typu a množství mesoporézních silikátů na proces adsorpce

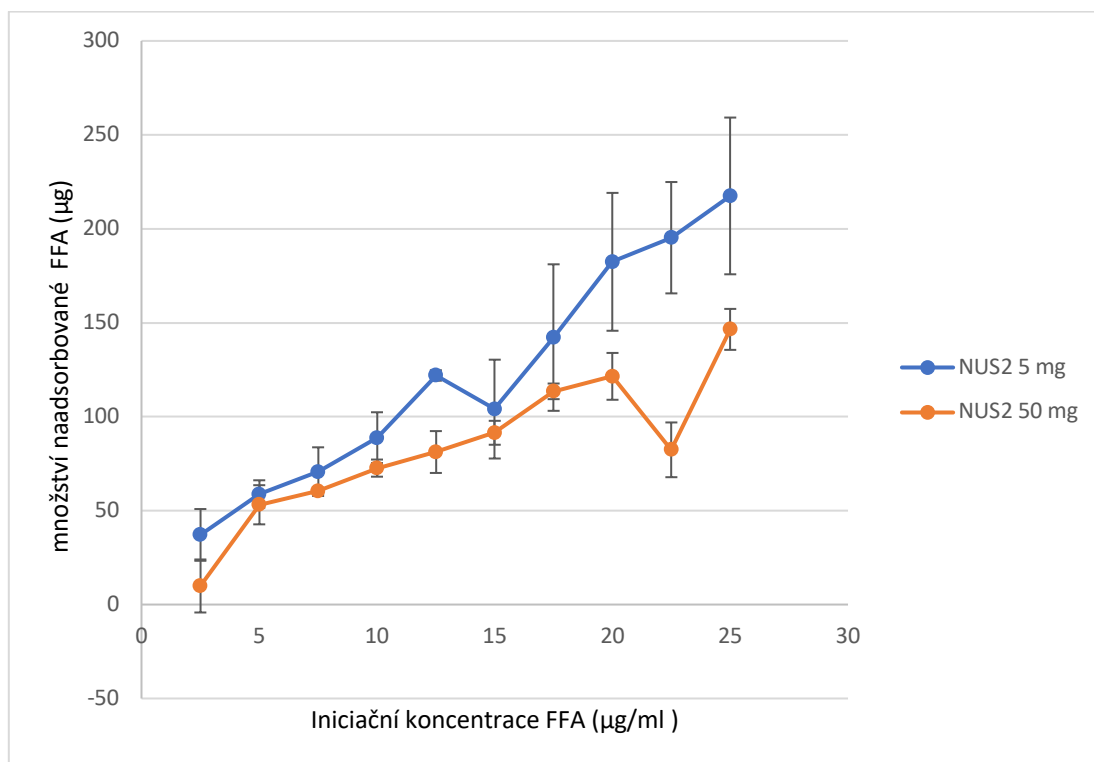
Mesoporézní silikáty se díky své specifické struktuře mesopórů vyznačují značnou absorpční kapacitou, která se s úspěchem využívá v řadě průmyslových odvětví včetně farmacie. <sup>(1)</sup> Jejich vysoká schopnost adsorpce léčiv je však v rámci lékových systémů spojená také s rizikem neúplného uvolnění či readsorpce účinné látky zpět na nosič po podání do gastrointestinálního traktu (GIT). Testování míry readsorpce FFA na MS probíhalo při třech různých hodnotách pH (5,5; 6 a 6,8) z důvodu simulace změn pH v průběhu průchodu formulace GIT. Při různých hodnotách pH je totiž FFA v rozdílných ionizačních stavech, které mohou ovlivňovat míru její readsorpce na nosič. Jak již bylo diskutováno výše, při nižším pH je FFA z větší části v neionizovaném stavu, zatímco při vyšším pH se nachází více ve stavu ionizovaném, což také souvisí s její vyšší rozpustností v prostředí s pH 6,8.

### 8.2.1 Prostředí o pH 5,5

Míra readsorpce FFA na nosič NUS2 je zobrazena na **Obrázku 6**. Z výsledků je patrné, že pro oba vzorky dochází s rostoucí iniciační koncentrací FFA ke zvyšování množství naadsorbované FFA, přičemž dynamika nárůstu se mezi vzorky mírně liší. V případě vzorku NUS2 5 mg je naadsorbované množství FFA v celém rozsahu iniciačních koncentrací mírně vyšší než u vzorku s 50 mg nosiče. Tento rozdíl je obzvláště zřetelný při vyšších iniciačních koncentracích FFA. Nicméně je nutné

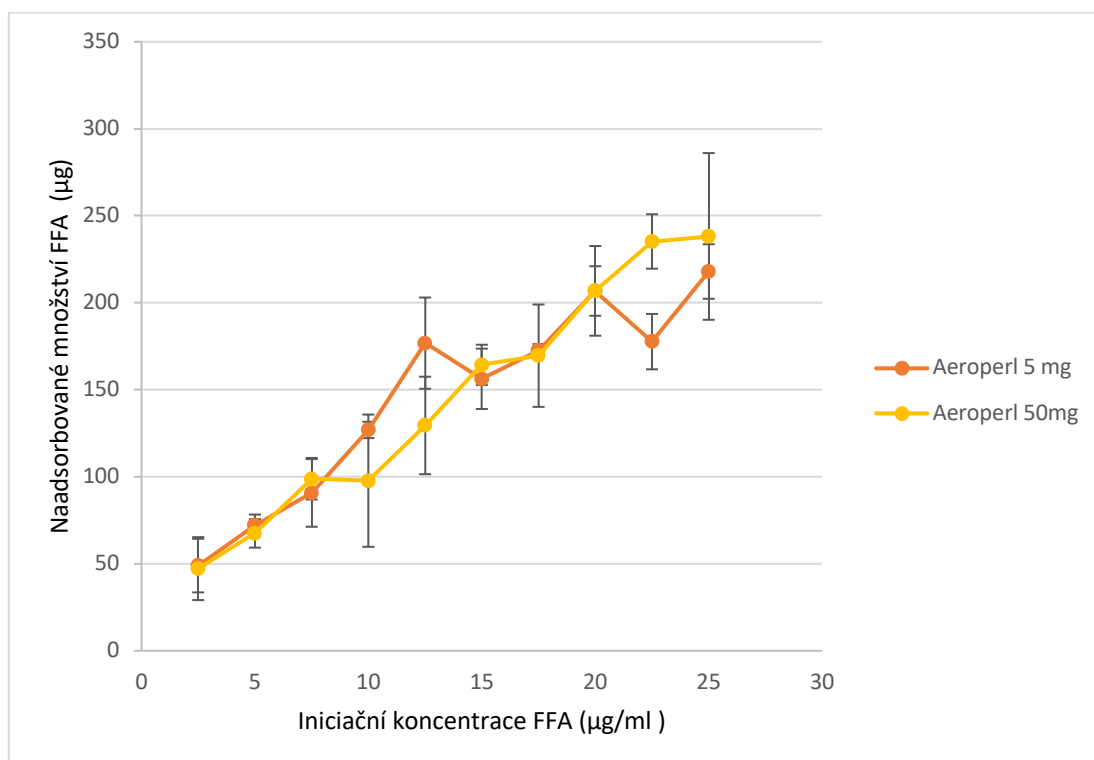
podotknout, že u vyšších iniciačních koncentrací v případě použití nižšího množství nosiče byly zaznamenány vyšší směrodatné odchylky měření, které mohou výrazně ovlivňovat významnost tohoto trendu.

Pozorovaná zvyšující se míra adsorpce léčiva se zvyšující se iniciační koncentrací léčiva v systému je v souladu se studií Denninga a spol. <sup>(7)</sup>, která zkoumala adsorpční chování ve vodě špatně rozpustného léčiva ritonaviru na MS SBA-15. Z výsledků studie vyplynulo, že mezi adsorbovaným léčivem na MS a volným léčivem v roztoku vzniká dynamická adsorpční rovnováha, která může vést k neúplnému uvolňování léčiva. Tento stav, ovlivněný mírou nasycení roztoku, nastává při vyšších koncentracích adsorbátu, tedy při přesycení roztoku. Jedná se o proces dynamický, kdy se molekuly FFA neustále vyměňují mezi povrchem adsorbentu a roztokem až do ustavení rovnováhy (ekvilibria) mezi adsorpčními a desorpčními procesy. Ekvilibrium je závislé na vlastnostech adsorbátu, teplotě, tlaku prostředí a povrchových vlastnostech MS. <sup>(71)</sup> Stejný trend (**Obrázek 6**) byl, jak již bylo zmíněno výše, pozorován i v této práci. To je možné vysvětlit tím, že při vyšší koncentraci FFA je v roztoku více volných molekul látky, které mohou interagovat s povrchem adsorbentu, což vede ke zvýšené adsorpci.



**Obrázek 6:** Závislost množství naadsorbované FFA na iniciační koncentraci FFA pro různé hmotnosti NUS2 při pH 5,5

Výsledky pro mesoporézní nosič Aeroperl jsou zobrazené na **Obrázku 7**. Z grafu je zřejmé, že s rostoucí iniciační koncentrací FFA dochází u obou vzorků opět ke zvyšování množství naadsorbované FFA podobně jako tomu bylo u nosiče NUS2. Obě křivky vykazují podobný trend, ačkoli se v některých bodech mírně liší, což však může být zapříčiněno chybou měření. Výsledky naznačují, že stejně jako v případě NUS2, nemá množství použitého nosiče vliv na míru readsorpce FFA. Naopak míru readsorpce výrazně ovlivňuje iniciační koncentrace modelového léčiva v roztoku, kdy s rostoucím zastoupením FFA v roztoku vzrůstá i naadsorbované množství.

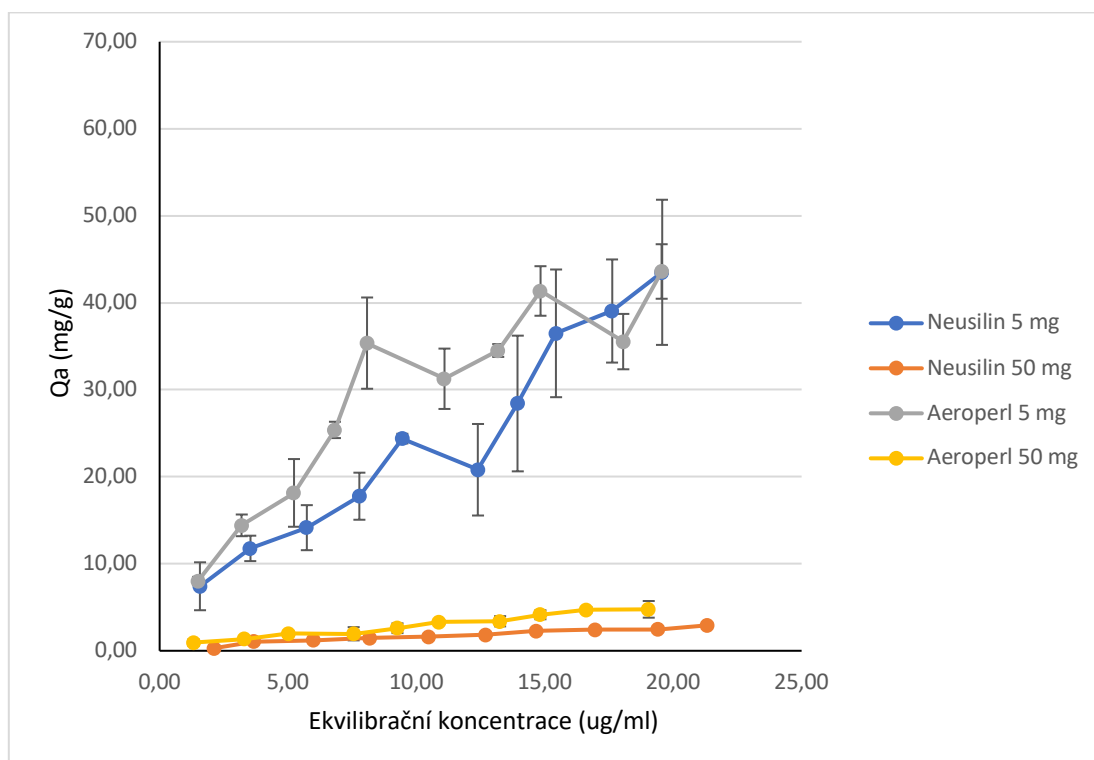


**Obrázek 7:** Závislost naadsorbovaného množství FFA na iniciační koncentraci FFA pro různé hmotnosti Aeroperlu při pH 5,5

Z porovnání **Obrázků 6 a 7** vyplývá, že oba testované nosiče vykazují při pH prostředí 5,5 stejnou míru readsorpce FFA. Maximální naadsorbované množství FFA se v obou případech pohybovalo okolo 220 µg. **Obrázek 8** pak zobrazuje množství FFA adsorbované v ekvilibriu ( $Q_a$ , v mg/g) na různých nosičích v závislosti na ekvilibrační koncentraci FFA (v µg/ml) v médiu o pH 5,5. Při použití 5 mg jednotlivých nosičů byla pozorována rostoucí hodnota  $Q_a$  s rostoucí ekvilibrační koncentrací FFA. 5 mg NUS2 dosahuje maximální adsorpce  $43,50 \pm 8,34$  mg/g,



zatímco 5 mg Aeroperlu vykazuje o něco vyšší hodnotu  $43,59 \pm 3,13$  mg/g. Naopak při použití vyšších množství (50 mg) jednotlivých MS byla zjištěna pouze velmi nízká míra adsorpce FFA, a to  $2,93 \pm 0,22$  mg/g u NUS2 a  $4,76 \pm 0,96$  mg/g u Aeroperlu. Tato výrazně nižší hodnota  $Q_a$  u vyšších množství nosičů je způsobena vztažením naadsorbovaného množství, které je v obou případech srovnatelné, na jednotku hmotnosti nosiče.

