

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické technologie



**Vývoj liquisolid systémů s obsahem léčiva
kandesartanu**

Development of liquisolid systems containing candesartan

DIPLOMOVÁ PRÁCE

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

Konzultant: MSc. Noemi Frigola Verhein

Hradec Králové, 2024

Nela Maria Marková

Prohlášení

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem pro 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

Nela Maria Marková

.....

Poděkování

Ráda bych zde poděkovala vedoucí mé diplomové práce, doc. PharmDr. Barboře Vraníkové, Ph.D., za její odborné vedení, poskytnutí cenných rad a připomínek, trpělivost, ochotu a čas, který mi během vypracovávání této práce věnovala. Poděkování patří také MSc. Noemi Frigole Verhein za její pomoc, ochotu a čas při realizaci experimentálních prací a zpracování výsledků. Dále bych chtěla poděkovat rodině a přátelům za jejich podporu během celého studia.

Obsah

Abstrakt	6
Abstract	6
Cíle diplomové práce:	8
Seznam symbolů a zkratk:	9
1 Úvod	10
2 Teoretická část.....	11
2.1 Rozpustnost a perorální biologická dostupnost	11
2.2 Kandesartan cilexetil.....	12
2.3 Kandesartan cilexetil a možnosti zvyšování jeho rozpustnosti	12
2.3.1 Pevné disperze	13
2.3.1.1 Příprava pevných disperzí.....	14
2.3.1.2 Pevné disperze kandesartanu cilexetilu	15
2.3.2 Nanosuspenze	16
2.3.2.1 Příprava nanosuspenzí	17
2.3.2.2 Nanosuspenze kandesartanu cilexetilu	19
2.3.3 Inkluzní komplexy s cyklodextriny	20
2.3.3.1 Příprava inkluzních komplexů s cyklodextriny	22
2.3.3.2 Inkluzní komplexy kandesartanu cilexetilu s cyklodextriny	23
2.3.4 Hydrotropie.....	24
2.3.4.1 Hydrotropní solubilizace kandesartanu cilexetilu.....	25
2.3.5 Liquisolid systémy.....	25
2.3.5.1 Příprava liquisolid systému.....	26
2.3.5.2 Liquisolid systémy kandesartanu cilexetilu.....	27
2.4 Další metody zvyšující rozpustnost	28
2.4.1 Zmenšení velikosti částic.....	28
2.4.2 Změna pH	29

2.4.3	Micelární solubilizace.....	30
3	Experimentální část	31
3.1	Použité suroviny	31
3.2	Použité přístroje	32
3.3	Použité metody	34
3.3.1	Příprava liquisolid prášků	34
3.3.1.1	První postup	34
3.3.1.2	Druhý postup	35
3.3.1.3	Třetí postup	35
3.3.2	Příprava fyzikální směsi.....	36
3.3.3	Příprava tobolek.....	37
3.3.3.1	Příprava tobolek s čistým kandesartanem cilexetilem.....	37
3.3.3.2	Příprava tobolek s liquisolid práškem.....	37
3.3.3.3	Příprava tobolek s fyzikální směsí	38
3.3.4	Příprava fosfátového pufru s obsahem polysorbátu 80.....	39
3.3.5	Obsahová stejnoměrnost liquisolid prášku	39
3.3.6	Hodnocení disoluce	40
4	Výsledky a diskuse	41
4.1	Hodnocení disolučního profilu liquisolid systémů v porovnání s čistým léčivem.....	41
4.2	Hodnocení disolučního profilu liquisolid systémů v závislosti na koncentraci léčiva v disperzi.....	48
4.3	Hodnocení disolučního profilu liquisolid systémů v porovnání s fyzikální směsí.....	51
5	Závěr	55
6	Seznam použité literatury	56

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Farmaceutické technologie

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

Konzultant: MSc. Noemi Frigola Verhein

Posluchač: Nela Maria Marková

Název diplomové práce: Vývoj liquisolid systémů s obsahem léčiva kandesartanu

V oblasti farmaceutického výzkumu a vývoje léčiv je zvyšování rozpustnosti klíčovým problémem, který významně ovlivňuje biologickou dostupnost. Jednou z inovativních metod, která se v posledních letech dostává do popředí zájmu, jsou liquisolid systémy představující slibný přístup vedoucí ke zvýšení rozpustnosti léčiv špatně rozpustných ve vodě jako je například kandesartan cilexetil.

Ve snaze dosáhnout výše zmíněného, a tím potencionálně ovlivnit i biologickou dostupnost kandesartanu cilexetilu, se připravily liquisolid systémy s obsahem tohoto léčiva v různých koncentracích za použití Transcutolu® HP nebo propylenglykolu jako netěkavých rozpouštědel a Neusilinu® US2 jako porézního nosného materiálu. Takto vytvořená směs se vpravila do tvrdých želatinových tobolek, které se následně podrobily disolučnímu testu. Pro porovnání se připravily také tvrdé tobolky s obsahem čistého kandesartanu cilexetilu a tři fyzikální směsi odpovídající obsahem léčiva vybraným liquisolid formulacím.

Na základě výsledků lze konstatovat, že téměř všechny liquisolid systémy vedly ke zvýšení rychlosti uvolňování kandesartanu cilexetilu v porovnání s jeho čistou formou. Důležitou roli však v tomto případě hrál typ adsorbované disperze. Nejlepší disoluční profily vykazovaly liquisolid systémy, kde adsorbovanou disperzí byl roztok. V porovnání s fyzikálními směsmi však liquisolid systémy vykazovaly srovnatelnou rychlost uvolňování léčiva ze systému.

Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of: Pharmaceutical Technology

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

Konzultant: M.Sc. Noemi Frigola Verhein

Student: Nela Maria Marková

Title of Thesis: Development of liquisolid systems containing candesartan

In the field of pharmaceutical research and drug development, increasing water solubility is a key strategy that significantly affects bioavailability. One of the innovative methods that has come to the fore in recent years represents liquisolid systems, which provide a promising approach to increase the solubility of water-poorly soluble drugs such as candesartan cilexetil.

In an effort to achieve the aforementioned, and thus potentially affect the bioavailability of candesartan cilexetil, liquisolid systems containing the drug in different concentrations were prepared using Transcutol® HP or propylene glycol as a non-volatile solvent and Neusilin® US2 as a porous carrier material. The obtained mixtures formed this way were put into hard gelatin capsules, which were subsequently submitted to a dissolution. For comparison, hard capsules containing pure candesartan cilexetil as well as three physical mixtures corresponding to the content of the drug in selected liquisolid formulations were prepared.

Based on the obtained results, almost all liquisolid systems showed enhanced dissolution rate of candesartan cilexetil compared to its pure form. However, it was observed that the type of adsorbed dispersion played an important role in drug release. The fastest dissolution profiles were observed in liquisolid systems containing drug in the form of the solution. However, compared to physical mixtures, liquisolid systems showed a comparable release of the drug from the system.

Cíle diplomové práce:

Tato diplomová práce vznikla ve snaze zvýšit rozpustnost a tím potencionálně i perorální biologickou dostupnost léčiva kandesartanu cilexetilu. Cílem teoretické části je popsat možnosti zvyšování rozpustnosti tohoto léčiva se zaměřením na mechanismus, výhody, nevýhody a přípravu jednotlivých systémů. Práce dále popisuje konkrétní studie s využitím léčiva kandesartanu cilexetilu.

Cílem experimentální části diplomové práce je příprava liquisolid systémů s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu v různých koncentracích, které povedou ke zvýšení rychlosti uvolňování tohoto léčiva oproti jeho čisté formě. Vzniklé liquisolid prášky se ve formě tvrdých tobolek podrobily disolučnímu testu pro stanovení rychlosti uvolňování léčiva. Pro porovnání se připravily tvrdé tobolky s obsahem čistého kandesartanu cilexetilu a také tři fyzikální směsi odpovídající obsahem léčiva vybraným liquisolid formulacím.

Seznam symbolů a zkratk:

Avg	Průměr (z anglického average) [%]
BCS	Biofarmaceutický klasifikační systém (z anglického Biopharmaceutics Classification System)
CC	Kandesartan cilexetil (z anglického candesartan cilexetil)
CD	Cyklodextrin
CGT	Cyklodextrin-glykosyltransferáza
HP- β -CD	Hydroxypropyl-beta-cyklodextrin
HPMC	Hypromelóza (hydroxypropylmethylcelulóza)
LSS	Liquisolid systémy, systémy kapalina v pevné fázi
PG	Propylenglykol
PVP	Polyvinylpyrrolidon
SD	Pevné disperze (z anglického Solid Dispersion)
SD*	Směrodatná odchylka (z anglického Standard Deviation) [%]
TC	Transcutol [®] HP

1 Úvod

Pro pacienty je užití ústy nejpohodlnější a běžně používaný způsob přijímání léčiv právě díky jeho snadnému podávání.¹ Terapeutická účinnost léčiva je však podmíněna biologickou dostupností, která je často omezena nízkou rozpustností léčiv ve vodném prostředí.² Zlepšení rozpustnosti léčiva a tím i jeho orální biologické dostupnosti zůstává jedním z nejnáročnějších faktorů procesu vývoje léčiva.¹ Existuje však mnoho přístupů, jež by mohly vést ke zlepšení profilu rozpouštění ve vodě špatně rozpustných léčiv, potažmo jejich absorpci a tím i biologické dostupnosti.^{1, 2, 3} Mezi tyto metody patří například redukce velikosti částic, tvorba nanosuspenzí, použití povrchově aktivních látek, úprava pH, hydrotropie, příprava pevných disperzí, micelární solubilizace, tvorba inkluzních komplexů, formulace liquisolid systémů neboli systémů kapalina v pevné fázi (LSS) a mnoho dalších.^{3, 4}

Příprava LSS představuje jednu z nejslibnějších metod vedoucí ke zrychlenému uvolňování ve vodě nerozpustných nebo špatně rozpustných léčiv. Tato moderní technika má schopnost pozitivně ovlivnit biologickou dostupnost právě takovýchto léčiv. Principem tvorby LSS je nasorbování disperze léčiva (roztok, suspenze nebo emulze) na vybraný porézní nosič. Léčivo je tak již přítomno v kapalně formě a po vpravení do trávicího traktu není vyžadováno jeho rozpuštění. Léčivá látka je navíc zastoupena na celém povrchu porézního nosiče a je tak přístupnější pro disoluční médium. Mezi výhody LSS lze zařadit například zlepšení biologické dostupnosti po perorálním podání ve vodě omezeně rozpustných nebo špatně rozpustných léčiv, optimalizaci disolučního profilu, jednoduchost přípravy či nízké výrobní náklady. Nevýhodou pak představuje problematické začlenění velkého množství špatně rozpustných léčiv, jelikož takováto léčiva vyžadují značný objem netěkavého rozpouštědla a tím i vybraného nosiče.^{2, 3}

2 Teoretická část

2.1 Rozpustnost a perorální biologická dostupnost

Biologická dostupnost hraje důležitou roli v účinnosti farmakologické terapie. Udává množství léčiva, které se po podání ve formě účinné látky absorbuje do krevního řečiště a může tak vyvolat požadovaný terapeutický účinek.⁵ Míra perorální biologické dostupnosti závisí na několika faktorech, přičemž nejčastější příčinnou nedostatečné biologické dostupnosti perorálně podávaných léčiv je jejich omezená rozpustnost léčiva ve vodě a nízká permeabilita.¹

Rozpustnost je tak jedním z nejdůležitějších kritérií pro dosažení požadované koncentrace léčiva v systémovém oběhu. Jedná se o vlastnost pevné, kapalné nebo plynné látky tvořit s rozpouštědlem homogenní roztok. Rozpustnost významně ovlivňuje účinnost léčiv, jelikož všechna léčiva musí být v místě absorpce ve formě alespoň částečně rozpustné v tělních tekutinách. Nízká rozpustnost léčivých látek ve vodě tak představuje hlavní problém při vývoji nových léčivých přípravků či generických přípravků.^{1, 4}

Biofarmaceutický klasifikační systém (BCS) je pokročilý vědecký nástroj používaný pro klasifikaci léčivých látek na základě jejich rozpustnosti a prostupnosti přes sliznice. Podle BCS jsou léčiva klasifikována do čtyř tříd (*Tabulka č. 1*). Léčiva s nízkou rozpustností ve vodě, avšak dobrou prostupností patří do třídy II BCS, léčiva se špatnou rozpustností i prostupností pak do třídy IV BCS.^{4, 6} U léčiv patřících dle klasifikace BCS do třídy II může být biologická dostupnost zvýšena právě zvýšením rozpustnosti případně rychlosti rozpouštění léčiva v gastrointestinálních tekutinách.¹ Příkladem takového léčiva je kandesartan cilexetil, který byl použit v experimentální části této diplomové práce.