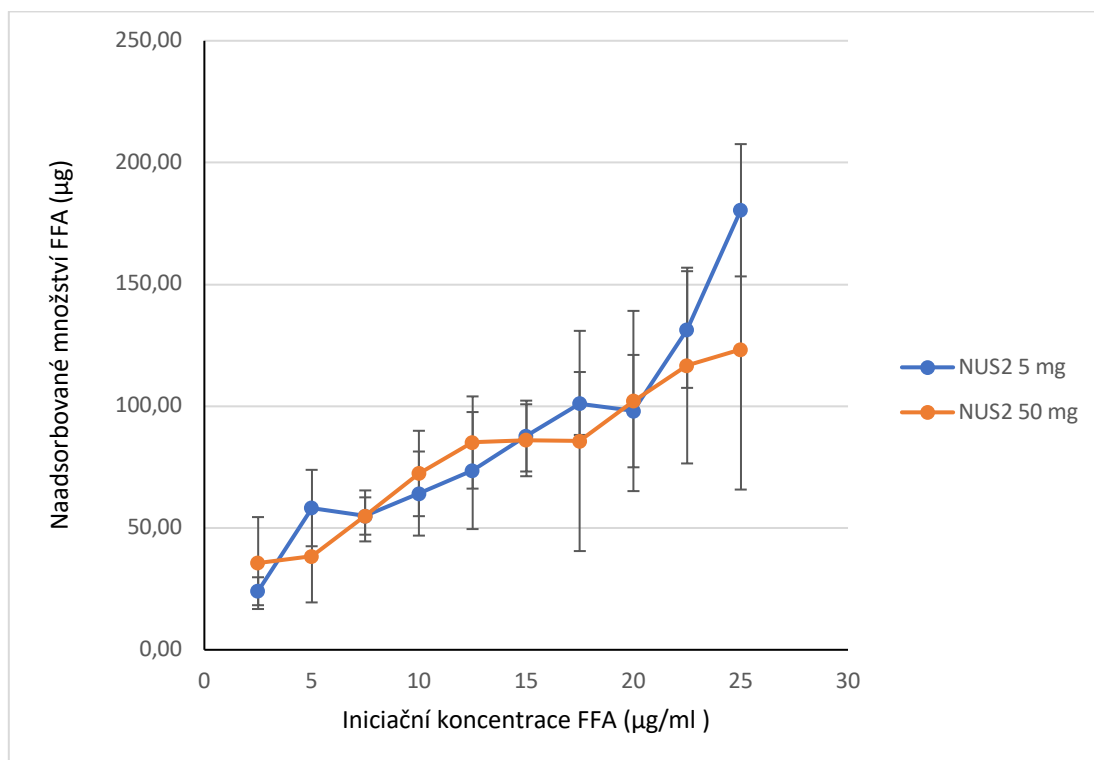


**Obrázek 8:** Vliv ekvilibrační koncentrace na  $Q_a$  pro nosiče NUS2 a Aeroperl v množstvích 5 a 50 mg při pH 5,5

Ani v jednom případě se hodnota  $Q_a$  neblíží zjištěnému teoretickému množství FFA potřebnému pro vytvoření monovrstvy na nosiči (viz kapitola 8.1.1). Z toho je možné usuzovat, že ani na jednom z nosičů nedošlo během readsorpce k vytvoření monovrstvy. **Obrázky 6 a 7** navíc naznačují, že další navýšení iniciační koncentrace by mohlo vést k další adsorpci FFA. Nicméně u vyšších koncentrací blízcích se koncentraci saturované je pak zároveň nezbytné zvážit riziko precipitace FFA v médiu, což může získané výsledky zkreslovat.

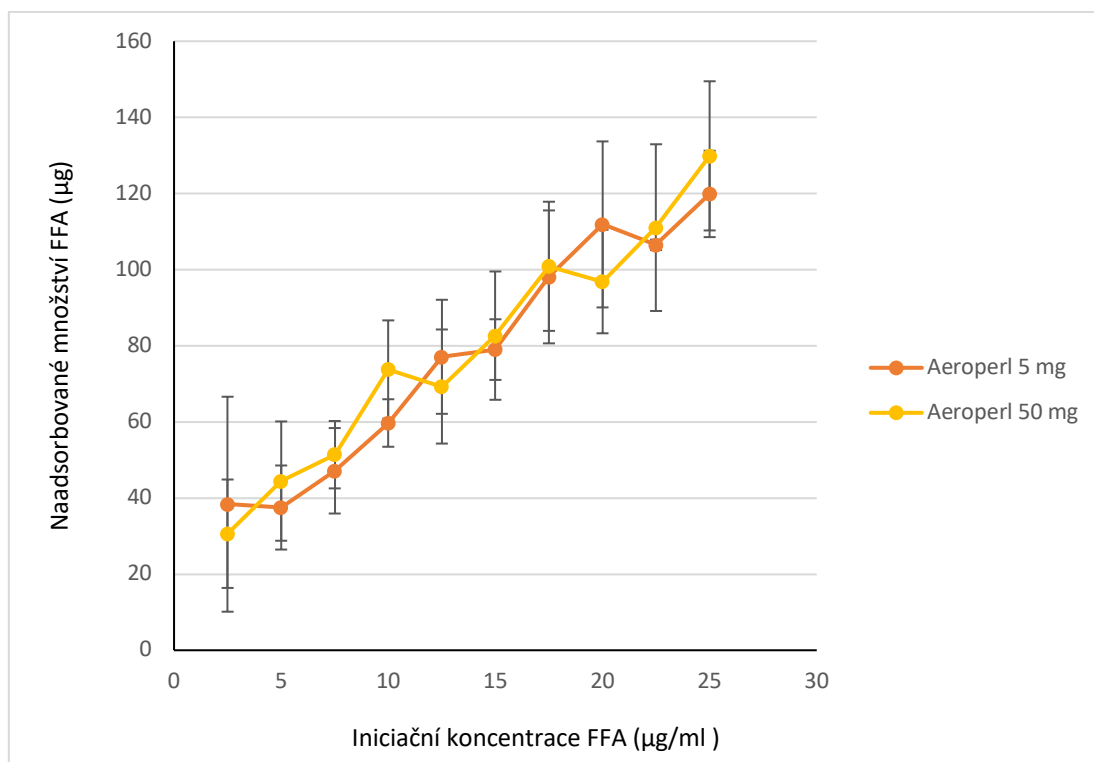
## 8.2.2 Prostředí o pH 6

Na níže uvedených grafech jsou zobrazeny výsledky naadsorbovaného množství FFA na povrch NUS2 a Aeroperlu při pH 6. Na **Obrázku 9** je zobrazena závislost naadsorbovaného množství FFA na iniciační koncentraci pro nosič NUS2. Z grafu vyplývá, že stejně jako v případě pH prostředí 5,5 s rostoucí iniciační koncentrací roste množství naadsorbované FFA. Nejvyšší adsorpce bylo dosaženo při použití množství nosiče 5 mg při nejvyšší iniciační koncentraci, a to až  $180 \pm 27,15$   $\mu\text{g}$  FFA.



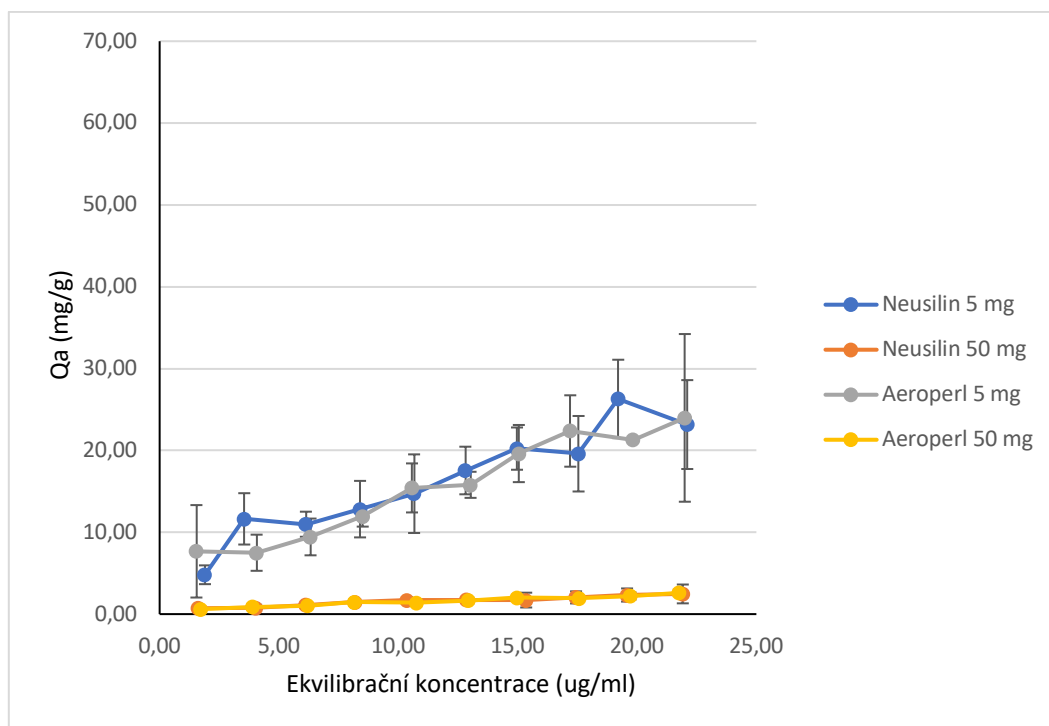
**Obrázek 9:** Závislost naadsorbovaného množství FFA na iniciační koncentraci FFA pro různé hmotnosti NUS2 při pH 6

Na **obrázku 10** jsou zobrazeny výsledky při použití Aeroperlu jako nosiče. Z výsledků je patrné, že s rostoucí iniciační koncentrací se zvyšuje i množství naadsorbované FFA na nosič. Obě křivky mají podobný trend, z čehož je možné usuzovat, že množství použitého nosiče nemá na míru readsorpce vliv. Nejvyšší adsorpce bylo dosaženo při použití 50 mg Aeroperlu a nejvyšší iniciační koncentrace, a to až  $129,89 \pm 19,59$   $\mu\text{g}$  naadsorbované FFA, což je v porovnání s použitím nosiče NUS2 poměrně méně.



**Obrázek 10:** Závislost naadsorbovaného množství FFA na iniciační koncentraci FFA pro různé hmotnosti Aeroperlu při pH 6

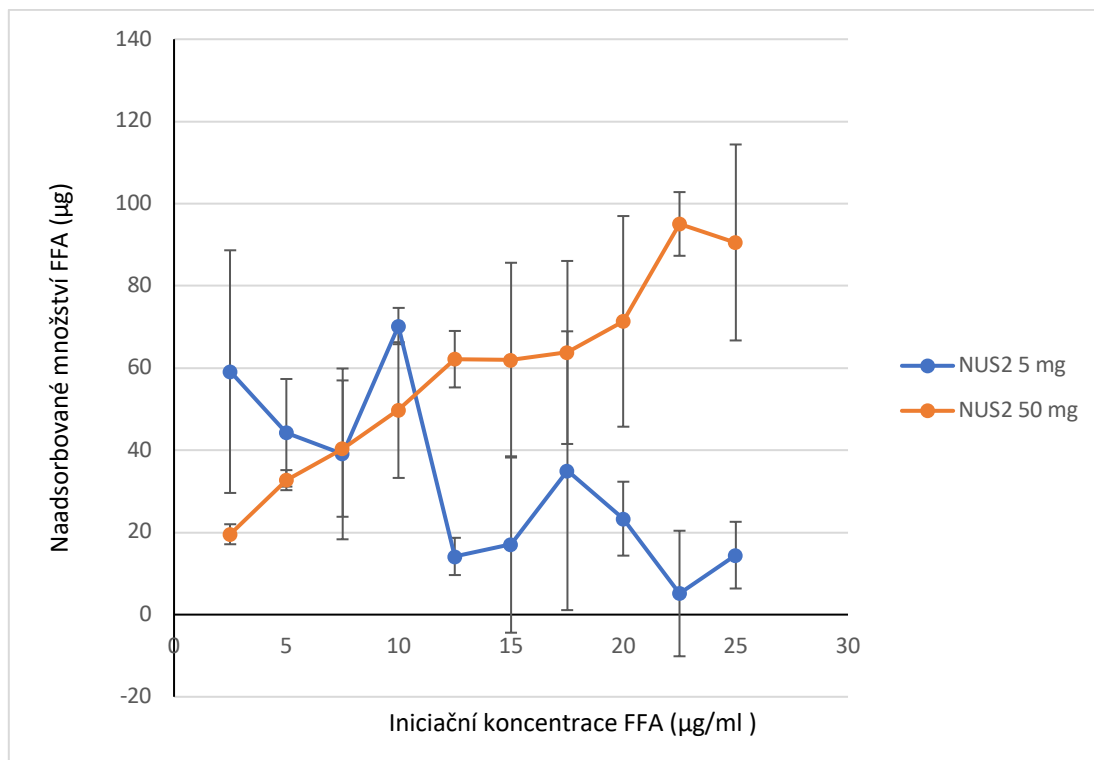
**Obrázek 11** ukazuje míru adsorpce FFA na jednotlivé nosiče v médiu o pH 6 vztaženou na 1 g nosiče. Množství 5 mg jednotlivých MS opět vykazuje vyšší adsorpci ve srovnání s 50 mg. Hodnoty  $Q_a$  u 5 mg NUS2 dosahují maxima  $26,29 \pm 4,79$  mg/g a u 5 mg Aeroperlu  $23,98 \pm 10,24$  mg/g. Nejvyšší množství naadsorbované FFA na 50 mg NUS2 bylo stanoveno na  $2,47 \pm 1,15$  mg/g a na 50 mg Aeroperlu  $2,6 \pm 0,39$  mg/g. Výrazné rozdíly v hodnotách je pak opět možné vysvětlit vztažením naadsorbovaného množství na jednotku hmotnosti nosiče. Stejně jako v případě prostředí o pH 5,5 nebylo u žádného nosiče dosaženo teoreticky stanovených množství FFA pro tvorbu monovrstvy na povrchu nosiče.



**Obrázek 11:** Vliv ekvilibrační koncentrace na  $Q_a$  pro nosiče NUS2 a Aeroperl v množstvích 5 a 50 mg při pH 6

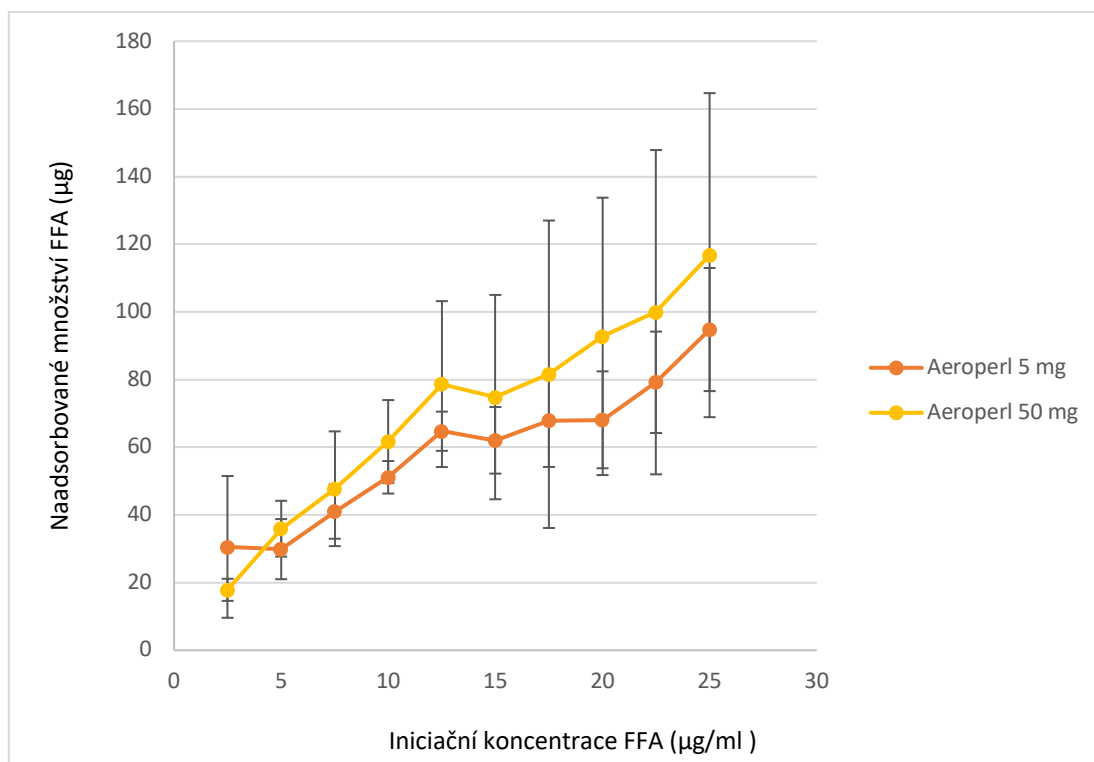
### 8.2.3 Prostředí o pH 6,8

Posledním prostředím použitým pro experimenty byl fosfátový pufr o pH 6,8 běžně používaný během disolucí pro simulaci prostředí tenkého střeva. **Obrázek 12** ukazuje jistou závislost naadsorbovaného množství FFA na množství použitého nosiče NUS2. Z výsledků je pak patrné, že více FFA se naadsorbovalo při použití 50 mg nosiče NUS2, kdy množství naadsorbované FFA stejně jako v předchozích případech rostlo s rostoucí iniciační koncentrací FFA. Nejvyšší hodnoty se dosáhlo při iniciační koncentraci 22,5 µg/ml, a to  $95 \pm 7,75$  µg naadsorbované FFA. Naopak v případě použití 5 mg nosiče NUS2 byl pozorován spíše klesající trend množství naadsorbovaného modelového léčiva se zvyšující se iniciační koncentrací.



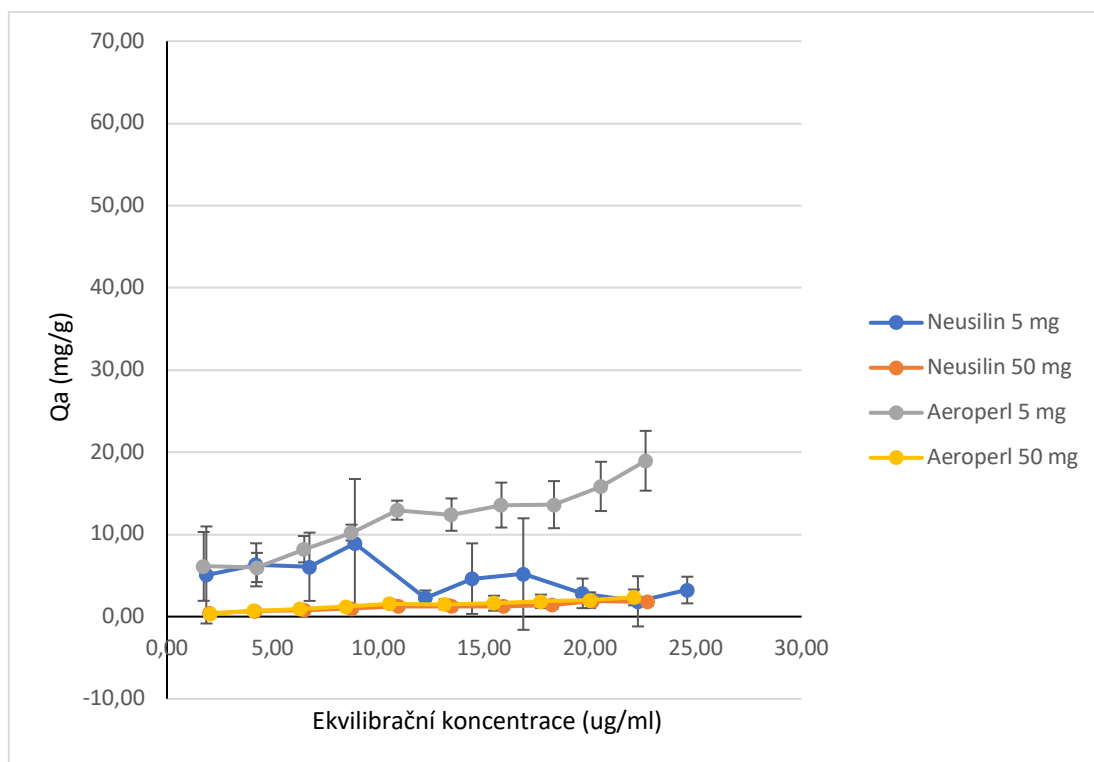
**Obrázek 12:** Závislost naadsorbovaného množství FFA na iniciační koncentraci FFA pro různé hmotnosti NUS2 při pH 6,8

V případě použití nosiče Aeroperlu je trend podobný jako u většího množství NUS2 (**Obrázek 13**). Míra absorpce FFA byla u obou množstvích srovnatelná a opět se zvyšovala se zvyšující se iniciační koncentrací. Nejvyšší adsorpce bylo dosaženo při nejvyšší iniciační koncentraci a při použití většího množství nosiče (50 mg), a to  $116,77 \pm 47,88 \mu\text{g}$ .



**Obrázek 13:** Závislost naadsorbovaného množství FFA na iniciační koncentraci FFA pro různé hmotnosti Aeroperl při pH 6,8

Na **Obrázku 14** je zobrazená závislost množství naadsorbované FFA na equilibrační koncentraci v médiu o pH 6,8. Z tohoto grafického znázornění vyplývá, že vyšší adsorpce bylo dosaženo při množství 5 mg jednotlivých nosičů. Hodnoty  $Q_a$  u 5 mg NUS2 dosahují maxima  $8,91 \pm 0,88$  mg/g a u 5 mg Aeroperlu  $18,96 \pm 3,64$  mg/g. Při použití 50 mg nosičů bylo dosaženo výrazně nižší adsorpce. Nejvyšší hodnota u NUS2 dosahuje  $1,9 \pm 0,16$  mg/g a u Aeroperlu  $2,34 \pm 0,96$  mg/g. Na rozdíl od nižších pH byla u pufru o pH 6,8 vyšší readsorpce zaznamenána u Aeroperlu. Toto zjištění může souviset s chemickým charakterem povrchu nosičů<sup>(18), (21)</sup>, která je u použitých nosičů odlišná. Studie Denninga a spol.<sup>(7)</sup> naznačila, že v procesu dynamické adsorpční rovnováhy hrají významnou roli vodíkové vazby a povrchové interakce mezi modelovým léčivem (ritonavirem) a povrchem MS, který může být ovlivněn pH prostředí (ionizace).<sup>(7)</sup>

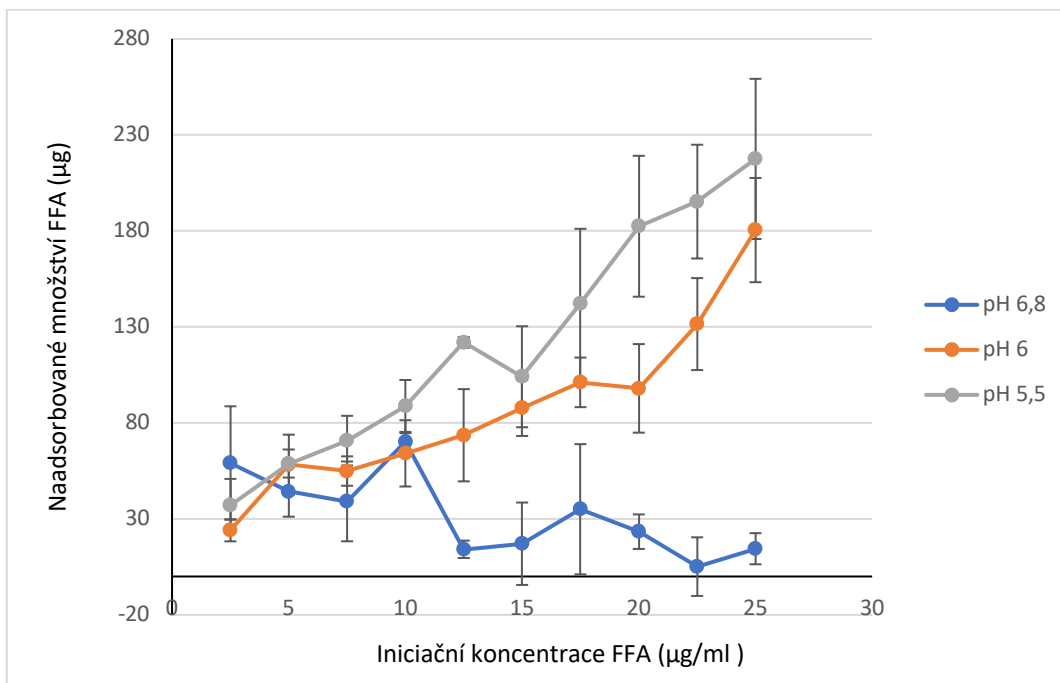


**Obrázek 14:** Vliv ekvilibrační koncentrace na  $Q_a$  pro nosiče NUS2 a Aeroperl v množstvích 5 a 50 mg při pH 6,8

Výsledky hodnocení vlivu druhu a množství MS na proces adsorpce ukázaly, že neexistuje výrazný rozdíl mezi použitím NUS2 nebo Aeroperlu jako testovaného MS s výjimkou prostředí o pH 6.8 (viz výše). Při analýze výsledků graficky znázorňujících množství naadsorbované FFA nebyly pozorovány výrazné rozdíly mezi použitím 5 mg a 50 mg nosiče. Tento jev může naznačovat, že míra adsorpce léčiva není ovlivněna množstvím volným aktivních míst na nosiči, ale ochotou léčiva se na tato místa vázat. Pro praxi je toto zjištění pozitivní, neboť množství použitého nosiče, které je zpravidla u mesoporézních formulací vyšší, nebude přímo ovlivňovat množství readsorbovaného léčiva. Jinými slovy větší použité množství nosiče ve formulaci nemusí nutně znamenat vyšší míru readsorbce podávaného léčiva.