Tabulka č. 1: Biofarmaceutický klasifikační systém⁴

Třída BCS	Rozpustnost	Prostupnost	Význam
1	Vysoká	Vysoká	Dobře se vstřebává
2	Nízká	Vysoká	Omezená rozpustnost
3	Vysoká	Nízká	Omezená prostupnost
4	Nízká	Nízká	Špatně se vstřebává

2.2 Kandesartan cilexetil

Kandesartan patří mezi blokátory angiotenzin II receptorů typu 1 blokující účinek angiotenzinu II.⁷ Společně s inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu se řadí mezi inhibitory renin-angiotenzin-aldosteronového systému⁸, jenž je jedním z hlavních systémů přispívajících k rozvoji arteriální hypertenze.⁷ Kandesartan cilexetil (CC) je esterové proléčivo kandesartanu. Byl vyvinut ve společnosti Takeda Chemical Industries Ltd. s cílem získat blokátor nepeptidového typu s dlouhodobým účinkem a lepší absorpcí po perorálním podání.⁹

Je to bílý krystalický prášek s molekulárním vzorcem $C_{33}H_{34}N_6O_6$ a molární hmotností 610 g/mol. Je téměř nerozpustný ve vodě při různých fyziologických pH prostředí, jen málo rozpustný v methanolu, ethanolu nebo fyziologickém roztoku a vysoce rozpustný v dimethylsulfoxidu nebo 1N roztoku uhličitanu sodného.^{7, 9, 10, 11}

2.3 Kandesartan cilexetil a možnosti zvyšování jeho rozpustnosti

Jak již bylo zmíněno, kandesartan cilexetil je esterové proléčivo, a proto je v organismu rychle a úplně bioaktivován na kandesartan pomocí esterové hydrolýzy během gastrointestinální absorpce.⁷ Perorální biodostupnost kandesartanu cilexetilu je nízká, a to v rozsahu od 15 % pro tablety do 40 % pro roztok. Důvodem je jeho špatná rozpustnost ve vodě a eflux transmembránovým přenašečem, čímž dochází k omezení

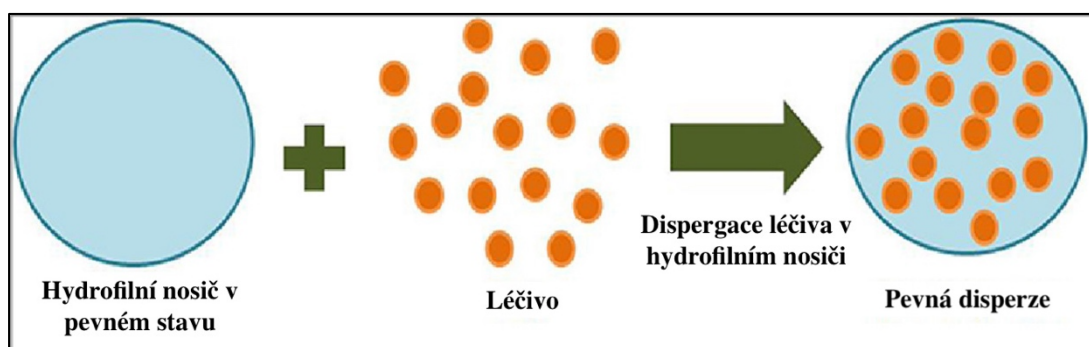
perorální absorpce.^{10, 11, 12, 13} Podle BCS je kandesartan cilexetil klasifikován jako léčivo třídy II, tedy léčivo se špatnou rozpustností ve vodě, avšak dobrou prostupností přes sliznice.¹⁴

Doposud byla publikována řada studií využívající různé metody s cílem zlepšit biologickou dostupnost tohoto léčiva. Na popis těchto metod včetně krátkého popisu konkrétních studií s využitím kandesartanu cilexetilu jsou zaměřeny následující kapitoly.

2.3.1 Pevné disperze

Tvorba pevných disperzí (SD) patří mezi efektivní techniku ve snaze zlepšit rozpustnost a tím i biologickou dostupnost léčiva. Lze ji zařadit mezi technologické metody zvyšování rozpustnosti léčivých látek. Jedná se o dvousložkové systémy definované jako disperze hydrofobního léčiva nebo aktivních složek v inertním hydrofilním nosiči v pevném stavu.¹⁵

Základem přípravy SD je amorfizace špatně rozpustného léčiva a jeho následná dispergace v inertním hydrofilním nosiči v pevném stavu (*Obrázek č. 1*). Jakmile je pevná disperze vystavena vodnému prostředí, nosič se rozpustí a léčivo se uvolní ve formě jemných koloidních částic.¹⁶ Pevné disperze tedy mohou zlepšit rychlost rozpouštění léčiva zmenšením velikosti, respektive zvětšením plochy povrchu částic léčiva a zlepšením jejich smáčivosti vlivem hydrofilního nosiče, čímž dochází také ke zvýšení biologické dostupnosti.¹⁵



Obrázek č. 1: Schématické znázornění přípravy pevných disperzí¹⁷

Výběr nosiče tedy hraje důležitou roli nejen při tvorbě SD, ale i ve vztahu k rozpouštění, absorpci léčiva či stabilitě pevné disperze. Zpravidla se jedná o látky vysoce rozpustné ve vodě nebo látky hydrofilní povahy. Obecně je lze rozdělit na nosiče s nízkou molekulovou hmotností (např. močovina, cukry, organické kyseliny), polymerní nosiče (např. polyethylenglykol, povidon, deriváty celulózy apod.) a nosiče na bázi povrchově aktivních látek (např. poloxamery, polyoxylglyceridy, polysorbát 80 apod.).^{18, 19}

Pevné disperze představují jedno z řešení problému nízké rozpustnosti a biologické dostupnosti ve vodě špatně rozpustných léčiv. Nevýhodou je však termodynamická nestabilita a možná rekrystalizace léčiva. Přidáním povrchově aktivní látky do pevné disperze či rovnou použitím nosiče na bázi povrchově aktivních látek lze však možnou rekrystalizaci do značné míry omezit či ji úplně zabránit.^{16, 18}

2.3.1.1 Příprava pevných disperzí

Existuje několik metod přípravy pevných disperzí. Fúzní metoda představuje nejstarší techniku přípravy SD, jejíž principem je zahřívání fyzikální směsi léčiva a pevného nosiče za vzniku taveniny. Roztavená směs se následně ochladí a za intenzivního míchání tvrdne. Pro dosažení požadované velikosti částic se ztvrdlá hmota rozdrtí a následně rozemele na prášek. Modifikaci této metody pak představuje extruze za tepla. V tomto případě je však míchání složek vyvoláno extrudérem.^{1, 16, 18}

Další metodou využívanou k získávání SD představuje metoda odpařování rozpouštědla, jejíž principem je rozpouštění léčiva a pevného hydrofilního nosiče v jednosložkovém organickém rozpouštědle a následné odstranění rozpouštědla odpařením pomocí rotační odparky za vzniku pevné disperze.¹⁶ Ta je následně rozmělněna, proseta a vysušena.¹⁸ Princip metody sprejového sušení je téměř shodný s principem metody odpařování rozpouštědla s tím rozdílem, že vzniklá disperze léčiva je rozprášena v komoře, kde je sušena v proudu horkého vzduchu.^{10, 16, 18} Podobně je tomu tak i u metody lyofilizace, kde však dochází k sušení vzniklých disperzí ve zmraženém stavu. Přesněji řečeno dochází k odstranění vody ve formě ledu

sublimací.^{12, 20, 21} Vlastní sušení mrazem se tedy skládá ze 3 hlavních kroků: zmrazení, primární sušení (sublimace) a sekundární sušení (desorpce).^{21, 22}

Další metodou přípravy SD je superkritická fluidní metoda implementující superkritické tekutiny, což jsou plyny, které současně vykazují plynné a kapalně vlastnosti za specifických teplotních a tlakových podmínek. Kapalně vlastnosti superkritické tekutiny nacházejí uplatnění ve vztahu k solubilizaci, zatímco plynné vlastnosti zlepšují přenos pevných látek a odpaření rozpouštědla. Nejběžněji používanou superkritickou tekutinou je oxid uhličitý (CO₂).^{17, 23} Pevné disperze lze pomocí superkritické fluidní metody připravit třemi způsoby:^{18, 23}

- rychlou expanzí superkritického roztoku – superkritická tekutina je aplikována jako rozpouštědlo
- precipitací plynového antisolventu – superkritická tekutina je využita jako tzv. antisolvent
- vysrážení z roztoku nasyceným plynem – superkritická tekutina se uplatňuje jako rozpuštěná látka

Pro přípravu SD je možné využít také metodu hnětení, jejíž principem je navlhčení léčiva a nosiče rozpouštědlem a jejich následné hnětení za vzniku homogenní pasty. Ta je poté vysušena, proseta a uchovávána v exsikátoru.^{12, 16} Obecně nelze říci, zda je některá z metod účinnější než ostatní metody přípravy. Výběr závisí na řadě faktorů, mezi které se mimo jiné řadí hydrofilně-lipofilní rovnováha léčiva, dávka léčiva a molekulová hmotnost léčiva.¹⁶

2.3.1.2 Pevné disperze kandesartanu cilexetilu

Tvorbou pevných disperzí CC ve snaze zvýšit jeho rozpustnost a biologickou dostupnost se zabývalo několik studií. Tyto disperze byly připraveny za použití různých metod. Například ve studii Aly et al.¹⁵ byla připravena pevná disperze CC fúzní metodou a metodou odpařování rozpouštědla. Oproti čistému CC došlo u všech pevných disperzí k urychlení rozpouštění léčivé látky. Největší zrychlení pak bylo zaznamenáno u SD připravené metodou odpařování rozpouštědla za použití polyvinylpyrrolidonu K-90 (PVP K-90) a to v poměru 1:4 (CC:PVP K-90). V této

formulaci došlo také ke zlepšení perorální biologické dostupnosti CC z cca 15 % na cca 48 %.¹⁵

Přípravou pevné disperze CC metodou hnětení, sprejového sušení a metodou lyofilizace se zabývala studie Gurunath et al.¹² Pevné disperze CC připravené metodou hnětení nevykazovaly oproti čistému léčivu výrazné zvýšení rychlosti rozpouštění léčiva. Mnohem lépe na tom byly SD připravené metodou sprejového sušení, avšak nejvýraznější zvýšení rychlosti rozpouštění léčiva bylo zaznamenáno u SD připravených metodou lyofilizace.¹²

Za zmínku stojí také studie Poudel a Kim¹⁰, která navíc uvažuje začlenění modifikátorů pH do pevných disperzí CC. Jejich zahrnutí se sebou však nese určité problémy související s produkcí a stabilitou SD vlivem hygroskopičnosti těchto látek. Více žádoucí jsou tak méně hygroskopické modifikátory pH v menším množství, jako jsou z kyselých modifikátorů např. kyselina fumarová či kyselina jantarová a ze zásaditých pak např. oxid hořečnatý a hydroxid hořečnatý.^{10, 19} V této studii byl však použit hygroskopičtější uhličitan sodný jako modifikátor pH, jelikož CC vykazoval v prostředí o pH 10,0 pozoruhodně vysokou rozpustnost, zatímco v prostředí o pH 1,2, 4,0 a 6,8 byla jeho rozpustnost velmi nízká. Pevné disperze byly připraveny metodou sprejového sušení. Začlenění uhličitanu sodného do SD prokázalo výborné zvýšení rychlosti rozpouštění oproti čistému CC bez ohledu na poměr léčiva ku nosiči.¹⁰

Obecně lze tedy konstatovat, že tvorba pevných disperzí CC vede ke zvýšení rozpustnosti léčiva oproti jeho čisté formě. Jak významné toto zlepšení bude však bude záviset na výběru hydrofilního nosiče, poměru nosiče k léčivu, ale i výběru metody přípravy pevné disperze.^{10, 12, 15}

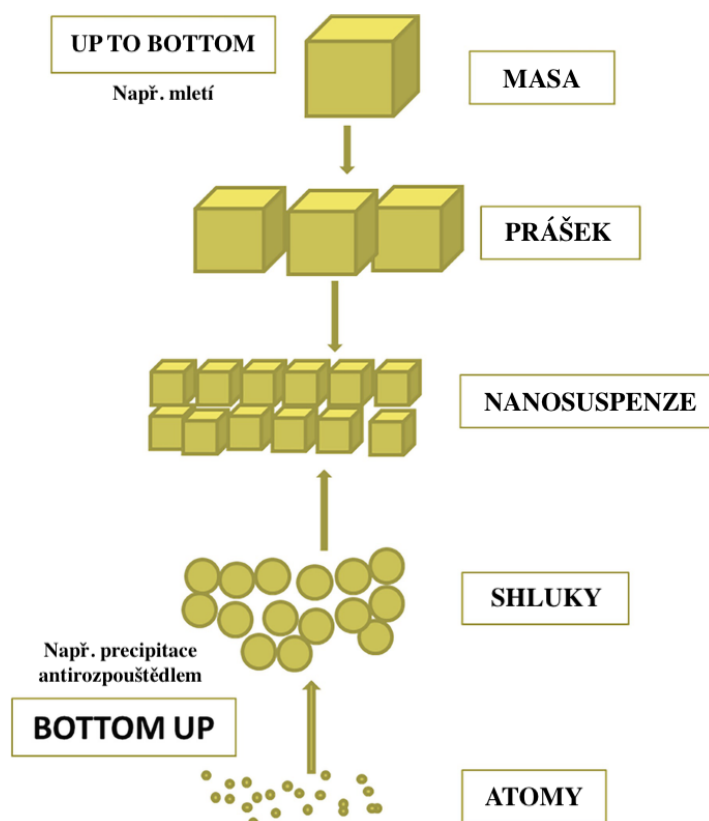
2.3.2 Nanosuspenze

Tvorba nanosuspenzí představuje jednu z alternativ vedoucí ke zvýšení rozpustnosti léčiv špatně rozpustných jak ve vodném, tak v nevodném prostředí, a tím i jejich biologické dostupnosti, což umožňuje snížení podávané dávky. Tento postup může být využit u léčiv třídy II. a IV. BCS a lze ho, stejně jako přípravu SD, zařadit mezi technologické metody zvyšování rozpustnosti.^{15, 24, 25} Nanosuspenze představují

dvoufázový systém tvořený nanočásticemi léčiva dispergovanými ve vodném vehikulu. Jinými slovy jsou to koloidní disperze částic léčiva o velikosti menší než 1 mikrometr stabilizované povrchově aktivními látkami.^{1, 25} Základním principem zvýšení rychlosti rozpouštění pomocí nanosuspenzí je redukce velikosti částic léčiva na nanorozměry. Zmenšením velikosti částic dochází ke zvýšení poměru povrchové plochy k objemu, čímž se zlepší interakce částic s rozpouštědlem, a tedy i rychlost rozpouštění léčiva.^{4, 25} Zároveň dochází ke zvýšení fyzikální a chemické stability léčiv.²⁶

2.3.2.1 Příprava nanosuspenzí

Obecně existují 3 hlavní principy přípravy nanosuspenzí, a to technologie zdola nahoru (bottom up), shora dolů (up to bottom) a jejich kombinace (Obrázek č. 2).²⁴



Obrázek č. 2: Schématické znázornění přípravy nanosuspenze²⁷

Co se týká principu technologie zdola nahoru, jedná se o metody, při kterých dochází ke vzniku a spojování částic za vzniku nanosuspenze.²⁶ Tento princip může být proveden různými metodami jako jsou metoda precipitace antirozpouštědlem, precipitace v přítomnosti superkritické tekutiny nebo precipitace odstraněním rozpouštědla.²⁸ Principem metody precipitace antirozpouštědlem je rozpuštění léčiva v rozpouštědle a následné přidání tohoto roztoku do antirozpouštědla za vysrážení nanokrystalů léčiva.^{25, 26} Tato metoda může mít několik modifikací jako jsou například sonoprecipitace, blesková nanoprecipitace či vysokogravitační precipitace.²⁹ Není však použitelná pro léčiva špatně rozpustná jak ve vodném, tak v nevodném prostředí, jelikož podmínkou této metody je právě zachovaná rozpustnost léčiva alespoň v jednom rozpouštědle, které je mísitelné s antirozpouštědlem.^{1, 25} Další metodou přípravy bottom up je precipitace v přítomnosti superkritické tekutiny. Nanosuspenze vzniklé touto metodou lze připravit dvěma způsoby, a to rychlou expanzí superkritického roztoku, kde je léčivo nejprve rozpuštěno v superkritické tekutině a následně vysráženo díky rychlé expanzi v důsledku poklesu tlaku,³⁰ nebo superkritickou antisolventní metodou, kde organický roztok slouží jako rozpouštědlo pro léčivo, které je následně vysráženo v přítomnosti superkritického antisolventu.²⁹ Třetí metodou přípravy je precipitace odstraněním rozpouštědla lyofilizací či sprejovým sušením. Tyto metody však nejsou schopny samy o sobě poskytnou částice o velikosti nanorozměrů a lze je tedy využít k převedení vodné suspenze do pevné formy.^{29, 31} Za zmínku však stojí metoda sprejové zmrazování v kapalině, která byla vyvinuta pro přípravu mikročástic za účelem zlepšení smáčecích a rozpouštěcích vlastností. Později však byla metoda využita i pro přípravu částic o velikosti nanometrů.^{29, 32} Tato technologie je založena na atomizaci roztoku obsahujícího léčivo přímo do kryogenní kapaliny za vzniku zmrazených nanočástic. Vzniklé nanočástice jsou nakonec sušeny mrazem.³²

Naopak u technologie shora dolů dochází ke zmenšování částic až do nanorozměrů za vzniku nanosuspenze. Tento princip je preferovanější, avšak během přípravy dochází k aglomeraci krystalů, a proto je nutné používat agregační stabilizátory, jako jsou např. polyvinylpyrrolidon K-30 (PVP K-30), hypromelóza (HPMC) či polysorbát 80 (Tween 80). Technologie může být provedena postupy jako jsou mletí nebo vysokotlaká homogenizace.⁴ Principem metody mletí je výroba

nanosuspenzí pomocí vysokosmykových nebo perlových mlýnů, kde je léčivo mletu při vysokých otáčkách spolu se stabilizátorem, vodou a mlecím médiem, které je tvořeno skleněnými či zirkonium oxidovými kuličkami, nebo vysoce zesíťovanou polystyrenovou pryskyřicí.^{1, 19, 25, 26, 33} Druhou metodu technologie shora dolů představuje vysokotlaká homogenizace, jejíž principem je cyklické opakované protlačování suspenze léčiva a povrchově aktivní látky za zvýšeného tlaku přes nanorozměrný ventil vysokotlakého homogenizátoru.^{1, 33}

Třetí a poslední princip přípravy nanosuspenzí představuje kombinace technologie bottom up a up to bottom tzv. precipitace za přítomnosti vysokoenergetických procesů. Tato vysoká energie může být dodána různými způsoby, jako je vysokotlaká homogenizace, ultrazvukové vlny nebo vysokoenergetické míchání a může být poskytnuta během procesu či po skončení srážení.²⁹ Jedná se tedy o spojení precipitační metody s vysoce energetickým procesem, neboť vzniklé nanočástice mají tendenci pokračovat v růstu do vzniku mikrokystalů, a proto je třeba je zpracovávat vysokoenergetickými silami.^{1, 29}

2.3.2.2 Nanosuspenze kandesartanu cilexetilu

Stejně jako u pevných disperzí CC se přípravou nanosuspenzí kandesartanu cilexetilu zabývalo několik studií. Příkladem může být studie Detroja et al.²⁴, ve které byla připravena nanosuspenze CC technologií up to bottom, přesněji metodou mletí s použitím kuliček oxidu zirkoničitého jako mlecího média. Tato suspenze byla následně vysušena pomocí sprejového sušení, což vedlo ke zlepšení stability nanosuspence. Závěrem studie bylo znatelné zvýšení rychlosti rozpouštění léčivé látky v nanosuspenzích oproti čistému léčivu.²⁴ Tvorbou nanosuspence CC metodou mletí s použitím kuliček oxidu zirkoničitého jako mlecího média s následným sprejovým sušením vzniklé suspenze se zabývala i studie Nekkanti et al.¹⁴, jež dospěla k podobným závěrům. Nanosuspenze CC vykazovala zvýšení rychlosti rozpouštění léčiva ve srovnání jak s mikronizovanou, tak komerční formulací CC.¹⁴

Přípravou nanosuspence CC technologií bottom up, přesněji metodou sonoprecipitace se zabývaly studie Aly et al.¹³ a Kumar a Singh.³⁴ Sonoprecipitace

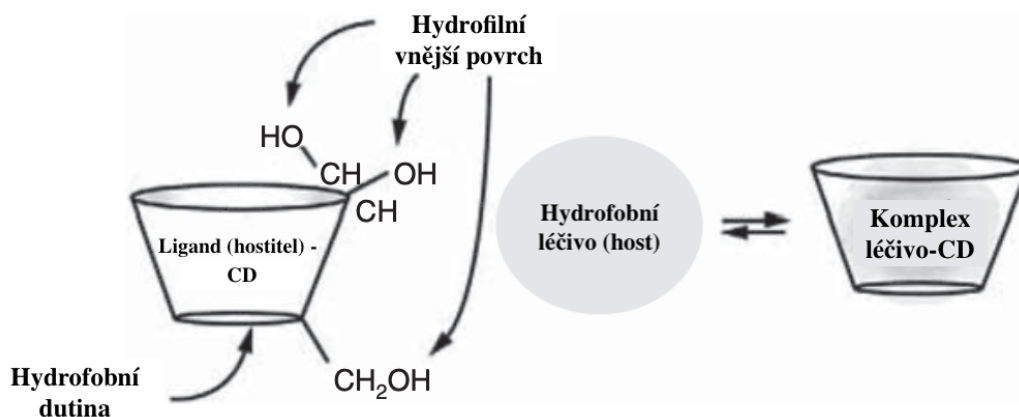
představuje modifikovanou metodu precipitace antirozpouštědlem, kde dochází k zavedení ultrazvukové energie do roztoku.²⁹ Vzniklá suspenze byla následně vysušena pomocí metody lyofilizace. Obě studie zaznamenaly výrazné zvýšení rychlosti rozpouštění CC v nanočásticích oproti čistému léčivu a v případě studie Kumar a Singh i oproti komerční formulaci.^{15, 34}

Metodu vysokorychlostní homogenizace v kombinaci s metodou mletí využila pro přípravu nanosuspenze CC studie Dabhi et al.³⁵ Vzniklá nanosuspenze vysušená metodou sprejového sušení vykazovala výrazné zvýšení rychlost rozpouštění CC oproti čistému léčivu.³⁵

Co se týká celkové představy, lze tedy obecně uvažovat, že tvorba nanosuspenzí CC vede k výraznému zvýšení rychlosti rozpouštění oproti čistému léčivu. Nelze však říci, která z výše uvedených technologií přípravy je účinnější.^{14, 15, 24, 34, 35}