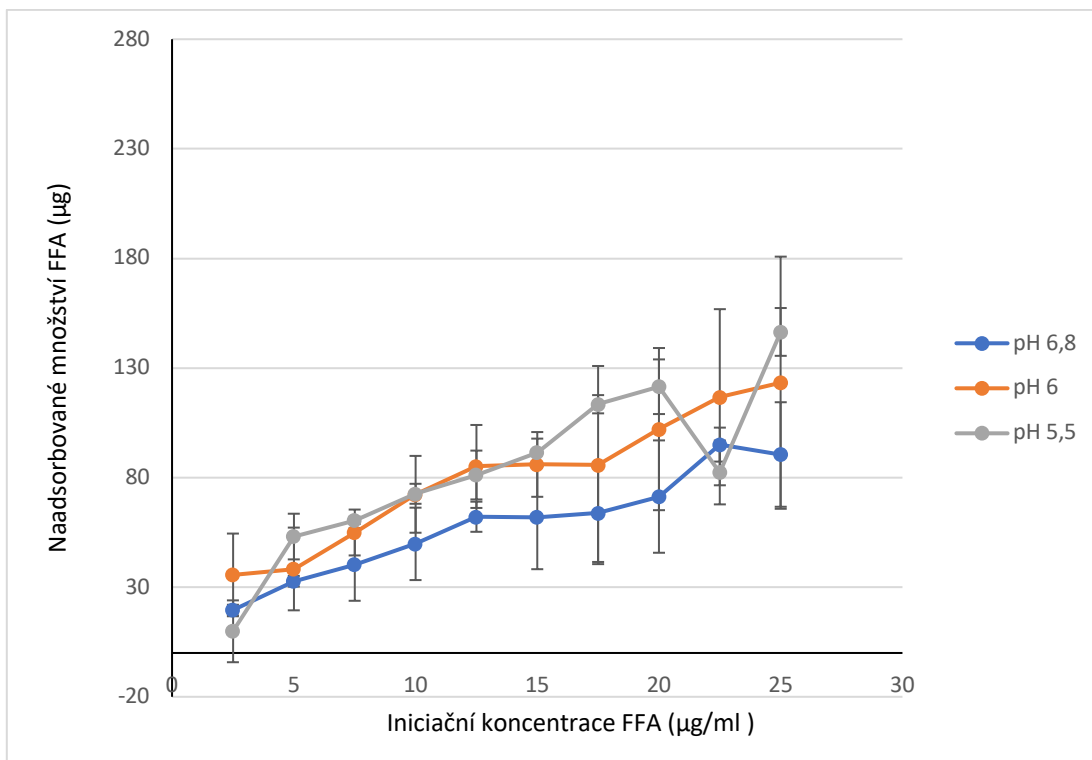
**Obrázky 15-18** znázorňují vliv pH prostředí na míru reabsorpce FFA na jednotlivé nosiče. Výsledky naznačují, že pH ovlivňuje míru reabsorpce FFA, a to pravděpodobně s ohledem na ionizační stav léčiva a nosiče. Stejně jako u studie Denninga a spol. <sup>(7)</sup> lze adsorpční chování vysvětlit interakcí mezi silanolovými skupinami na povrchu MS a karboxylovými skupinami kyseliny flufenamové. <sup>(30)</sup>

<sup>(31)</sup> Vyšší množství absorbovaného léčiva bylo u obou nosičů pozorováno při nejnižším testovaném pH (5,5). To může souviset s lepší rozpustností kyseliny FFA v pufru o vyšších pH (6,0 a 6,8) a s tím související nižší ochotou FFA adsorbovat se na nosiče. Jinými slovy je míra adsorpce na nosič vyšší v prostředí, ve kterém se léčivo méně ochotně rozpouští a je pro něj výhodnější navázat se na přítomný nosič. V zásaditém prostředí je totiž FFA ionizována do aniontové formy. Ionizovaná forma může mít sníženou afinitu k nepolárním nebo hydrofobním povrchům adsorbentů kvůli elektrostatickému odpuzování nebo nižší schopnosti tvořit vodíkové vazby. Tento jev vysvětluje pozorovaný pokles adsorpce při pH 6,8, kde ionizovaná forma FFA méně interaguje s povrchy NUS2 a Aeroperlu. Zároveň nižší rozpustnost FFA v nižších pH může hrát roli v její větší tendenci k vazbě na nosič. Při nižším pH je FFA méně ionizovaná a více se vyskytuje v neionizované formě, která je méně rozpustná ve vodě. <sup>(56)</sup> Tato neionizovaná forma má vyšší afinitu k povrchům adsorbentů, protože je hydrofobnější a lépe interaguje s nepolárními povrchy adsorbentů jako je NUS2 a Aeroperl. V neionizované formě je tedy FFA schopna vytvářet silnější van der Waalovy interakce a vodíkové vazby s povrchy adsorbentů, což vede k vyšší adsorpční kapacitě při nižších pH hodnotách. <sup>(30)</sup>

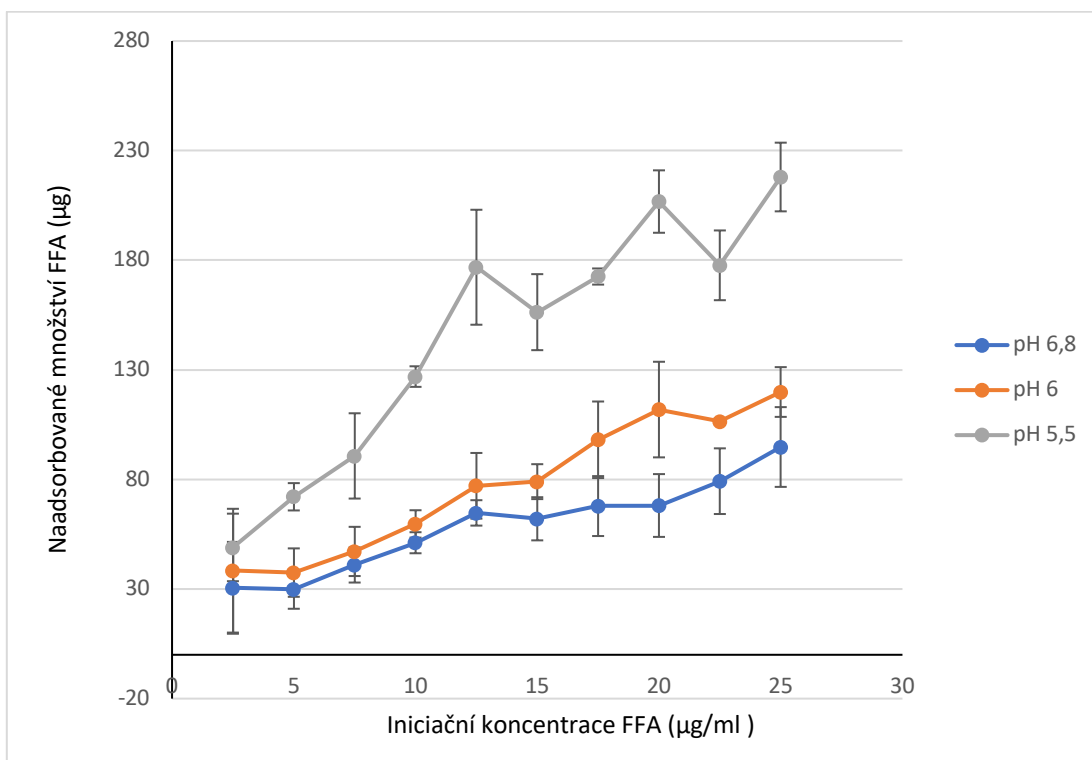


**Obrázek 15:** Vliv pH na adsorpci kyseliny flufenamové na množství 5 mg Neusilinu<sup>®</sup> US2

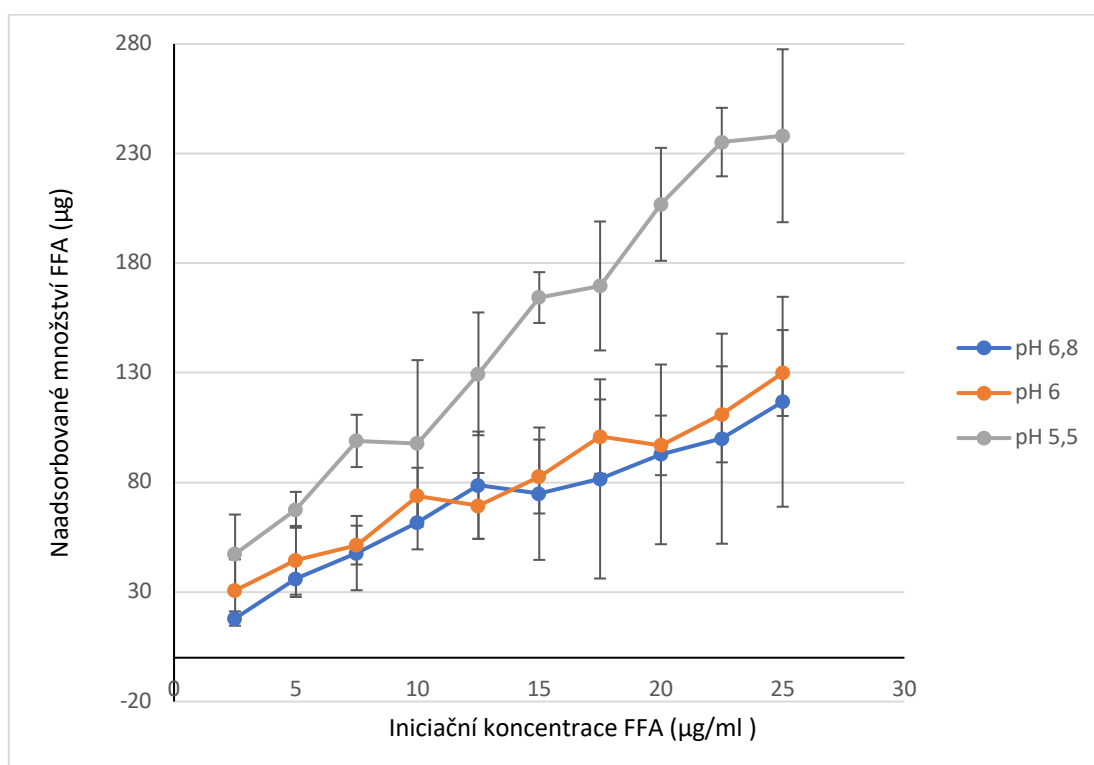




**Obrázek 16:** Vliv pH na adsorpci kyseliny flufenamové na množství 50 mg Neusilinu® US2



**Obrázek 17:** Vliv pH na adsorpci kyseliny flufenamové na množství 5 mg Aeroperlu® 300 Pharma



**Obrázek 18:** Vliv pH na adsorpci kyseliny flufenamové na množství 50 mg Aeroperlu® 300 Pharma

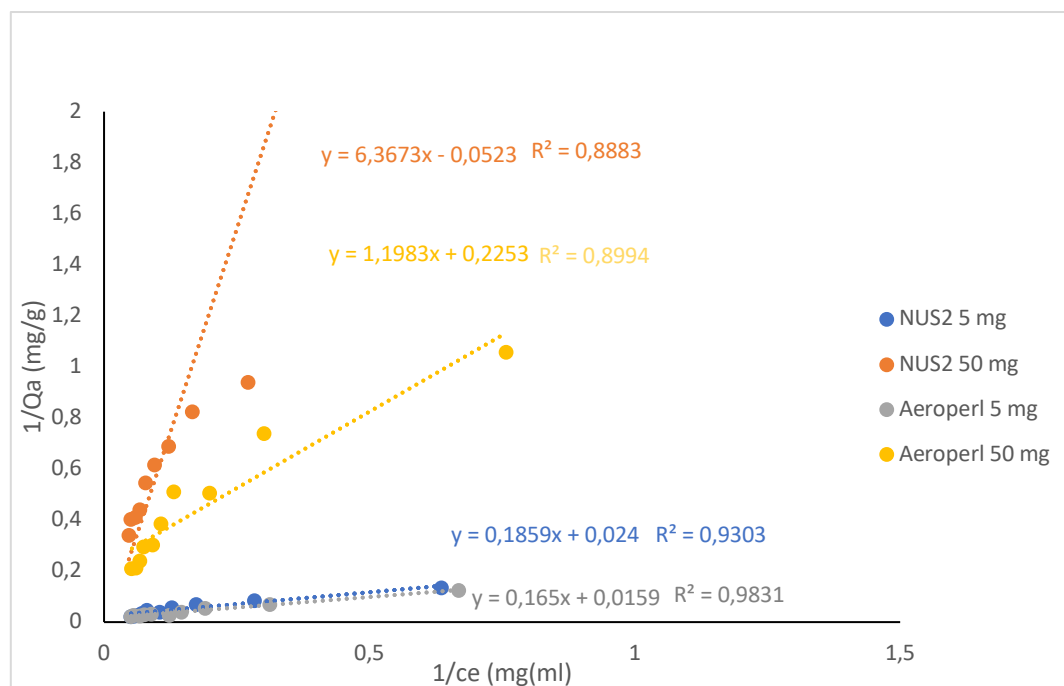
#### 8.2.4 Hodnocení adsorpčního chování léčiv

Hodnocení adsorpčního chování léčiv na MS je zásadní pro pochopení interakce mezi léčivem a MS, jakož i pro předpověď kapacity MS a kinetiky uvolňování léčiva. Základním nástrojem pro popis vztahu mezi koncentrací léčiva v roztoku a množstvím léčiva adsorbovaného na povrch MS je adsorpční izoterma.