2.3.3 Inkluzní komplexy s cyklodextriny

Komplexace je široce využívaná technika vedoucí ke zlepšení rozpustnosti ve vodě špatně rozpustných léčiv, kterou je možné zařadit mezi technologické metody zvyšování rozpustnosti léčiv. Kromě toho zlepšuje prostupnost léčiv přes membrány, biologickou dostupnost a jejich stabilitu.¹ Inkluzní komplexy představují komplexy mezi ligandem tzv. hostitelem a substrátem tzv. hostem, kde dochází k zachycení hosta (léčiva) jako nepolární molekuly v rámci hostitele jako komplexotvorné molekuly (*Obrázek č. 3*). Nejčastěji používanými hostitelskými molekulami jsou cyklodextriny (CD).^{1, 36}



Obrázek č. 3: Schématické znázornění inkluzní komplexace léčiv uvnitř hydrofobní dutiny cyklodextrinů³⁷

Co se týká CD, jedná se o α -1,4-vázané cyklické oligosacharidy získané enzymatickou degradací škrobu cyklodextrin-glykosyltransferázou (CGT).^{1, 38} Svou strukturou představují komolý kužel s hydrofobní centrální dutinou a hydrofilním vnějším povrchem. V závislosti na počtu D-glukopyranózových jednotek lze CD rozdělit na α -CD obsahující 6 jednotek, β -CD obsahující 7 jednotek a γ -CD obsahující 8 jednotek (Tabulka č. 2).^{19, 36} Během tvorby komplexu se mohou uplatnit vodíkové vazby, hydrofobní interakce, van der Waalsovy síly a interakce přenosu náboje.¹⁵

Tabulka č. 2: Vlastnosti přírodních cyklodextrinů¹⁹

Vlastnosti	α -cyklodextrin	β -cyklodextrin	γ -cyklodextrin
Počet glukózových jednotek	6	7	8
Molekulární hmotnost (g/mol)	972	1135	1297
Rozpustnost ve vodě (g/100 ml)	14,5	1,85	23,2
Vnější průměr (nm)	1,46	1,54	1,75
Průměr dutiny (nm)	0,47-0,53	0,60-0,65	0,75-0,83
Výška (nm)	0,79	0,79	0,79
Objem dutiny (nm ³)	0,174	0,262	0,427

Výhodou této metody je kromě již výše zmíněného zvyšování rozpustnosti, prostupnosti či biologické dostupnosti léčiva i maskování nepříjemné chuti či zápachu^{19, 38} nebo prevence možných interakcí.^{4, 19} Výhodou představuje i přírodní původ hostitelské molekuly, jeho biodegradabilita a výroba z obnovitelného zdroje. Problémem je však toxicita méně hydrofilních CD a specifické požadavky na velikost a strukturu léčiva.¹⁹

2.3.3.1 Příprava inkluzních komplexů s cyklodextriny

Inkluzní komplexy lze připravit několika metodami. Principem metody hnětení je navlhčení CD malým množstvím rozpouštědla za vzniku pasty, ke které je následně přidáno léčivo a vzniklá směs se po určité době hněte. Finální směs se vysuší a v případě potřeby proseje. Metodu lze provádět za použití třecí misky s tloučkem nebo pomocí extrudéru.^{1, 19, 38}

Další metodu přípravy inkluzních komplexů představuje metoda kopcipitace, kdy je CD rozpuštěn za vzniku vodného roztoku, ke kterému je po kapkách přidáván ethanolický roztok léčiva. Takto vzniklý roztok je několik hodin míchán a

následně chlazen, kdy v průběhu chlazení dochází ke krystalizaci a precipitaci. Výsledný produkt je promyt a vysušen.^{37, 39} Obdobu metody ko-precipitace představuje metoda odpařování rozpouštědla, jejíž principem je rozpuštění léčiva v organickém rozpouštědle a následné přidání vodného roztoku CD. Takto vzniklý roztok je dostatečně dlouho míchán a následně odpařen ve vakuu.^{1, 40} Alternativami k této metodě jsou pak metody sprejového sušení či sušení mrazem, jejichž principy jsou popsány výše pro SD (kapitola 2.3.1.1) a jsou shodné s přípravou inkluzních komplexů.⁴⁰

Inkluzní komplexy je možné připravit také metodou mletí, a to buď pomocí jednoduchého ručního mletí nebo účinnějšího mechanického mletí užitím kulových, oscilačních nebo vibračních mlýnů.⁴¹ Mechanismus této metody však není zcela přesně vysvětlen.³⁸

Novější metodu přípravy inkluzních komplexů představuje metoda mikrovlnného ozařování, kde jsou léčivo a CD rozpuštěni v minimálním množství směsi vody a organického rozpouštědla za vzniku směsi, která je následně ozařována po krátkou dobu (1-2 minuty) při 60 °C v mikrovlnné troubě. Po skončení reakce se k výše uvedené reakční směsi přidá dostatečné množství použité směsi rozpouštědel pro odstranění zbytku nezreagovaného léčiva a volného CD. Získaná sraženina je oddělena za použití filtračního papíru a vysušena ve vakuové sušárně.^{1, 19, 40}

2.3.3.2 Inkluzní komplexy kandesartanu cilexetilu s cyklodextriny

Jednou ze studií zabývajících se tvorbou inkluzních komplexů CC je studie Aly et al.¹⁵, která se zabývala přípravou inkluzních komplexů s β -CD a hydroxypropyl- β -CD (HP- β -CD) s využitím metody odpařování rozpouštědla. Oproti čistému léčivu došlo v obou případech ke zvýšení rychlosti rozpouštění. Kromě přípravy inkluzních komplexů se však tato studie zabývala také již výše zmíněnou tvorbou pevných disperzí CC a přípravou nanosuspenzí CC a v porovnání s těmito technikami došlo v případě CD komplexů k menšímu zvýšení rychlosti rozpouštění léčiva. Inkluzní komplex s β -CD navíc vykazoval nevýznamné zvýšení rychlosti rozpouštění oproti inkluznímu komplexu s HP- β -CD.¹⁵

Studie Shaikh a Avachat⁴² se zabývala přípravou inkluzních komplexů s HP- β -CD metodou hnětení a sprejového sušení. Na základě saturační rozpustnosti (maximální rozpustnost látky za daných podmínek) byla však vybrána k dalším studiím pouze formulace připravená metodou mletí. Podobně jako u předchozí studie došlo ke zvýšení rychlosti rozpouštění CC oproti jeho čisté formě.⁴² Kromě přípravy inkluzních komplexů se však tato studie podobně jako výše zmíněná studie Aly et al.¹⁵ zabývala také tvorbou pevných disperzí CC a porovnáním obou technik došla k podobným závěrům jako studie Aly et al.¹⁵, tedy k menšímu zvýšení rychlosti rozpouštění léčiva v případě využití inkluzních komplexů.⁴²

2.3.4 Hydrotropie

Hydrotropie je solubilizační metoda založená na přidání velkého množství druhé rozpuštěné látky tzv. hydrotropního činidla k první rozpuštěné látce, kde zvyšuje její rozpustnost. Hydrotropní činidla představují iontové organické amfifilní soli s podobnými strukturními rysy jako povrchově aktivní látky, od kterých se odlišují přítomností krátké hydrofobní oblasti.^{1, 4, 19} Mezi používané hydrotropní činidla lze zařadit např. močovinu, nikotinamid, lysin, tryptofan a další.¹⁹ Mechanismus hydrotropie není zcela objasněn, jelikož jednotlivá hydrotropní činidla mohou rozpustnost zvyšovat různými mechanismy v závislosti na léčivu. Tyto mechanismy mohou být např. tvorba komplexu zahrnující slabou interakci mezi hydrotropními činidly a ve vodě špatně rozpustnými léčivy, agregace hydrotropu, dále tzv. zasolování neboli koncentrování, které je založeno na přidání elektrolytů do neelektrolytového roztoku, změna vodní struktury, kdy přítomnost hydrotropních solí může narušit vodíkovou vazebnou síť vody vedoucí ke zvýšení entropie systému, či kombinace výše zmíněných mechanismů.⁴³

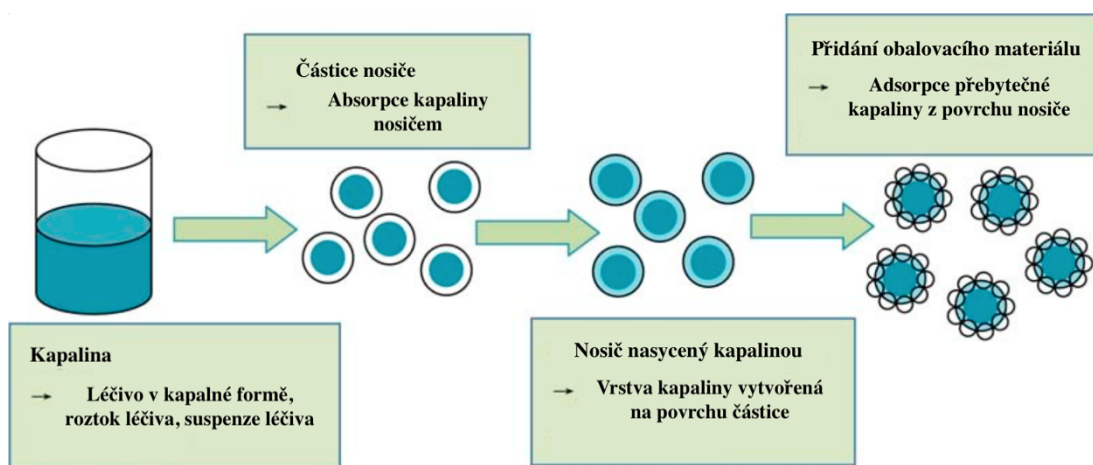
Výhodou této metody je její jednoduchost, nízké náklady, vysoká selektivita, nulová potřeba organického rozpouštědla a nízká toxicita. Nevýhodou pak představuje potřeba vysokých koncentrací hydrotropního činidla a možnost vzniku interakce právě mezi léčivem a hydrotropním činidlem.^{4, 19}

2.3.4.1 Hydrotropní solubilizace kandesartanu cilexetilu

Zvyšováním rozpustnosti CC metodou hydrotropní solubilizace se zabývala studie Khun et al.⁴⁴ Metoda byla prováděna za využití různých hydrotropních činidel, konkrétně salicylátu sodného, octanu sodného a 2-hydroxy-N,N-diethylnikotinamidu. Z těchto tří studovaných hydrotropních činidel vykazovala nejvyšší zvýšení rozpustnosti HDENA, která byla použita pro rozsáhlejší studii, dále salicylát sodný a nejméně pak octan sodný. Navíc bylo pozorováno, že rozpustnost léčiva se zvyšovala se zvyšující se koncentrací hydrotropního činidla.⁴⁴

2.3.5 Liquisolid systémy

Liquisolid systémy (LSS) neboli systémy kapalina v pevné fázi představují nový přístup vedoucí ke zvýšení rozpustnosti a biologické dostupnosti špatně rozpustných léčiv.⁴⁵ V LSS je léčivo nejprve rozpuštěno případně suspendováno v netěkavém kapalném vehikulu. Takto vzniklá disperze je následně začleněna do nosného materiálu (nosiče) s porézní strukturou na základě procesu absorpce a adsorpce za vzniku suchého, nepřilnavého, volně tekoucího a stlačitelného prášku (Obrázek č. 4).^{2, 45, 46,}



Obrázek č. 4: Mechanismus tvorby liquisolid systému⁴⁵

V LSS je léčivo v kapalné podobě nejdříve absorbováno do vnitřní struktury nosiče. Jakmile je jádro nasyceno, na povrchu částice nosiče se vytvoří kapalná vrstva, která je okamžitě adsorbována jemnými částicemi přidaného obalovacího materiálu.^{2, 45} Účinná látka je tedy přítomna nejen uvnitř jádra, ale i na celém povrchu částice nosiče a je tak přístupnější pro disoluční médium. Použité netěkavé rozpouštědlo navíc snižuje povrchové napětí mezi povrchem disolučního média a povrchem systému, a usnadňuje tak jeho smáčení.⁴⁷ V důsledku výrazně zvýšené smáčivosti a povrchu léčiva, který je v kontaktu s disolučním médiem, lze tedy očekávat zvýšenou rychlost rozpouštění a tím i zlepšenou biologickou dostupnost léčiva po perorálním podání.²