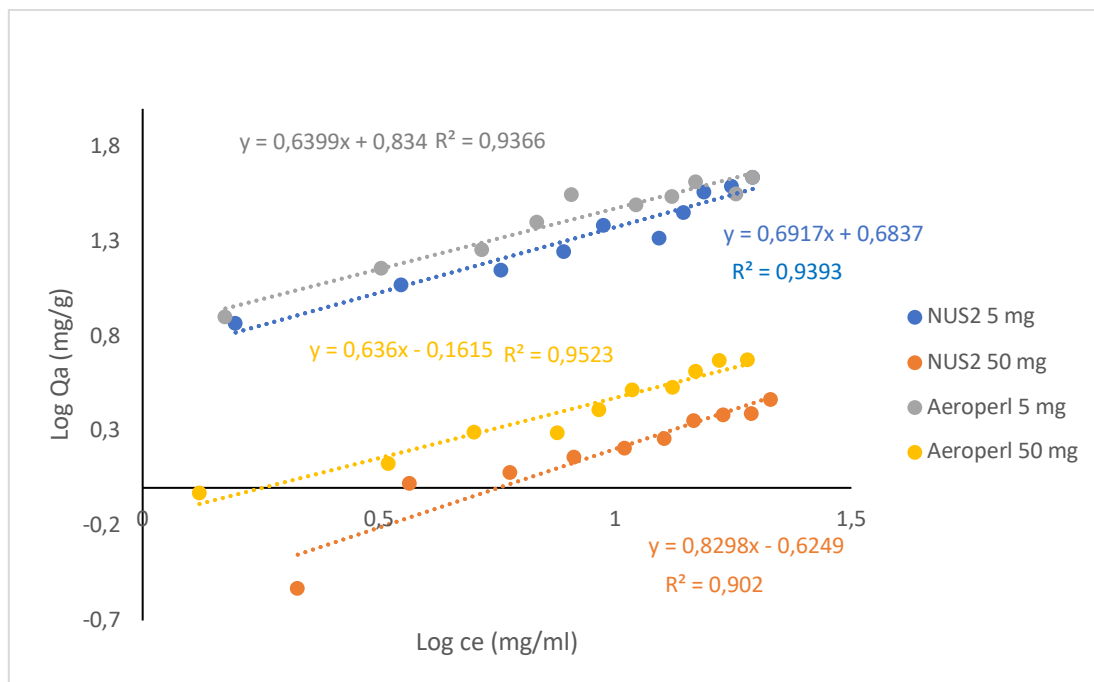
K popisu adsorpčního chování léčiv se nejčastěji používají dva modely izoterm – Langmuirův a Freundlichův. <sup>(72)</sup> Langmuirův model se používá k popsání rovnovážného stavu v systému adsorbent-adsorbát a předpokládá, že reaktivní skupiny jsou homogenně rozloženy na povrchu adsorbentu (MS), a tudíž pak molekuly adsorbátu tvoří na povrchu monovrstvu. <sup>(71)</sup> Freundlichův model naproti tomu předpokládá, že povrch adsorbentu je heterogenní a že molekuly adsorbátu tvoří na povrchu více vrstev. <sup>(74)</sup>

Pro ověření Langmuirova modelu byl vynesena graf  $\frac{1}{Q_a}$  (převrácená hodnota množství adsorbované látky na jednotku hmotnosti adsorbentu) proti  $\frac{1}{C_e}$  (převrácená hodnota ekvilibrační koncentrace látky v roztoku), zatímco pro ověření Freundlichova modelu byl vynesena graf  $\log Q_a$  proti  $\log C_e$ . V obou případech se očekává lineární vztah parametrů, aby mohl být model potvrzen.

**Obrázek 19** zobrazuje Langmuirovu adsorpční izotermu a **Obrázek 20** Freundlichovu adsorpční izotermu při pH 5,5. Z obou obrázků je patrné, že pro adsorpci FFA na nižší množství obou nosičů (5 mg) je možné použít oba modely, avšak Freundlichova adsorpční izoterma při pH 5,5 popisuje adsorpční chování mírně lépe s ohledem na získané hodnoty  $R^2$ . V případě vyšších množství nosičů je pak adsorpce jednoznačně lépe popsána Freundlichovou adsorpční izotermou, neboť hodnoty  $R^2$  pro Langmuirovu adsorpční izotermu jsou pouze 0,8883 pro nosič NUS2 a 0,8994 pro Aeroperl, zatímco v případě Freundlichovy izotermy 0,902 pro NUS2 a 0,9523 pro Aeroperl. Z toho vyplývá, že v prostředí s nejnižším testovaným pH dochází pravděpodobně k adsorpci FFA ve více vrstvách, přestože, jak bylo zmíněno výše, nebylo v ani jednom případě dosaženo teoretického množství FFA potřebného k vytvoření monovrstvy.



**Obrázek 19:** Langmuirova adsorpční izoterma při pH 5,5 pro různé koncentrace Aeroperlu<sup>®</sup> 300 Pharma a Neusilinu<sup>®</sup> US2 (5 a 50 mg)



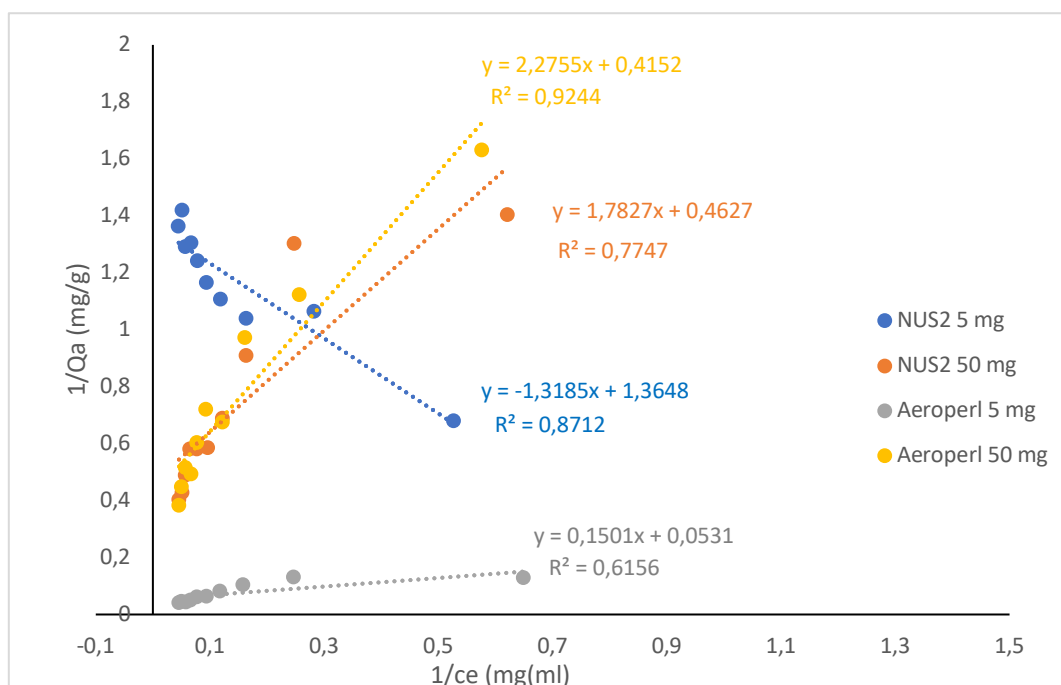
**Obrázek 20:** Freundlichova adsorpční izoterma při pH 5,5 pro různé koncentrace Aeroperlu<sup>®</sup> 300 Pharma a Neusilinu<sup>®</sup> US2 (5 a 50 mg)

**Tabulka 3** shrnuje Langmuirovy a Freundlichovy konstanty, které byly vypočítané pomocí hodnot získaných z grafů na **Obrázcích 19** a **20**. Z výsledků vyplývá, že nejvyšší hodnota Langmuirovy konstanty  $K_L$  byla dosažena pro vzorek Aeroperl při množství nosiče 50 mg, a to 0,188 ml/mg. Naopak nejnižší hodnoty  $K_L$  byly pozorovány u vzorku NUS2 při množství 50 mg, kde hodnota dokonce klesla do záporných hodnot (-0,008 ml/mg), což naznačuje nevhodnost modelu pro tento případ. Freundlichova konstanta  $K_F$  dosáhla nejvyšší hodnoty u vzorku Aeroperl 5 mg (6,84 mg/g)(ml/mg)<sup>1/n</sup>. To znamená, že Aeroperl má lepší adsorpční vlastnosti při nižším množství nosiče než NUS2, což se odráží i v hodnotách konstant. Vyšší hodnota  $n$  pro Aeroperl ukazuje na větší heterogenitu povrchu a variabilitu v adsorpčních vlastnostech oproti NUS2.

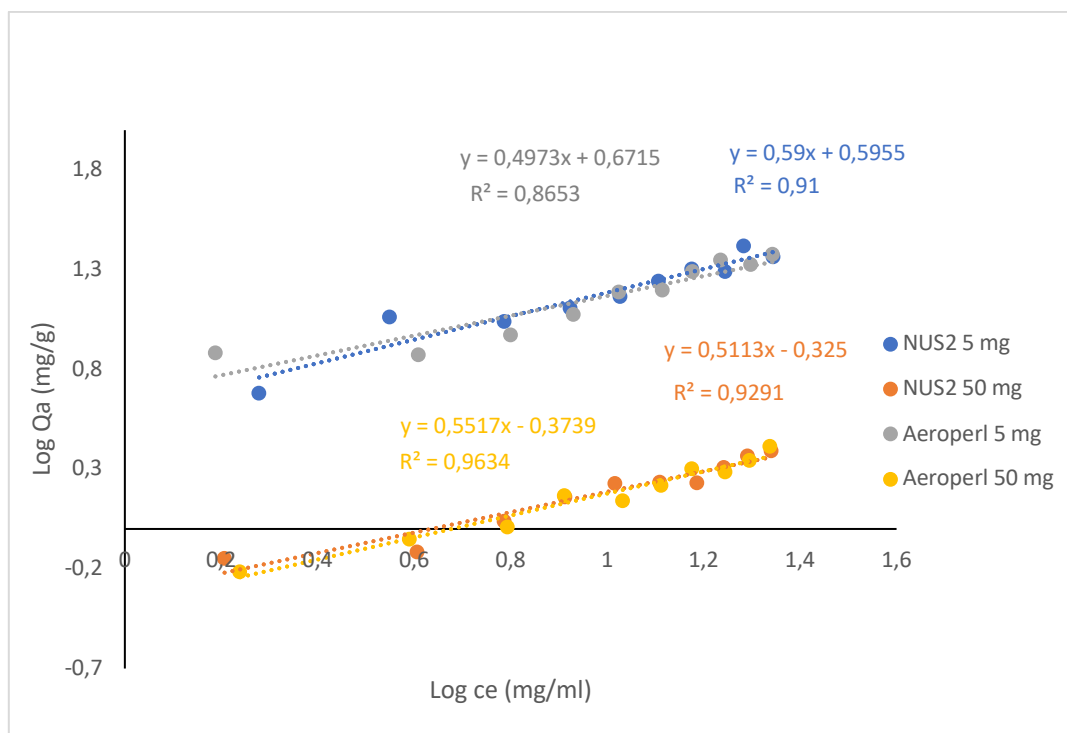
**Tabulka 3:** Přehled Langmuirových a Freundlichových konstant pro mesoporézní nosiče Neusilin® US2 a Aeroperl® 300 Pharma v množstvích 5 a 50 mg pro pH 5,5

Nosič	Množství nosiče [mg]	Langmuirova konstanta KL [ml/mg]	Freundlichova konstanta KF [(mg/g)(ml/mg)] <sup>1/n</sup>	Freundlichova konstanta n
NUS2	5	0,096	4,81	1,45
	50	-0,008	0,237	1,205
Aeroperl	5	0,129	6,84	1,562
	50	0,188	0,69	1,572

**Obrázek 21** ukazuje Langmuirovu adsorpční izotermu a **Obrázek 22** Freundlichovu adsorpční izotermu při pH 6. Z porovnání těchto dvou izoterm je zřejmé, že Freundlichův model lépe popisuje adsorpci FFA, protože má vyšší hodnoty koeficientu R<sup>2</sup>. Z toho lze usoudit, že při pH 6 pravděpodobně dochází k vícevrstvé adsorpci FFA, podobně jako při pH 5,5.