LSS mají mnoho výhod, mezi které lze kromě výše zmíněného zrychlení rozpouštění a zvýšení biologické dostupnosti zařadit také minimalizaci vlivu pH na rychlost uvolňování špatně rozpustných léčiv,⁴⁸ ovlivňování rychlosti uvolňování léčiv ve smyslu zrychleného nebo prodlouženého uvolňování či nízké výrobní náklady.¹⁸ LSS navíc představují slibnou alternativu ke konvenčním pevným lékovým formám (tablety, tobolky)⁴⁸, neboť jejich dobrá syponost a stlačitelnost je činí vhodné pro průmyslovou výrobu.⁴⁵ Hlavní omezení LSS představuje problematické začlenění vysokých dávek ve vodě špatně rozpustných léčiv, neboť větší množství léčiva vyžaduje použití většího množství kapalného vehikula, nosiče případně obalového materiálu pro zajištění dobré syponosti a stlačitelnosti suchého prášku. To však vede ke zvýšení hmotnosti finální lékové formy a následnému omezení snadné aplikace pacientem (problémy s polykáním).^{45, 48}

2.3.5.1 Příprava liquisolid systému

Příprava LSS zahrnuje několik kroků. Vlastní přípravě by však měly předcházet preformulační studie, které jsou nezbytné pro dosažení práškové směsi s přijatelnými tokovými vlastnostmi splňující požadavky běžně kladené na pevné lékové formy. Souvisí především s výběrem vhodného netěkavého rozpouštědla pro převedení pevného léčiva do kapalné formy a s výpočty potřebného množství nosiče, popřípadě dalších pomocných látek.^{47, 48}

Při přípravě LSS je léčivo nejprve rozpuštěno nebo dispergováno v požadovaném množství vhodného netěkavého rozpouštědla za vzniku odpovídající disperze. Tato disperze je následně rovnoměrně nanesena na přesně vypočítané množství nosiče. Pro zajištění homogenity lze roztok případně disperzi nanést pomocí nástřiku ve fluidní vrstvě nebo za použití vysokoobrátkových mixérů.⁴⁷ Výsledná vlhká směs je poté převedena na suchý, nepřilnavý, volně tekoucí a snadno stlačitelný prášek jednoduchým přidáním a smícháním s přesně vypočítaným množstvím obalovacího materiálu.²

2.3.5.2 Lquisolid systémy kandesartanu cilexetilu

Ve snaze zlepšit rozpustnost a tím i perorální biologickou dostupnost se přípravou liquisolid systému CC zabývalo několik studií, jejichž hlavní rozdíl představuje volba netěkavého rozpouštědla a nosného materiálu, případně dalších pomocných látek. Jednou z těchto studií je studie Sayyad et al.⁴⁹, která pro přípravu LSS kandesartanu cilexetilu zvolila po předchozích testech rozpustnosti jako netěkavé rozpouštědlo polysorbát 80 (Tween 80) a jako nosný materiál mikrokrytalickou celulózu (Avicel[®] PH 102). Jako další pomocné látky byly pro přípravu finální lékové formy LSS (tablety) použity oxid křemičitý (Aerosil[®] 200) jako obalovací materiál a sodná sůl glykolátu škrobu jako superrozvolňovadla (látky, které umožňují účinnější rozpad lékové formy v nižších koncentracích bez negativního vlivu na její vlastnosti a zpracovatelnost⁵⁰). LSS byly připravovány v různých koncentracích léčiva v kapalném vehikulu a zároveň v různých poměrech nosiče k obalovacímu materiálu. Pro srovnání byly využity konvenční tablety vzniklé přímým lisováním práškové směsi CC s Avicem[®] PH 102, Aerosilem[®] 200 a sodnou solí glykolátu škrobu. Výsledkem studie bylo zvýšení rychlosti uvolňování CC ze všech formulací LSS oproti konvenčním přímo lisovaným tabletám.⁴⁹

Stejně netěkavé rozpouštědlo, nosný materiál i další pomocné látky jako obalovací materiál a superrozvolňovadlo byly využity i ve studii Yadav et al.⁵¹ pro přípravu LSS s obsahem CC. Stejně jako v předchozí studii bylo kapalně vehikulum vybráno po předchozích testech rozpustnosti a finální lékovou formu představovaly tablety. LSS byly připravovány v různých koncentracích léčiva v kapalně vehikulu a

zároveň v různých poměrech nosiče k obalovacímu materiálu. Pro srovnání byly využity konvenční tablety vzniklé přímým lisováním práškové směsi CC s Avicel[®] PH 102, Aerosilem[®] 200 a sodnou solí glykolátu škrobu, ale také s komerčně dostupnými tabletami. Stejně jako u výše zmíněné studie bylo zaznamenáno zvýšení rychlosti uvolňování CC z LSS oproti přímo lisovaným tabletám, ale také oproti tabletám komerčně dostupných.⁵¹

Naopak studie Argade et al.⁵² využila jako netěkavé kapalně vehikulum Transcutol[®] HP (diethylenglykolmonoethylether), jako nosný materiál Neusilin[®] US2 (magnesium aluminometasilikát) a jako obalovací materiál již zmiňovaný Aerosil[®] 200. Stejně jako u předchozích dvou studií bylo kapalně vehikulum vybráno po předchozích testech rozpustnosti. Finální lékovou formu představovaly tablety, které byly stejně jako výše zmíněné LSS připravovány v různých koncentracích léčiva v kapalně vehikulu a zároveň v různých poměrech nosiče k obalovacímu materiálu. Tablety byly připraveny za použití dalších pomocných látek jako je mikrokrytalická celulóza, magnezium stearát, sodná sůl glykolátu škrobu a mastek. Pro srovnání byly využity také konvenční tablety vzniklé přímým lisováním práškové směsi CC s použitým nosičem a pomocnými látkami. Výsledkem této studie bylo zvýšení rychlosti uvolňování CC ze všech formulací LSS oproti tabletám přímo lisovaným.⁵²

Závěrem tedy je, že všechny tři studie vedly ke zvýšení rychlosti rozpouštění CC pomocí tvorby LSS tablet oproti přímo lisovaným konvenčním tabletám s obsahem práškového léčiva, a v případě druhé studie i oproti komerčně dostupným tabletám. Všechny výše uvedené studie tak naznačují, že příprava LSS představuje slibný přístup vedoucí ke zvýšení rozpustnosti špatně rozpustných léčiv jako je právě kandesartan cilexetil.^{49, 51, 52}

2.4 Další metody zvyšující rozpustnost

2.4.1 Zmenšení velikosti částic

Zmenšení velikosti částic lze zařadit mezi fyzikální modifikace vedoucí ke zlepšení rozpustnosti špatně rozpustných léčiv, neboť rozpustnost přirozeně souvisí

s velikostí částic léčiva. Zmenšením velikosti částic dochází ke zvětšení poměru plochy k objemu. Větší povrch následně umožní větší interakci léčiva s rozpouštědlem a tím pádem dochází ke zvýšení rozpustnosti.^{1,4}

Konvenční způsoby zmenšení velikosti částic, jako jsou rozmělnování a sprejové sušení, působí mechanické namáhání vedoucí k disagregaci léčiva. Tyto způsoby jsou účinné, reprodukovatelné a ekonomicky nenáročné. Na druhou stranu mechanické síly, které jsou spjaty s procesem rozmělnování, často způsobují značné množství fyzického stresu na léčivo, což může vést k jeho degradaci. Tepelné namáhání, které se může vyskytnout během rozmělnování a sprejového sušení, představuje problém u léčiv tepelně citlivých nebo u nestabilních účinných látek. Tento postup navíc nelze aplikovat na léčiva téměř nerozpustná ve vodě, jelikož nemusí být dosaženo požadované úrovně rozpustnosti.¹

2.4.2 Změna pH

Téměř všechna léčiva mohou být v průběhu svého průchodu gastrointestinálním traktem ionizována. V závislosti na tom, zda mají charakter slabých kyselin, zásad nebo solí, dochází k jejich nestejnomyšlnému uvolňování a rozpouštění. Léčiva, jejichž uvolňování je závislé na hodnotě pH, jsou vystavena kratšímu časovému intervalu, ve kterém se musejí rozpustit a mohou tak vykazovat horší biologickou dostupnost. Využitím pufrovacích pomocných látek (tzv. pH modifikátorů) lze tento časový interval prodloužit, neboť pH modifikátory vytvářejí oblasti s pH, ve kterých je léčivo rovnoměrně rozpouštěno bez ohledu na pH okolí. Modifikátory pH tak zlepšují podmínky nutné pro rozpouštění léčiva a jeho absorpci.^{4,19} Ze zásaditých modifikátorů pH, které zvyšují rozpustnost slabě kyselých léčiv a jejich solí v kyselém prostředí žaludku a proximální části tenkého střeva, jsou to např. hydrogenfosforečnan sodný, uhličitan sodný, uhličitan vápenatý či citronan sodný. Z kyselých modifikátorů pH, které naopak zvyšují rozpustnost slabě bazických léčiv a jejich solí v oblasti tenkého střeva, jsou to např. kyselina fumarová, kyselina citronová, kyselina jantarová či kyselina askorbová.¹⁹

Výhodou této modifikace je nízké riziko selhání formulace a fakt, že nevyžaduje žádné složitější formulační zařízení. Nevýhodou však představuje nižší snášenlivost a možná toxicita v důsledku tvorby nefyziologického pH.⁴

2.4.3 Micelární solubilizace

Povrchově aktivní látky představují amfifilní molekuly, které snižují povrchové napětí mezi tuhou a kapalnou fází. Jejich použití představuje základní a zároveň nejstarší metodu vedoucí ke zlepšení rozpustnosti ve vodě špatně rozpustných léčiv. Při překročení koncentrace povrchově aktivních látek nad kritickou micelární koncentrací dochází k tvorbě micel, které uzavírají molekuly špatně rozpustných léčiv a zvyšují tak jejich rozpustnost a biologickou dostupnost. Micely prakticky představují nanosystémy povrchově aktivních látek složené z hydrofilní části, která tvoří vnější obal systému a hydrofobní části, která tvoří jeho jádro. Léčivo tak může být v micelle zachyceno různými způsoby v závislosti na jeho charakteru.^{1, 4, 19}

Výhody micelární solubilizace představují již výše zmíněné zvýšení rozpustnosti a biologické dostupnosti. Horší snášenlivost při chronickém podávání, nekontrolovatelné srážení či ovlivnění stability a účinnosti však představují nevýhody spojené s touto metodou.⁴

3 Experimentální část

3.1 Použité suroviny

Čištěná voda – FaF UK

Kandesartan cilexetil

Dodavatel: Zentiva a.s., Česká republika

Neusilin® US2

Výrobce: Fuji Chemical Industry Co., Ltd., Toyama, Japonsko

Tvrdé želatinové tobolky přírodní 00

Výrobce: DACOM Pharma s.r.o., Česká republika

Hydroxid sodný P.A. (NaOH)

Výrobce: Lach-Ner, s.r.o., Česká republika

Dihydrogenfosforečnan draselný čistý (KH₂PO₄)

Výrobce: Ing. Petr Švec – PENTA s.r.o., Česká republika

Kyselina chlorovodíková 35 % P.A. (HCl)

Výrobce: Lach-Ner, s.r.o., Česká republika

Polysorbát 80

Výrobce: Fagron, a.s., Česká republika

Transcutol® HP

Výrobce: Gattefossé, Francie

Aceton P.A. (C₃H₆O)

Výrobce: Ing. Petr Švec – PENTA s.r.o., Česká republika

3.2 Použité přístroje

Analytické váhy

Typ: Entris 224i-1S

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

Laboratorní váhy

Typ: KERN 440-45N

Výrobce: KERN & SOHN GmbH, Německo

Magnetická míchačka vícemístné s ovládáním

Typ: míchačka 2mag MIXdrive 15 a ovládání MIXcontrol eco

Výrobce: 2mag AG, Německo

Magnetická míchačka

Typ: MR 3001

Výrobce: Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Německo

Ultrazvuková lázeň

Typ: Sonorex Super RK 106

Výrobce: Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Německo

pH metr

Typ: HI 221

Výrobce: Hanna Instruments, Rumunsko

Spektrofotometr

Typ: SPECORD® 205

Výrobce: Analytic Jena GmbH, Německo

Mísicí zařízení

Typ: Turbula® T2F

Výrobce: Willy A. Bachhofen AG, Švýcarsko

Disoluční přístroj

Typ: Sotax AT7 Smart

Výrobce: SOTAX AG, Švýcarsko

Zařízení na odběr vzorků (autosampler)

Typ: Sotax C613

Výrobce: SOTAX AG, Švýcarsko

3.3 Použité metody

3.3.1 Příprava liquisolid prášků

Různě koncentrované disperze léčiva se připravily dispergací kandesartanu cilexetilu v rozpouštědle Transcutolu® HP (TC) nebo propylenglykolu (PG) po dobu 24 hodin za stálého míchání za pokojové teploty (*Tabulka č. 3*). Následná příprava liquisolid prášků probíhala několika postupy, které jsou popsány níže. Postup přípravy byl v průběhu experimentu měněn ve snaze zajistit maximální homogenitu finálního liquisolid prášku.

Tabulka č. 3: Složení disperzních systémů pro první a druhý postup

Koncentrace (%)	Léčivo (g)	Rozpouštědlo (g)	Typ rozpouštědla	Disperzní soustava
2,5	0,1	3,9	TC, PG	roztok
5	0,2	3,8	TC, PG	roztok
7,5	0,3	3,7	TC, PG	suspenze
10	0,4	3,6	TC, PG	suspenze
12,5	0,5	3,5	TC, PG	suspenze
25	1,0	3,0	TC	suspenze

3.3.1.1 První postup

Ke 4 g nosiče Neusilinu® US2 se v nerezové třence postupně přidaly za důkladné homogenizace 4 g disperze léčiva kandesartanu cilexetilu. Po promísání se směs následně přesítovala přes síto s velikostí ok 710 µm a na závěr mísila po dobu 10 minut ve tří dimenzionálním mísicím zařízení Turbula® T2F. Liquisolid prášky se následně uchovaly při pokojové teplotě v uzavíratelných plastových sáčcích se zipem nejméně 24 hodin před dalším testováním.

3.3.1.2 Druhý postup

Ke 2 g nosiče Neusilinu[®] US2 se v nerezové třence postupně přidaly za důkladné homogenizace 4 g disperze léčiva kandesartanu cilexetilu. Po řádném promíslení se ke směsi přidal 1 g nosiče Neusilinu[®] US2 a znovu došlo k pečlivé homogenizaci. Na závěr se ke směsi přidal zbývající 1 g nosiče Neusilinu[®] US2 a směs se znovu důsledně promísila. Po promíslení se směs následně přesítovala přes síto s velikostí ok 710 μm a následně mísila po dobu 10 minut ve tří dimenzionálním mísícím zařízení Turbula[®] T2F. Liquisolid prášky se uchovaly při pokojové teplotě v uzavíratelných plastových sáčcích se zipem nejméně 24 hodin před dalším testováním.

3.3.1.3 Třetí postup

Třetí postupu se odlišuje v přípravě disperzních soustav, kdy se použil 1 g acetonu jako technické pomocné látky pro zlepšení rozpustnosti CC. Koncentrace disperzních systémů léčivo-rozpouštědlo byla stejná jako v postupu č. 3. Rozpouštědlem byl Transcutolu[®] HP a celková hmotnost disperzního systému však byla 5 g (*Tabulka č. 4*).

Tabulka č. 4: Složení disperzních systémů pro třetí postup

Koncentrace (%)	Léčivo (g)	Rozpouštědlo (g)	Aceton (g)
12,5	0,5	3,5	1,0
25	1,0	3,0	1,0

Různě koncentrované disperze léčiva se připravily dispergací léčiva kandesartanu cilexetilu v rozpouštědle Transcutolu[®] HP s následným se přidáním 1 g acetonu jako technické pomocné látky po dobu 24 hodin za stálého míchání za pokojové teploty (*Tabulka č. 4*).

Ke 2 g nosiče Neusilinu[®] US2 se v nerezové třence postupně přidalo za důkladné homogenizace 5 g disperze léčiva kandesartanu cilexetilu. Po řádném

promísení se ke směsi přidal 1 g nosiče Neusilinu[®] US2 a znovu došlo k pečlivé homogenizaci. Posléze se ke směsi přidal 1 g nosiče Neusilinu[®] US2 a směs se opět důsledně promísila. Po promísení se směs přesítovala přes síto s velikostí ok 710 μm a na závěr mísila po dobu 10 minut ve tří dimenzionálním mísícím zařízení Turbula[®] T2F. Liquisolid prášky se poté volně ponechaly při pokojové teplotě po dobu 7 dní, aby se zajistilo odpaření acetonu ze systému. Liquisolid prášky se dále uchovaly při pokojové teplotě v uzavíratelných plastových sáčcích se zipem.

3.3.2 Příprava fyzikální směsi

Pro porovnání s LSS a čistým kandesartanem cilexetilem se vybraly tři fyzikální směsi (*Tabulka č. 5*). Ke 4 g nosiče Neusilinu[®] US2 se v nerezové třence přidaly za důkladné homogenizace různé navážky léčiva kandesartanu cilexetilu (*Tabula č. 5*) odpovídající koncentracím disperzních systémů podle *Tabulky č. 1*. Po promísení se směs následně přesítovala přes síto s velikostí ok 710 μm a na závěr mísila po dobu 10 minut ve tří dimenzionálním mísícím zařízení Turbula[®] T2F. Fyzikální směsi se následně uchovaly při pokojové teplotě v uzavíratelných plastových sáčcích se zipem.

Tabulka č. 5: Složení fyzikálních směsí

Koncentrace fyzikální směsi (%)	Koncentrace odpovídajícího disperzního systému (%)	Léčivo (g)	Nosič (g)
2,5	5,0	0,2	4
5,0	10,0	0,4	4
12,5	25,0	1	4

3.3.3 Příprava tobolek

3.3.3.1 Příprava tobolek s čistým kandesartanem cilexetilem

Na analytických vahách se navázilo $8,0 \pm 0,1$ mg čistého kandesartanu cilexetilu, což je množství odpovídající běžné používané dávce. Následně se léčivo kvantitativně vpravilo do tvrdé želatinové tobolky velikosti 00. Takto se jednotlivě připravilo 6 tobolek obsahujících samotné léčivo, které se využily pro stanovení disolučního profilu léčiva.

3.3.3.2 Příprava tobolek s liquisolid práškem

Na analytických vahách se navázilo takové množství liquisolid prášku odpovídající 8,0 mg čistého kandesartanu cilexetilu (*Tabulka č. 6*). Následně se liquisolid prášek kvantitativně vpravil do tvrdé želatinové tobolky velikosti 00. Takto se jednotlivě připravilo 6 tobolek obsahujících liquisolid prášek vyjma přípravy tobolek s liquisolid systémy obsahující 2,5 % a 5 % disperzní systémy. U těchto směsí se s ohledem na větší objem naváženého množství liquisolid prášek kvantitativně vpravil do dvou tvrdých želatinových tobolek velikosti 00, tzn. dvě tobolky představovaly jednu dávku léčiva (8 mg). Z každé směsi se připravilo 6, respektive 12 tobolek, které se využily pro stanovení disolučního profilu léčiva.

Tabulka č. 6: Složení a množství liquisolid prášku odpovídajícího 8,0 mg čistého léčiva kandesartanu cilexetilu

Vzorek	LSS (%)	Typ rozpouštědla	Přídavek acetonu	Postup	Disperzní systém (%)	Množství liquisolid prášku (mg)
TC 1	1,25	TC	Ne	První	2,5	640,0 ± 0,1
PG 1		PG	Ne	Druhý		
TC 2	2,50	TC	Ne	První	5,0	320,0 ± 0,1
PG 2		PG	Ne	Druhý		
TC 3	3,75	TC	Ne	První	7,5	213,3 ± 0,1
PG 3		PG	Ne	Druhý		
TC 4	5,00	TC	Ne	První	10,0	160,0 ± 0,1
PG 4		PG	Ne	Druhý		
TC 5	6,25	TC	Ne	Druhý	12,5	128,0 ± 0,1
PG 5		PG	Ne	Druhý		
TCA 1		TC	Ano	Třetí		
TC 6	12,50	TC	Ne	Druhý	25,0	64,0 ± 0,1
TCA 2		TC	Ano	Třetí		

3.3.3.3 Příprava tobolek s fyzikální směsí

Na analytických vahách se navázilo takové množství fyzikální směsi odpovídající 8,0 mg čistého kandesartanu cilexetilu (Tabulka č. 7). Následně se fyzikální směs kvantitativně vpravila do tvrdé želatinové tobolky velikosti 00. Takto se jednotlivě připravilo 6 tobolek obsahujících fyzikální směs. Z každé směsi se připravilo 6, které se využily pro stanovení disolučního profilu léčiva.

Tabulka č. 7: Množství fyzikální směsi odpovídající 8 g čistého léčiva kandesartanu cilexetilu

Vzorek	Koncentrace fyzikální směsi (%)	Množství fyzikální směsi (mg)
FS 1	2,5	168,0 ± 0,1
FS 2	5,0	88,0 ± 0,1
FS 3	12,5	40,0 ± 0,1

3.3.4 Příprava fosfátového pufru s obsahem polysorbátu 80

Pro přípravu 1000 ml pufru se na analytických vahách odděleně navážilo 6,8 g dihydrogenfosforečnanu draselného a 2,0 g hydroxidu sodného. Obě složky se odděleně kvantitativně převedly do kádinky a rozpustily se ve 250 ml čištěné vody za stálého míchání na magnetické míchačce. Po úplném rozpuštění obou složek se za stálého míchání pomocí automatické pipety přidalo 3,5 ml polysorbátu 80. Po jeho kompletním rozpuštění a doplnění čištěné vody na 900 ml se zkontrolovalo pH pomocí pH metru. K úpravě pH došlo přidáváním 1M roztoku kyseliny chlorovodíkové či hydroxidu sodného, dokud se nedosáhlo požadované hodnoty pH 6,8. Takto upravený pufr se převedl do odměrné baňky o objemu 1000 ml a doplnil čištěnou vodou po rysku na celkových 1000 ml. V posledním kroku přípravy se pufr v odměrné baňce vložil na 15 minut do ultrazvukové lázně a následně se uchovával v lednici.

3.3.5 Obsahová stejnoměrnost liquisolid prášku

Na analytických vahách se navážilo $320,0 \pm 0,1$ mg liquisolid prášku s 5 % disperzním systémem odpovídající 8 mg čistého kandesartanu cilexetilu obsaženého v jedné tobolce (Tabulka č. 6). Toto množství se kvantitativně převedlo do odměrné baňky s objemem 1000 ml a následně doplnilo předem připraveným fosfátovým pufrem o pH 6,8 s obsahem 0,35 % polysorbátu 80 po rysku na celkový objem 1000

ml. Takto připravený roztok se nechal 24 hodin stát při pokojové teplotě za stálého míchání na magnetické míchačce. Celkem se tímto způsobem připravilo 5 vzorků.

Vzorky se vyhodnotili spektrofotometricky za použití spektrofotometru SPECORD® 205. Absorbance se měřila při vlnové délce 254 nm vždy proti slepému vzorku, kterým byl fosfátový pufr o pH 6,8 s obsahem 0,35 % polysorbátu 80. Čisté a naprosto suché křemenné kyvety se postupně plnily všemi roztoky. Měření každého vzorku se opakovalo 3x. Z naměřených hodnot absorbance se nejdříve vypočítal průměr pro každý vzorek a následně za pomoci kalibrační křivky obsah léčiva v liquisolid systému, díky němuž mohla být vyhodnocena účinnost nového postupu přípravy liquisolid prášku ve vztahu k jeho homogenitě.