**Obrázek 21:** Langmuirova adsorpční izoterma při pH 6 pro různé koncentrace Aeroperlu® 300 Pharma a Neusilinu® US2 (5 a 50 mg)



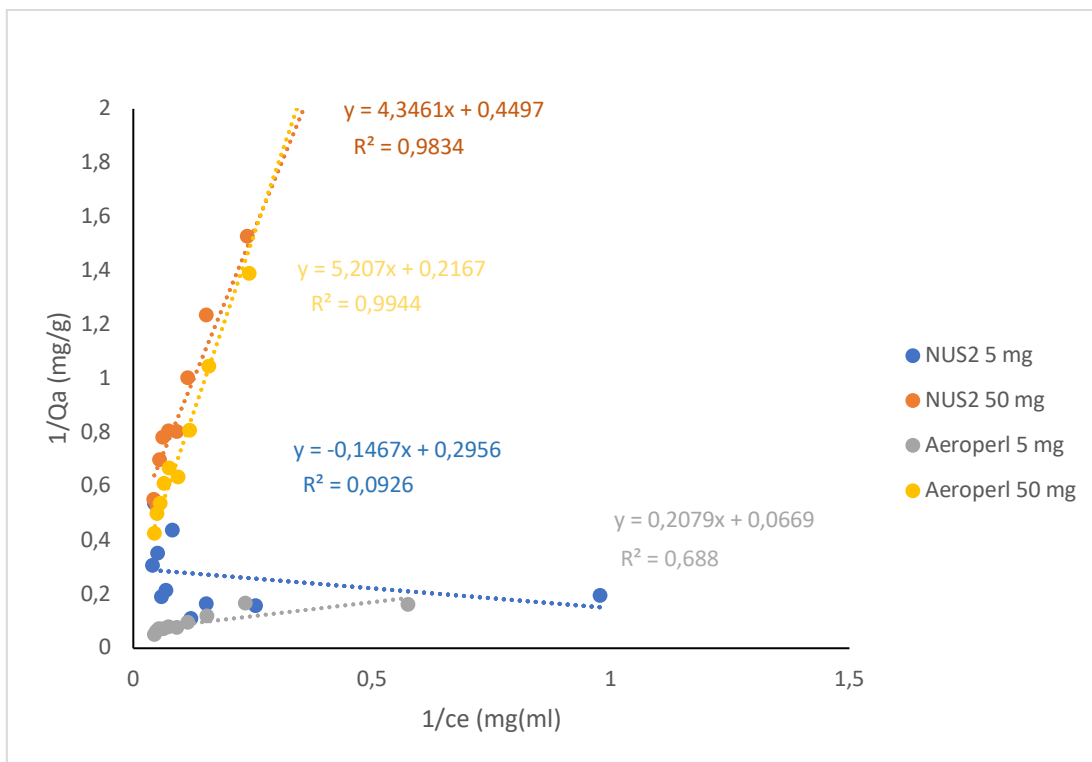
**Obrázek 22:** Freundlichova adsorpční izoterma při pH 5,5 pro různé koncentrace Aeroperlu<sup>®</sup> 300 Pharma a Neusilinu<sup>®</sup> US2 (5 a 50 mg)

Z **Tabulky 4** lze vyvodit několik závěrů o adsorpčních vlastnostech materiálů NUS2 a Aeroperl při různých množstvích nosiče. Langmuirova konstanta  $K_L$  odráží afinitu materiálu k adsorpci, přičemž nejvyšší hodnota  $K_L$  byla dosažena u vzorku Aeroperl při množství 5 mg (0,354 ml/mg). Tento výsledek naznačuje, že Aeroperl při nižším množství vykazuje nejvyšší afinitu k adsorpci mezi testovanými vzorky. Naopak negativní hodnota  $K_L$  pro NUS2 při 5 mg (-1,035 ml/mg) může indikovat experimentální chyby nebo nevhodnost tohoto modelu pro daný případ. Freundlichovy konstanty  $K_F$  a  $n$  dále naznačují, že oba materiály, NUS2 i Aeroperl, vykazují výraznější adsorpční schopnosti při nižší koncentraci nosiče (5 mg), což potvrzují vyšší hodnoty  $K_F$  (3,94 [(mg/g)(ml/mg)]<sup>1/n</sup> pro NUS2 a 4,69 [(mg/g)(ml/mg)]<sup>1/n</sup> pro Aeroperl). S rostoucím množstvím nosiče na 50 mg dochází k poklesu hodnot  $K_F$  u obou materiálů. Tento pokles je výrazný zejména u vzorku NUS2, kde  $K_F$  klesá na 0,47 (mg/g) (ml/mg)<sup>1/n</sup>. Výsledky tedy ukazují, že při nižším množství nosiče (5 mg) mají oba materiály lepší adsorpční vlastnosti, přičemž Aeroperl vykazuje nejvyšší afinitu k adsorpci. Nicméně tyto závěry mohou být ovlivněny použitím hodnoty  $Q_a$ , která je, jak již bylo diskutováno výše, vztažena na 1 g nosiče.

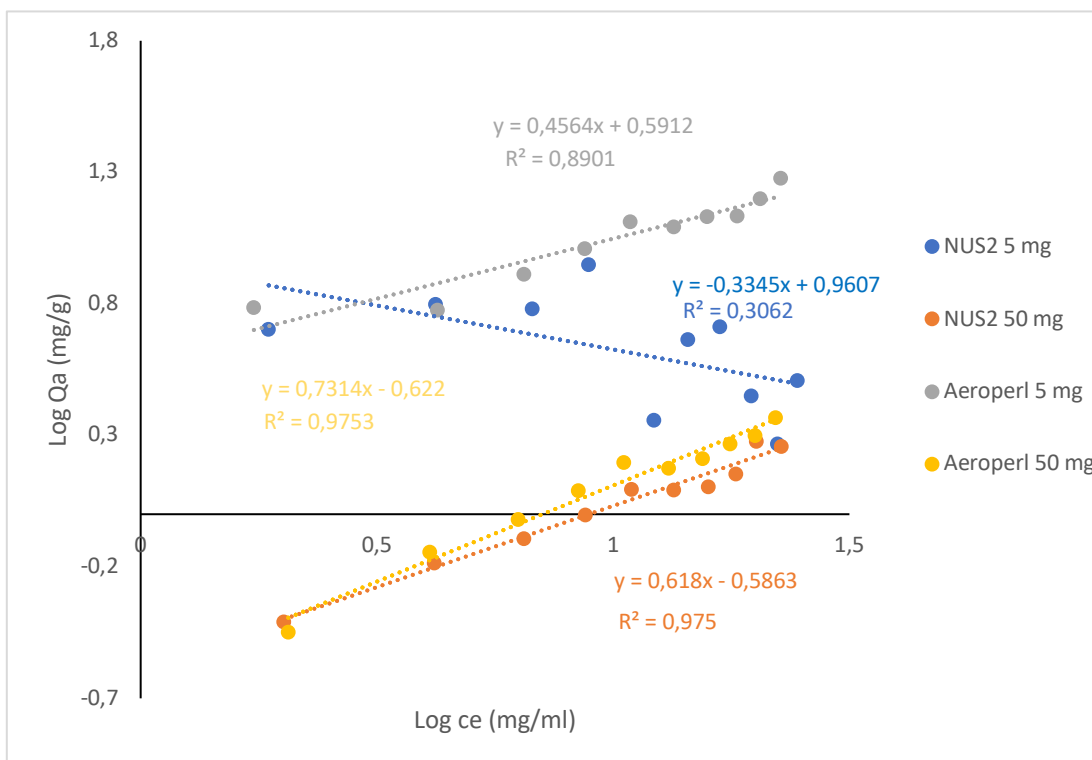
**Tabulka 4:** Přehled Langmuirových a Freundlichových konstant pro mesoporézní nosiče Neusilin® US2 a Aeroperl® 300 Pharma v množstvích 5 a 50 mg pro pH 6

Nosič	Množství nosiče [mg]	Langmuirova konstanta KL [ml/mg]	Freundlichova konstanta [(mg/g)(ml/mg)] <sup>1/n</sup>	Freundlichova konstanta n
NUS2	5	-1,035	3,94	1,69
	50	0,26	0,47	1,96
Aeroperl	5	0,354	4,69	2,01
	50	0,182	0,42	1,81

**Obrázek 23** zobrazuje Langmuirovu adsorpční izotermu a **Obrázek 24** Freundlichovu adsorpční izotermu při pH 6,8. Z obou obrázků je patrné, že adsorpční chování vzorků se liší v závislosti na použitém modelu a množství nosiče. Pro nižší množství vzorku NUS2 (5 mg) není Langmuirova izoterma vhodná, což potvrzuje nízká hodnota  $R^2 = 0,0926$ , zatímco pro vyšší množství (50 mg) je tento model velmi vhodný, s hodnotou  $R^2 = 0,9834$ . Podobně vzorky Aeroperlu vykazují lepší shodu s Langmuirovou izotermou při vyšším množství (50 mg), kde hodnota  $R^2$  dosahuje 0,9944, a při nižším množství (5 mg) je hodnota  $R^2 = 0,688$ . Freundlichova izoterma, jak je znázorněno na **Obrázku 24**, lépe popisuje adsorpční chování vzorků Aeroperlu, zejména při nižším množství (5 mg), kde je hodnota  $R^2$  0,8901. Hodnota  $R^2$  0,9753 pro množství 50 mg vykazuje menší vhodnost, než tomu bylo u Langmuirovy izotermy. U vzorku NUS2 je Freundlichova izoterma méně vhodná pro nižší množství (5 mg) s  $R^2 = 0,3062$ , avšak při vyšším množství (50 mg) poskytuje vysokou hodnotu  $R^2 = 0,975$ . Z toho vyplývá, že Freundlichova izoterma lépe popisuje adsorpci na Aeroperlu při nižším množství (5 mg), zatímco Langmuirova izoterma je vhodnější pro vyšší množství Aeroperlu (50 mg) a také pro vzorek NUS2 50 mg.



**Obrázek 23:** Langmuirova adsorpční izoterma při pH 6,8 pro různé koncentrace Aeroperlu<sup>®</sup> 300 Pharma a Neusilinu<sup>®</sup> US2 (5 a 50 mg)



**Obrázek 24:** Freundlichova adsorpční izoterma při pH 6,8 pro různé koncentrace Aeroperlu<sup>®</sup> 300 Pharma a Neusilinu<sup>®</sup> US2 (5 a 50 mg)



**Tabulka 5:** Přehled Langmuirových a Freundlichových konstant pro mesoporézní nosiče Neusilin® US2 a Aeroperl® 300 Pharma v množstvích 5 a 50 mg pro pH 6,8

Nosič	Množství nosiče [mg]	Langmuirova konstanta $K_L$ [ml/mg]	Freundlichova konstanta $K_F$ [(mg/g)(ml/mg)] <sup>1/n</sup>	Freundlichova konstanta $n$
NUS2	5	-2,015	3,896	2,19
	50	0,104	0,26	1,62
Aeroperl	5	0,321	1,16	4,81
	50	0,042	0,24	1,37

Z **Tabulky 5** vyplývají klíčové informace o adsorpčních vlastnostech použitých MS (NUS2 a Aeroperl) při množstvích 5 a 50 mg při pH 6,8, vypočítaných na základě Freundlichových a Langmuirových izoterm. Langmuirova konstanta  $K_L$ , která indikuje maximální adsorpční kapacitu v homogenním systému, vykazuje u vzorku NUS2 při 5 mg negativní hodnotu (-2,015 ml/mg), což může naznačovat nevhodnost modelu, možnou nekompatibilitu materiálu s adsorbátem nebo experimentální chybu. Při vyšším množství nosiče (50 mg) se hodnota  $K_L$  pro NUS2 zvyšuje na 0,104 ml/mg, což naznačuje zlepšení adsorpční kapacity. Naopak Aeroperl vykazuje pozitivní hodnoty  $K_L$  při obou koncentracích (0,321 ml/mg při 5 mg a 0,042 ml/mg při 50 mg), což potvrzuje lepší adsorpční schopnosti ve srovnání s NUS2. Nicméně, podobně jako u NUS2, dochází u Aeroperlu ke snížení hodnoty  $K_L$  při vyšší koncentraci, což může indikovat pokles účinnosti adsorpce s rostoucí koncentrací nosiče. Freundlichova konstanta  $K_F$ , která odráží adsorpční kapacitu, je vyšší u obou materiálů při nižším množství nosiče (5 mg), což naznačuje, že materiály mají lepší adsorpční schopnosti při nižších koncentracích. Konkrétně vzorek NUS2 při 5 mg dosahuje hodnoty  $K_F$  3,896 (mg/g)(ml/mg)<sup>1/n</sup>, což je výrazně vyšší než hodnota pro Aeroperl při stejném množství nosiče (1,16). Tento výsledek ukazuje, že NUS2 má vyšší adsorpční kapacitu než Aeroperl při nízké koncentraci. Freundlichova konstanta  $n$  naznačuje intenzitu adsorpce a povrchovou heterogenitu. Vyšší hodnota  $n$

u Aeroperlu (4,81 při 5 mg) ve srovnání s NUS2 (2,19 při 5 mg) naznačuje, že Aeroperl má více variabilní adsorpční místa a složitější povrchovou strukturu.

Výsledky naznačují, že adsorpční chování FFA na různých nosičích při různých hodnotách pH vykazuje tendenci k vícevrstvé adsorpci, jak naznačuje lepší shoda s Freundlichovým modelem, zejména při nižších hodnotách pH (5,5 a 6). Freundlichova izoterma lépe popisuje adsorpci FFA ve většině případů, což potvrzují vyšší hodnoty koeficientu  $R^2$  v porovnání s Langmuirovou izotermou, která předpokládá monovrstvou adsorpci. Nicméně porovnání maximálního adsorbovaného s teoretickým množstvím FFA nezbytným pro tvorbu monovrstvy naznačuje, že nebylo monovrstvy dosaženo. Možným vysvětlením je, že Freundlichův model lépe popisuje heterogenní povrchy, kde adsorpce probíhá na různě aktivních místech (např. v pórech), což může vést k interpretaci jako vícevrstvé adsorpce. <sup>(74)</sup>

## 9 ZÁVĚR

V rámci této diplomové práce byla experimentálně studována problematika readsorpce kyseliny flufenamové (FFA) na mesoporézní silikátové nosiče s ohledem na množství nosiče, typ nosiče a pH prostředí. Cílem bylo zjistit, jak se mění míra readsorpce FFA, která slouží jako modelový příklad ve vodě špatně rozpustného léčiva, na vybraných mesoporézních materiálech Neusilin<sup>®</sup> US2 (NUS2) a Aeroperl<sup>®</sup> 300 Pharma, v závislosti na výše uvedených faktorech.

Výsledky ukázaly, že rozpustnost FFA je značně závislá na pH prostředí, což odpovídá očekáváním vzhledem k jejímu charakteru slabé organické kyseliny. Nejvyšší rozpustnosti bylo dosaženo ve fosfátovém pufru o pH 6,8. V tomto prostředí se FFA snadněji ionizuje, což vede k její vyšší rozpustnosti. Naopak při nižších hodnotách pH byla rozpustnost FFA nižší, což koreluje s jejím neionizovaným stavem, ve kterém je hůře rozpustná ve vodě. Tato zjištění byla zásadní pro další experimenty, jelikož ukázala, že při pH 1,6 (v biorelevantním médiu simulujícím žaludeční prostředí na lačno) nebyla koncentrace FFA dostatečná pro měření, a tudíž toto médium nebylo vhodné pro další testování readsorpce.

Testování readsorpce FFA na MS probíhalo při třech různých hodnotách pH (5,5; 6 a 6,8), aby byla simulována variabilita pH v gastrointestinálním traktu (GIT). Výsledky ukázaly, že adsorpce FFA na NUS2 i Aeroperl je dynamický proces, který je výrazně ovlivněn iniciační koncentrací FFA a pH prostředí. S rostoucí iniciační koncentrací FFA docházelo ke zvýšení množství naadsorbovaného léčiva, což je v souladu s adsorpčními modely Freundlichovy a Langmuirovy izotermy. Nicméně nebyl zaznamenán výrazný rozdíl v adsorpční kapacitě mezi použitím 5 mg a 50 mg nosiče, což naznačuje, že množství nosiče není rozhodujícím faktorem pro efektivitu adsorpce.

Porovnáním nosičů NUS2 a Aeroperl při různých pH bylo zjištěno, že oba nosiče vykazují podobné adsorpční chování při pH 5,5 a 6. Rozdíly se však objevily při pH 6,8, kde Aeroperl vykazoval vyšší míru adsorpce FFA než NUS2. Tento rozdíl může být způsoben odlišnými povrchovými vlastnostmi obou nosičů, které ovlivňují interakce mezi ionizovanou formou FFA a povrchem nosiče.

Významný vliv na adsorpční proces měla i ionizace FFA v závislosti na pH prostředí. Při nižších hodnotách pH, kde FFA převládá v neionizované formě, byla zaznamenána vyšší adsorpční kapacita, což souvisí s vyšší afinitou neionizované FFA k povrchům nosičů. Naopak při pH 6,8, kde je FFA převážně v ionizované formě, byla adsorpční kapacita nižší, což může být způsobeno sníženou schopností ionizované FFA interagovat s povrchy adsorbentů.

Výsledky této studie mají významné praktické využití pro vývoj mesoporézních formulací léčiv. Ukazují, že množství nosiče, který je často v mesoporézních formulacích vyšší, nemusí přímo ovlivňovat množství readsorbovaného léčiva. Důležitějšími faktory jsou ionizační stav léčiva a povrchové vlastnosti nosiče, které jsou ovlivněny pH prostředí. Pro optimalizaci formulací ve farmaceutické praxi je tedy nezbytné zohlednit tyto faktory při výběru vhodného nosiče a nastavení parametrů formulace.

## 10 POUŽITÁ LITERATURA

1. Maleki A., Kettiger H., Schoubben A., Rosenholm J.M. a spol. Mesoporous silica materials: From physico-chemical properties to enhanced dissolution of poorly water-soluble drugs. *Journal of Controlled Release*. 2017, Sv. **262**, stránky 329-347. [cit. 2024-02-28]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.01.032>
2. Budiman A, Wardhana YW, Ainurofiq A, a spol. Drug-Coformer Loaded-Mesoporous Silica Nanoparticles: A Review of the Preparation, Characterization, and Mechanism of Drug Release. *Int J Nanomedicine*. 2024, Sv. **19**, stránky 281-305. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.2147/IJN.S449159>
3. Van Speybroeck M., Mellaerts. R., Mols R., a spol. Enhanced absorption of the poorly soluble drug fenofibrate by tuning its release rate from ordered mesoporous silica. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010, Sv. **41** (5), stránky 623-630. [cit. 2024-02-28]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.09.002>
4. Velusamy P., Srinivasa C.M., Kumar G.V. a spol. A pH stimuli thiol modified mesoporous silica nanoparticles: Doxorubicin carrier for cancer therapy. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2018, Sv. **87**, stránky 264-271. [cit. 2024-06-10] Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.03.048>
5. Shuangli L., Shiqi L., Nuan W. a spol. Highly effective removal of lead and cadmium ions from wastewater by bifunctional magnetic mesoporous silica. *Separation and Purification Technology*. 2021, Sv. **265**. [cit. 2024-06-10] Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118341>
6. Shuangyou B., Kai L., Ping N. a spol. Highly effective removal of mercury and lead ions from wastewater by mercaptoamine-functionalised silica-coated magnetic nano-adsorbents: Behaviours and mechanisms. *Applied Surface Science*. 2017, Sv. **393**, stránky 457-466. [cit. 2024-06-10] Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.09.098>

7. Dening T. J., Zemlyanov D, Taylor L.S.. Application of an adsorption isotherm to explain incomplete drug release from ordered mesoporous silica materials under supersaturating conditions. *Journal of Controlled Release*. 2019, Sv. **307**, stránky 186-199. [cit. 2024-06-09] doi: [10.1016/j.jconrel.2019.06.028](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.06.028)
8. Dening T.J and Taylor L.S. Supersaturation Potential of Ordered Mesoporous Silica Delivery Systems. Part 1: Dissolution Performance and Drug Membrane Transport Rates. *Molecular Pharmaceutics*. 2018, Sv. **15** (8), stránky 3489–3501. [cit. 2024-06-09]. Dostupné z: doi:10.1016/j.jconrel.2019.06.028
9. Everett, D. H. Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units, Appendix II: Definitions, Terminology and Symbols in Colloid and Surface Chemistry. *Pure and Applied Chemistry*. 1972, Sv. 31, stránky 577-638. [cit. 2024-02-28]. Dostupné z: doi:<http://dx.doi.org/10.1351/pac197231040577>
10. Ahmadi, E., Dehghannejad, N., Hashemikia, S. a spol. Synthesis and surface modification of mesoporous silica nanoparticles and its application as carriers for sustained drug delivery. *Drug Delivery*. 2013, Sv. **21** (3), stránky 164–172. [cit. 2024-06-09]. Dostupné z doi:10.3109/10717544.2013.838715
11. Chang B., Guo J., Liu C. a spol. Surface functionalization of magnetic mesoporous silicananoparticles for controlled drug release. *Journal of Materials Chemistry*. 2010, Sv. **20**(44), stránky 9941-9947. [cit. 2024-06-09]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C0JM01237H>
12. Vazquez N.I., Gonzalez Z., Ferrari B., a spol. Synthesis of mesoporous silica nanoparticles by sol–gel as nanocontainer for future drug delivery applications. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*. 2017, Sv. **56**(3), stránky 139-145. [cit. 2024-02-28]. Dostupné z: doi:10.1016/j.bsecv.2017.03.002

13. Sunil Kumar, M.M. Malik, Rajesh Purohit. Synthesis Methods of Mesoporous Silica Materials. *Materials Today: Proceedings*. 2017, Sv. **4**(2), stránky 350-357. [cit. 2024-02-28]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.01.032>
14. Ijaz A., Yagci M.B., Ow-Yang a spol. Formation of mesoporous silica particles with hierarchical morphology. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2020, Sv. **303**, stránky 1387-1811. [cit. 2024-02-28]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2020.110240>
15. Martins E.G., Bessa B.G., da Silva S.C. a spol. A concise and systematic study of the hydrothermal synthesis of Si-MCM-48: Structural aspects and mechanical stability. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2021, Sv. **314**, stránky 1387-1811. [cit. 2024-02-28]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2020.110864>
16. Rodríguez-Garnica P., Salazar-Hernández M.M., Maldonado-Estudillo J. a spol. Nonordered porous silica-based pure inorganic and hybrid organic-inorganic materials prepared by a nonaqueous, nonthermal sol-gel process. *Materials Chemistry and Physics*. 2019, Sv. **229**, stránky 156-166. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.02.093>
17. FUJI CHEMICAL INDUSTRIES Co, Ltd. The speciality Excipient Neusilin<sup>®</sup>. [Online] 2010. [Citace: 29. 2 2024.] <https://www.fujichemical.co.jp/english/medical/medicine/neusilin/index.html>.
18. FUJI CHEMICAL INDUSTRIES Co. Ltd. Neusilin - General Properties. [Online] [Citace: 29. 2 2024.] [https://neusilin.jp/product/general\\_properties.php](https://neusilin.jp/product/general_properties.php).
19. FUJI CHEMICAL INDUSTRIES Co, Ltd. Spray Drying Technology. [Online] [Citace: 29. 2 2024.] [https://www.fujichemical.co.jp/english/medical/spray\\_dry/index.html](https://www.fujichemical.co.jp/english/medical/spray_dry/index.html).
20. Khanfar M., Fares M.M., Salem M.S. a spol. Mesoporous silica based macromolecules for dissolution enhancement of Irbesartan drug using pre-adjusted pH

method. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2013, Sv. **173**, stránky 22-28. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2013.02.007>

21. Evonik Leading Beyond Chemistry. [Online] 2019. [cit.2024-06-10.] <https://www.silica-specialist.com/en/our-products>.