3.3.6 Hodnocení disoluce

Pro hodnocení rychlosti uvolňování léčiva z liquisolid prášků se použil disoluční přístroj Sotax AT7 Smart v uspořádání s pádly (USP II metoda) s rychlostí otáčení 100 ot./min. Jako disoluční médium se použilo 900 ml fosfátového pufru o pH 6,8 s obsahem 0,35 % polysorbátu 80 předem vytemperovaného na $37 \pm 0,5$ °C. Pro disoluční zkoušku se použilo 6 (případně 12) tobolek obsahující buď samotné léčivo kandesartan cilexetil, liquisolid prášek nebo fyzikální směs. Tobolky se vložily do sinkerů, které mají tobolky držet u dna disoluční nádoby a zabránit tak jejich flotaci na hladině média. V určitých časových intervalech (5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 90 a 120 minut) se za pomoci autosampleru odebralo 5 ml každého vzorku z disoluční nádoby, které se následně nahradily 5 ml čistého disolučního média.

Odebrané vzorky se vyhodnocovaly spektrofotometricky za použití spektrofotometru SPECORD® 205. Absorbance se měřila při vlnové délce 254 nm vždy proti slepému vzorku, kterým byl fosfátový pufr o pH 6,8 s obsahem 0,35 % polysorbátu 80. Z naměřených hodnot absorbance se pro každý vzorek za pomoci kalibrační křivky vypočítalo procentuální množství uvolněného léčiva z liquisolid systému, fyzikální směsi, popřípadě čistého kandesartanu cilexetilu v daném čase.

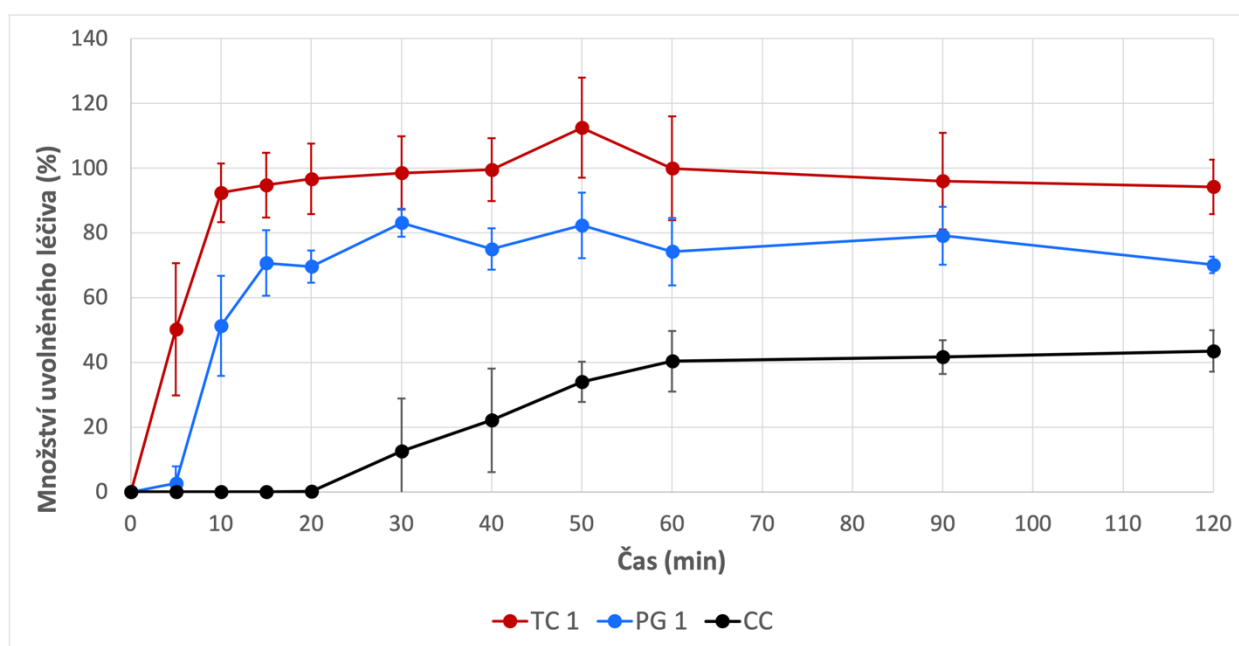
4 Výsledky a diskuse

Cílem této diplomové práce bylo připravit liquisolid systémy s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu ve snaze zvýšit rychlost jeho rozpouštění a tím potencionálně i biologickou dostupnost tohoto léčiva po perorálním podání. Experimentální část diplomové práce se tak zaměřila na přípravu liquisolid systémů s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu v různých koncentracích za použití Transcutolu[®] HP (TC) nebo propylenglykolu (PG) jako netěkavých rozpouštědel (*Tabulka č. 3*) a Neusilinu[®] US2 jako nosného materiálu. Postup přípravy se v průběhu experimentu měnil ve snaze zajistit uspokojivou homogenitu liquisolid prášku. Finální testovanou lékovou formu představovaly tvrdé želatinové tobolky s obsahem liquisolid prášku odpovídající jedné dávce léčiva kandesartanu cilexetilu (8 mg) (*Tabulka č. 6*). Pro porovnání se připravily také tvrdé želatinové tobolky s obsahem čistého kandesartanu cilexetilu odpovídající jedné dávce léčiva (8 mg) a dále tři fyzikální směsi odpovídající obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu vybraným LSS formulacím (2,50 %, 5,00 % a 12,50 %) (*Tabulka č. 7*), které se též vpravily do tvrdých želatinových tobolek v dávce odpovídající 8 mg léčiva. Vzniklé tobolky se následně podrobily disoluční zkoušce pro stanovení disolučního profilu léčiva.

4.1 Hodnocení disolučního profilu liquisolid systémů v porovnání s čistým léčivem

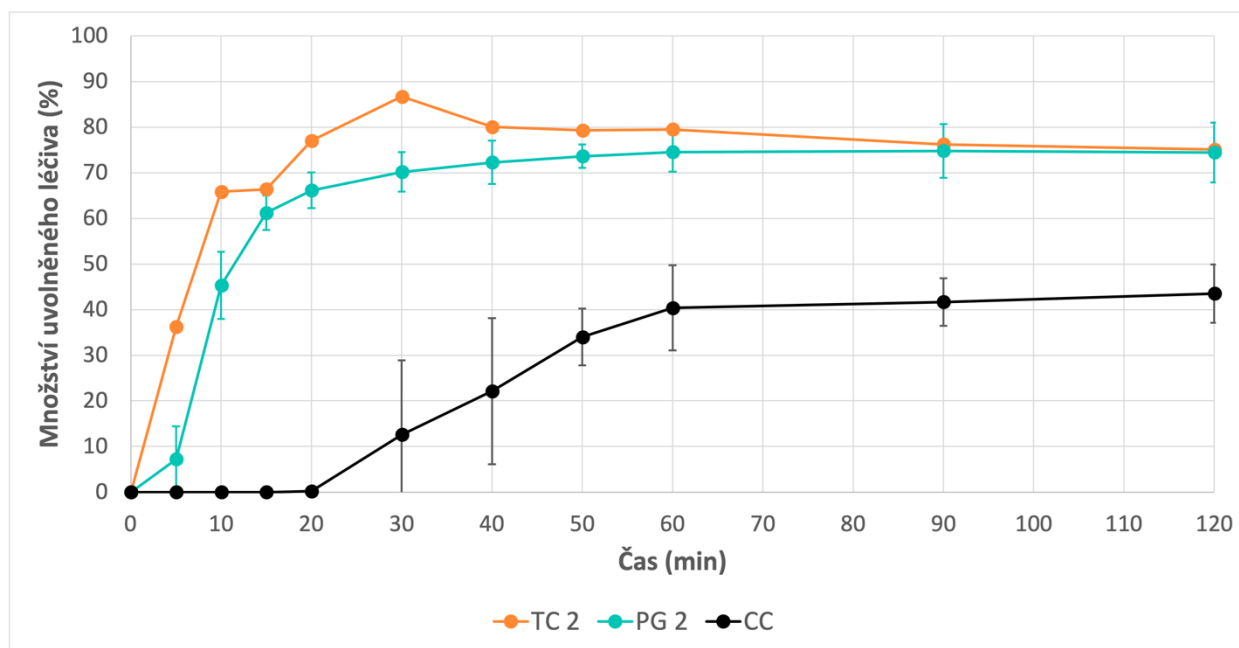
Na *Obrázku č.5* jsou znázorněné disoluční profily 1,25 % LSS s obsahem disperze léčiva v TC a PG v porovnání s čistým CC. LSS s obsahem TC byly připraveny prvním postupem, zatímco LSS s obsahem PG vznikaly později druhým postupem, protože se zjistilo, že u disperzí s vyšší koncentrací léčiva (5 % a více) dochází prvním postupem k nerovnoměrnému rozprostření léčiva ve směsi. Postup přípravy by však neměl mít zásadní vliv na rychlost uvolňování léčiva, a tedy na celkový průběh disoluce, avšak může se projevit velikostí směrodatných odchylek. Ty vypovídají o rozdílném zastoupení léčiva v jednotlivých tobolkách a s tím spojené nehomogenitě připraveného LSS.

V případě čistého CC se uvolnilo po dvou hodinách testování pouze 43,51 %. Uvolňování léčiva z tobolky navíc bylo zpožděno o přibližně 20 minut, což může souviset s horší smáčivostí hydrofobního CC. Rychlost uvolňování CC z LSS oproti jeho čisté formě se tak v obou případech znatelně zrychlila. Ze vzorku TC 1 se v prvních dvaceti minutách uvolnilo téměř o 96 % více léčiva a ze vzorku PG 1 téměř o 69 % více než v případě čistého CC (Obrázek č. 5). Na konci experimentu se pak množství uvolněného CC z LSS oproti jeho čisté formě lišilo v rámci vzorku TC 1 o zhruba 51 % a u vzorku PG 1 o přibližně 27 % v obou případech ve prospěch LSS. U vzorku PG 1 bylo možné pozorovat určitý lagtime, kdy se léčivo začalo uvolňovat až po 5 minutách. Tento jev může být vysvětlen interakcí mezi PG a stěnou želatinové tobolky, jak ukázala diplomová práce Ladislavy Helerové⁵³. Tato interakce pravděpodobně vede k pomalejšímu rozpadu tobolky, a tedy i opožděnému uvolňování léčiva. Rovněž maximální uvolnění léčiva z LSS s obsahem PG bylo nižší v porovnání s LSS s obsahem TC. Toto zjištění může naznačovat také interakce disperze léčiva s nosičem Neusilin® US2, které mohou bránit kompletnímu uvolnění léčiva.⁵³



Obrázek č. 5: Disoluční profil 1,25 % LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu (TC 1 a PG 1) v porovnání s čistým kandesartanem cilexetilem (CC)

Na *Obrázku č. 6* jsou znázorněné disoluční profily 2,50 % LSS v porovnání s čistým CC. Velké směrodatné odchylky (*Tabulka č. 8*) u vzorku TC 2 lze přikládat, jak již bylo zmíněno výše, použitému postupu souvisejícímu s nedostatečnou homogenitou liquisolid prášku. Uvolňování léčiva z LSS oproti jeho čisté formě bylo, stejně jako v případě 1,25 % LSS, výrazně rychlejší. Ze systému TC 2 se v prvních dvaceti minutách uvolnilo o přibližně 77 % více léčiva a ze vzorku PG 2 téměř o 66 % více CC než z tobolek obsahujících pouze čistý CC (*Obrázek č. 6*). Po dvou hodinách testování se pak množství uvolněného CC z LSS oproti jeho čisté formě lišilo v kontextu vzorku TC 2 o zhruba 32 % a v rámci systému PG 2 o asi 31 % v obou případech ve prospěch LSS. U vzorku PG 2 je možné opět pozorovat jisté zpoždění v uvolňování, nicméně prvotní uvolnění léčiva po 5 minutách je lehce vyšší než v případě vzorku PG 1. To může souviset s nižším množstvím PG v LSS, a tudíž i nižší mírou interakcí s želatinovou tobolkou. Finální množství uvolněného léčiva bylo v případě obou LSS srovnatelné, a tudíž zde nedošlo k potvrzení hypotézy o interakcích disperze léčiva a nosiče, které by vedly k neúplnému uvolňování CC.