22. Wei Q., Keck C.M., Müller R.H. Preparation and tableting of long-term stable amorphous rutin using porous silica. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017, Sv. **113**, stránky 97-107. [cit.2024-06-10.]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.11.009>

23. Bharti C., Nagaich U., Pal A. K. a spol. Mesoporous silica nanoparticles in target drug delivery system: A review. *International journal of pharmaceutical investigation*. 2015, Sv. **5** (3), stránky 124–133. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.4103/2230-973x.160844>

24. Isoni M., Sagita F., Culsum N., a spol. Molecule gated mesoporous silica for on-command drug delivery: A review. *Results in Chemistry*. 2023, Sv. **6**. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.101053>

25. Barbe C., Alexandre C.J. et al. Silica Particles: A Novel Drug-Delivery System. *Advanced Materials*. 2004, Sv. **16**. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/adma.200400771>

26. Zhang Y., Li Z., Zhao Z. a spol. Mesoporous carbon in biomedicine: Modification strategies and biocompatibility. *Carbon*. 2023, Sv. **212**. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbon.2023.118121>

27. Lériada-Viso A., Estepa-Fernández A., García-Fernández A. a spol. Biosafety of mesoporous silica nanoparticles; towards clinical translation. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2023, Sv. **201**. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.115049>

28. Trzeciak K, Chotera-Ouda A, Bak-Sypien I. a spol. Mesoporous Silica Particles as Drug Delivery Systems—The State of the Art in Loading Methods and the Recent Progress in Analytical Techniques for Monitoring These Processes. *Pharmaceutics*. 2021, Sv. **13** (7), str. 950. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070950>
29. AlOthman Z. A Review: Fundamental Aspects of Silicate Mesoporous Materials. *Materials*. 2012, Sv. **5** (12), stránky 2874–2902. [cit. 2024-02-29] Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ma5122874>
30. Hate S.S., Reutzel-Edens S.M., Taylor LS. a spol. Influence of Drug–Silica Electrostatic Interactions on Drug Release from Mesoporous Silica-Based Oral Delivery Systems. *Mol Pharm*. 2020, Sv. **17** (9), stránky 3435-3446. [cit. 2024-03-04]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c00488>
31. Vallet-Regi M., Rámila A., del Real R.P., a spol. A New Property of MCM-41: Drug Delivery System. *Chemistry of Materials*. 2001, Sv. **13** (2), stránky 308-311. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1021/cm0011559>
32. Basso A. M., Nicola P. B., Bernardo-Gusmao K. a spol. Effect of the Calcination of the Silanol Groups of KIT-6 and SBA-15 Mesoporous Materials. *Applied Sciences*. 2020, Sv. **10** (3), str. 970. [cit. 2024-03-05]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.3390/app10030970>
33. Popovici R.F., Seftel E.M., Mihai G.D. a spol. Controlled Drug Delivery System Based on Ordered Mesoporous Silica Matrices of Captopril as Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Drug. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2011, Sv. **100** (2), stránky 704-714. [cit. 2024-06-10] Dostupné z: doi: 10.1002/jps.22308
34. Alyassin Y., Sayed E.G., Mehta P. a spol. Application of mesoporous silica nanoparticles as drug delivery carriers for chemotherapeutic agents. *Drug discovery today*. 2020, Sv. **25** (8), stránky 1513–1520. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.06.006>



35. Avellaneda G.L., Denoyel R., Beurroies I. CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O adsorption and co-adsorption on functionalized and modified mesoporous silicas. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2024, Sv. **363**. [cit. 2024-06-10] Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2023.112801>
36. Knowles G.P., Graham J.V., Delaney S.W. a spol. Aminopropyl-functionalized mesoporous silicas as CO<sub>2</sub> adsorbents. *Fuel Processing Technology*. 2005, Sv. **86**, 14–15, stránky 1435-1448. [cit. 2024-06-10] DOI:[10.1016/j.fuproc.2005.01.014](https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2005.01.014)
37. Walcarius A., Etienne M., Bessière J. Rate of Access to the Binding Sites in Organically Modified Silicates. 1. Amorphous Silica Gels Grafted with Amine or Thiol Groups. *Chemistry of Materials*. 2002, Sv. **14** (6), stránky 2757–2766. [cit. 2024-06-10] DOI : [10.1021/cm021117k](https://doi.org/10.1021/cm021117k)
38. Songolzadeh M., Soleimani M., Ravanchi M.T. a spol. Carbon Dioxide Separation from Flue Gases: A Technological Review Emphasizing Reduction in Greenhouse Gas Emissions. *The Scientific World Journal*. 2014. [cit. 2024-06-10] doi: [10.1155/2014/828131](https://doi.org/10.1155/2014/828131)
39. Ren X., Cheng S., Liang Y a spol. Mesoporous silica nanospheres as nanocarriers for poorly soluble drug itraconazole with high loading capacity and enhanced bioavailability. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2020, Sv. **305**. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2020.110389>
40. Madan J.R., Patil S., Mathure D. a spol. Improving dissolution profile of poorly water-soluble drug using non-ordered mesoporous silica. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 2018, Sv. **22** (2), stránky 249-258. [cit. 2024-06-10] Dostupné z: [https://www.jrespharm.com/uploads/pdf/pdf\\_MPJ\\_577.pdf](https://www.jrespharm.com/uploads/pdf/pdf_MPJ_577.pdf)
41. Bhattacharyya S., Ramachandran D. Solubility enhancement study of lumefantrine by formulation of liquisolid compact using mesoporous silica as a novel adsorbent.

*Materials Letters: X.* 2022, Sv. **16**. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.mlblux.2022.100171>

42. He Q., Shi J. Mesoporous silicananoparticle based nano drug delivery systems: synthesis, controlled drug release and delivery, pharmacokinetics and biocompatibility. *Journals of Materials Chemistry.* 2011, Sv. **21**, stránky 5845-5855. [cit. 2024-03-04]. Dostupné z: doi:DOI <https://doi.org/10.1039/C0JM03851B>

43. Baumgartner A., Planinšek O. Application of commercially available mesoporous silica for drug dissolution enhancement in oral drug delivery. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences.* 2021, Sv. **167**. [cit. 2024-03-04]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.106015>

44. Šoltys M., Zůza D., Boleslavská T. a spol. Drug loading to mesoporous silica carriers by solvent evaporation: A comparative study of amorphization capacity and release kinetics. *International Journal of Pharmaceutics.* 2021, Sv. **607**. [cit. 2024-03-04]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120982>

45. Bremmell K. E., Prestidge C. A. Enhancing oral bioavailability of poorly soluble drugs with mesoporous silica based systems: opportunities and challenges. *Drug development and industrial pharmacy.* 2019, Sv. **45** (3), stránky 349–358. [cit. 2024-03-04]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1080/03639045.2018.1542709>

46. Bukara K., Schueller L., Rosier J. a spol. Ordered mesoporous silica to enhance the bioavailability of poorly water-soluble drugs: Proof of concept in man. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.* 2016, Sv. **108**, stránky 220–225. [cit. 2024-03-04]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.08.020>

47. Bansal K.K., Mishra D. K., Rosling A. a spol. Therapeutic Potential of Polymer-Coated Mesoporous Silica Nanoparticles. *Applied Sciences*. 2020, Sv. **10** (1), str. 289. [cit. 2024-03-04]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.3390/app10010289>
48. Biswas N. Modified mesoporous silica nanoparticles for enhancing oral bioavailability and antihypertensive activity of poorly water soluble valsartan. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*,. 2017, Sv. **99**, stránky 152-160. [cit. 2024-03-04]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.12.015>
49. Limnell T., Santos H.A., Mäkilä E. a spol. Drug delivery formulations of ordered and nonordered mesoporous silica: comparison of three drug loading methods. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2011, Sv. **100** (8), stránky 3294–3306. [cit. 2024-06-10] doi:[10.1002/jps.22577](https://doi.org/10.1002/jps.22577)
50. Seljak K.B., Kocbek P., Gašperlin M. Mesoporous silica nanoparticles as delivery carriers: An overview of drug loading techniques. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2020, Sv. **59**, str. 101906. [cit. 2024-02-29] doi:[10.1016/j.jddst.2020.101906](https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101906)
51. Le T.T., Elzhry Elyafi A.K., Mohammed A.R. a spol. Delivery of Poorly Soluble Drugs via Mesoporous Silica: Impact of Drug Overloading on Release and Thermal Profiles. *Pharmaceutics*. 2019, Sv. **11** (6), str. 269. [cit. 2024-03-25] Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11060269>
52. Salonen J., Laitinen L., Kaukonen A.M. a spol. Mesoporous silicon microparticles for oral drug delivery: loading and release of five model drugs. *ournal of controlled release*. 2005, Sv. **108** (2-3), stránky 362–374. [cit. 2024-03-25] Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.08.017>.]
53. Qing-Lan L., Yanfang S., Yu-Long S. a spol. Mesoporous Silica Nanoparticles Coated by Layer-by-Layer Self-assembly Using Cucurbit[7]uril for in Vitro and in Vivo Anticancer Drug Release. *Chemistry of Materials*. 2014, Sv. **26** (22), stránky

6418–6431. [cit. 2024-03-25] Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/cm503304p>

54. Zhang J., Ma Z., Jiao J. a spol. Layer-by-layer grafting of titanium phosphate onto mesoporous silica SBA-15 surfaces: synthesis, characterization, and applications. *Langmuir*. 2009, Sv. **25** (21), stránky 2541-12549. [cit. 2024-03-25] Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/la9017486>

55. Lestari W.A., Wibowo F.R., Wahyuningsih S. a spol. Loading Optimization of Mesoporous Silica Nanoparticle as Drug Delivery Agent. *Journal of Physics: Conference Series*. 2021, Sv. **1912**. [cit. 2024-03-04]. Dostupné z: doi:10.1088/1742-6596/1912/1/012045

56. Pobudkowska A., Domanska U. Study of pH-dependent drugs solubility in water. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*. 2014, Sv. **20** (1), stránky 115-126. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:10.2298/CICEQ120531116P

57. Psomas G., Kessissoglou D.P. Quinolones and non-steroidal anti-inflammatory drugs interacting with copper, nickel, cobalt and zinc: structural features, biological evaluation and perspectives. *Dalton Trans.* 2013, Sv. **42**, stránky 6252-6276. [cit. 2024-03-04]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1039/C3DT50268F>

58. Winder C. V., Wax J., Serrano B. a spol. *Anti-inflammatory and antipyretic properties of N-( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluoro-*m*-tolyl) anthranilic acid (CI-440; flufenamic acid. 1, 1963, Sv. **6**, stránky 36-47. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1039/C3DT50268F>*

59. Yau H.J., Baranauskas G., Martina M. Flufenamic acid decreases neuronal excitability through modulation of voltage-gated sodium channel gating. *The Journal of physiology*. 2010, Sv. **588** (20), stránky 3869-3882. [cit. 2024-03-01]. Dostupné z: doi:<https://doi-org.ezproxy.is.cuni.cz/10.1113/jphysiol.2010.193037>

60. Desai C. Meyler's side effects of drugs: The international encyclopedia of adverse drug reactions and interactions. *Indian Journal of Pharmacology*. 2016, Sv. **48** (2), str. 224. [cit. 2024-03-01]. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?id=tqsXzG1W8HgC&lr=&hl=cs&source=gb\\_s\\_navlinks\\_s](https://books.google.cz/books?id=tqsXzG1W8HgC&lr=&hl=cs&source=gb_s_navlinks_s)
61. Information, National Center for Biotechnology. PubChem Compound Summary for CID 3371, Flufenamic acid. [Online] 2024. [Citace: 9. 6 2024.] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Flufenamic-acid>.
62. Maestrelli F., Rossi P., Paoli P. a spol. The role of solid state properties on the dissolution performance of flufenamic acid. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2020, Sv. **180**. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.113058>
63. Amidon G. L., Lennernäs H., Shah V. P. a spol. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical research*. 1995, Sv. **12** (3), stránky 413–420. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z: doi:[10.1023/a:1016212804288](https://doi.org/10.1023/a:1016212804288)
64. Cheng-Chou T., Ho-mu L., Ming-Jer L. Phase equilibrium and micronization for flufenamic acid with supercritical carbon dioxide. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2017, Sv. **72**, stránky 19-28. [cit. 2024-02-29] Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.01.011>
65. Hendriks C. M., Penning T. M., Zang T. a spol. Pentafluorosulfanyl-containing flufenamic acid analogs: Syntheses, properties and biological activities. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2015, Sv. **25** (20), stránky 4437–4440. [cit. 2024-02-29] Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.09.012>
66. Tolia C., Papadopoulos A. N., Raptopoulou C. P. a spol. Copper(II) interacting with the non-steroidal antiinflammatory drug flufenamic acid: structure, antioxidant activity and binding to DNA and albumins. *Journal of inorganic biochemistry*. 2013,

Sv. **123**, stránky 53–65. [cit. 2024-02-29]. Dostupné z:  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.02.009>

67. Rosenholm J.M., Lindén M. Towards establishing structure-activity relationships for mesoporous silica in drug delivery applications. *Journal of controlled release*. 2008, Sv. **128** (2), stránky 157–164. [cit. 2024-03-06]. Dostupné z:  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.02.013>

68. Biorelevant Media Preparation V 1.2. *Biorelevant Supplier content product*. [online]. 2019. [cit. 2023-05-26] Dostupné z:  
[https://www.namiki-s.co.jp/upload/supplier2/719-supplier\\_content\\_product-004.pdf](https://www.namiki-s.co.jp/upload/supplier2/719-supplier_content_product-004.pdf)

69. Vraníková B., Niederquell A., Šklubalová Z., Kuentz M. Relevance of the theoretical critical pore radius in mesoporous silica for fast crystallizing drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2020, Sv. **591**. [cit. 2024-06-10] Dostupné z:  
doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.120019

70. Chen Xunjun. Modeling of Experimental Adsorption Isotherm Data. *Information*. 2015, Sv. **6**, stránky 14-22. [cit. 2024-06-10] Dostupné z:  
<https://doi.org/10.3390/info6010014>

71. Alan Gabelman, P.E. Adsorption Basics: Part 1. *AIChE, The Global Home of Chemical Engineers*. [Online] Červenec 2017.  
<https://www.aiche.org/resources/publications/cep/2017/july/adsorption-basics-part-1>.

72. Wang J., Guo X.. Adsorption isotherm models: Classification, physical meaning, application and solving method. *Chemosphere*. 2020, Sv. **258**. [cit. 2024-06-10]  
Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127279>

73. Patiha, Heraldy E., Hidayat Y. et al. The langmuir isotherm adsorption equation: The monolayer approach. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2016, Sv. **107**. [cit. 2024-06-10] DOI:[10.1088/1757-899X/107/1/012067](https://doi.org/10.1088/1757-899X/107/1/012067)

74. Saadi, R., Saadi, Z., Fazaeli, R. et al. Monolayer and multilayer adsorption isotherm models for sorption from aqueous media. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 2015, Sv. **32**, stránky 787–799. [cit. 2024-06-10] DOI: <https://doi.org/10.1007/s11814-015-0053-7>