Obrázek č. 6: Disoluční profil 2,50 % LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu (TC 2 a PG 2) v porovnání s čistým kandesartanem cilexetilem (CC)

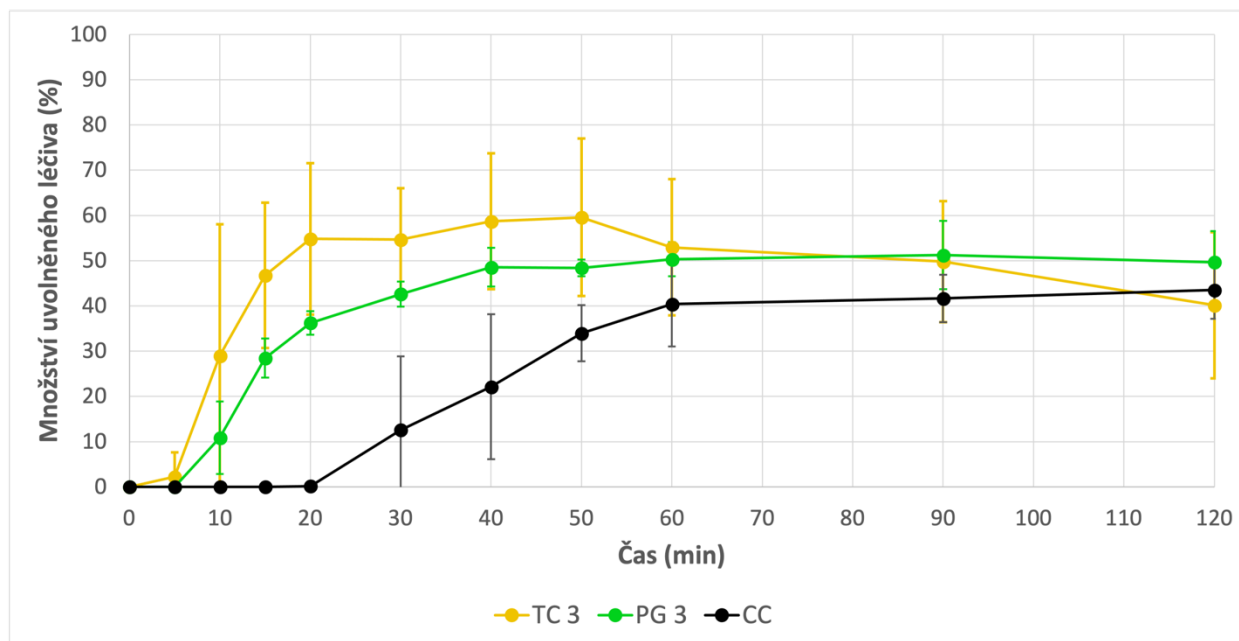
Tabulka č. 8: Množství CC uvolněného z 2,50 % LSS (TC 2 a PG 2) a množství uvolněného čistého CC (CC)

Min	TC 2		PG 2		CC	
	Avg (%)	SD* (%)	Avg (%)	SD* (%)	Avg (%)	SD* (%)
0	0	0	0	0	0	0
5	36,26	40,30	7,21	7,18	0	0
10	65,83	67,23	45,29	7,37	0	0
15	66,38	71,14	61,23	6,80	0	0
20	76,99	68,88	66,14	3,92	0,17	0,42
30	86,69	75,35	70,16	4,34	12,60	16,25
40	80,06	70,58	72,26	4,75	22,13	16,01
50	79,28	68,59	73,62	2,56	33,96	6,22
60	79,50	71,26	74,52	4,31	40,39	9,34
90	76,20	69,51	74,78	5,87	41,67	5,23
120	75,08	68,40	74,45	6,54	43,51	6,37

Na *Obrázku č. 7* jsou znázorněné disoluční profily pro 3,75 % LSS v porovnání s čistým CC. Uvolňování léčiva z LSS bylo, stejně jako v případech 1,25 % a 2,50 %, rychlejší než z tobolek obsahujících pouze čistý CC. Ze vzorku TC 3 se v prvních dvaceti minutách uvolnilo o přibližně 55 % více léčiva a ze systému PG 3 pak o asi 36 % více než v případě čistého CC (*Obrázek č. 7*). Na konci experimentu se pak množství uvolněného CC z LSS oproti jeho čisté formě lišilo v rámci vzorku TC 3 o zhruba 3 % ve prospěch čistého léčiva a u vzorku PG 3 o asi 6 % avšak ve prospěch LSS. Neúplné uvolnění léčiva je v tomto případě spojeno pravděpodobně s formou adsorbované disperze, kdy již nebylo možné v ani jednom z rozpouštědel rozpustit 7,50 % CC. Podobný trend popisuje také studie Anzilago et al.⁵⁴, která se zabývala vlivem stavu adsorbovaného léčiva, tedy zda se jedná o roztok či suspenzi, na rychlost uvolnění simvastatinu z LSS. Z této studie vyplývá, že v případě, kdy je

léčivo plně rozpuštěno v netěkavém rozpouštědle, dochází k jeho většímu uvolnění ze systému než v případě suspenze tohoto léčiva.⁵⁴

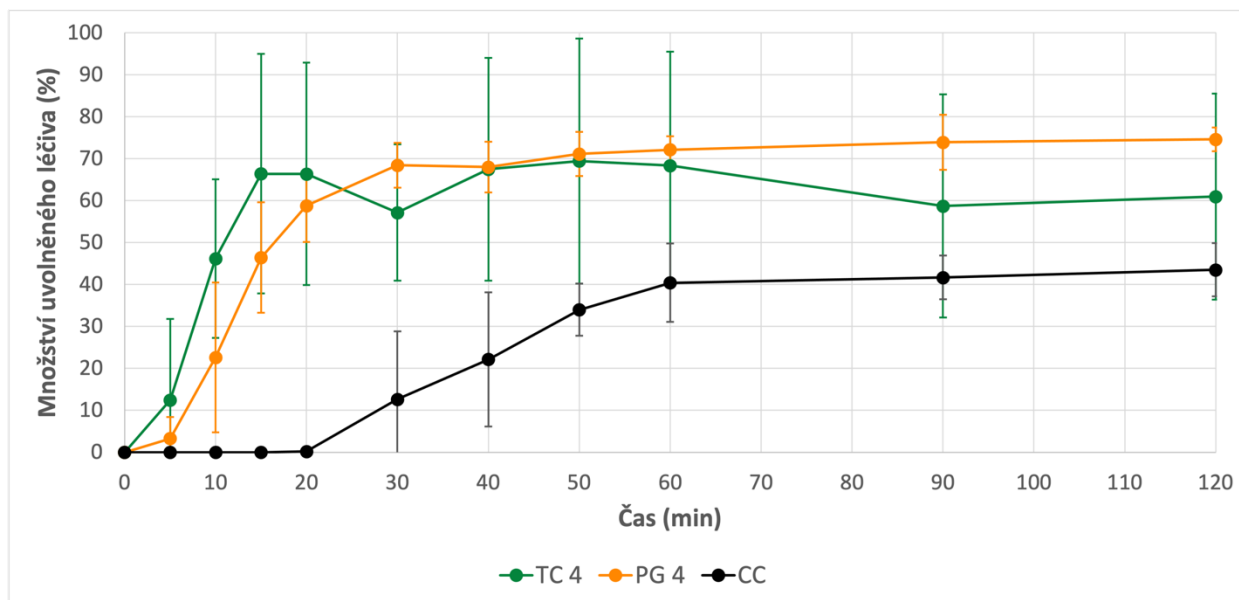
U obou připravených LSS je navíc možné pozorovat jistý lagtime, kdy se během prvních 5 minut uvolnilo jen zanedbatelné množství CC, což pravděpodobně také souvisí s typem adsorbované disperze.



Obrázek č. 7: Disoluční profil 3,75 % LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu (TC 3 a PG 3) v porovnání s čistým kandesartanem cilexetilem (CC)

Na Obrázku č. 8 jsou znázorněné disoluční profily 5,00 % LSS v porovnání s čistým CC. Velké směrodatné odchylky u vzorku TC 4 lze přisuzovat použitému postupu, a tedy nedostatečné homogenitě liquisolid prášku. Co se týká uvolňování léčiva z LSS oproti jeho čisté formě, tak bylo, stejně jako v předchozích případech, výrazně rychlejší. Ze vzorku TC 4 se v prvních dvaceti minutách uvolnilo o zhruba 66 % více léčiva a ze systému PG 4 pak o přibližně 59 % více CC (Obrázek č. 8). Po dvou hodinách experimentu se pak množství uvolněného CC z LSS oproti jeho čisté formě lišilo u vzorku TC 4 o asi 17 % a v rámci systému PG 4 o přibližně 31 % v obou případech ve prospěch LSS. Maximální množství

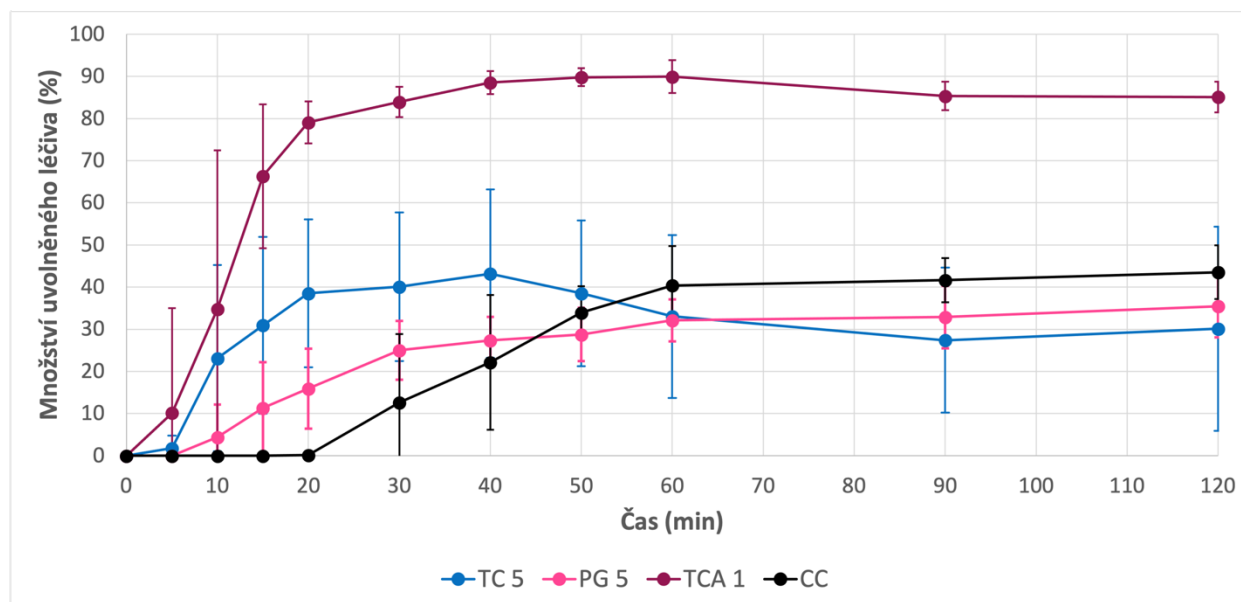
uvolněného CC je v případě obou LSS srovnatelné, avšak stejně jako v případě TC 3 a PG 3 neúplné, což pravděpodobně souvisí s použitým typem disperze, jak již bylo diskutováno výše.



Obrázek č. 8: Disoluční profil 5,00 % LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu (TC 4 a PG 4) v porovnání s čistým kandesartanem cilexetilem (CC)

Na Obrázku č. 9 jsou znázorněné disoluční profily 6,25 % LSS v porovnání s čistým CC. Z výsledků je patrné, že se léčivo uvolňovalo ze všech LSS rychleji v porovnání s čistým CC. Ze systému TC 5 se v prvních dvaceti minutách uvolnilo o asi 38 % více léčiva, ze systému PG 5 o téměř 16 % více CC než v případě samotného CC (Obrázek č. 9). Na konci experimentu se však množství uvolněného CC z LSS oproti jeho čisté formě lišilo u vzorku TC 5 o zhruba 13 %, v rámci systému PG 5 o asi 8 % avšak v obou těchto případech ve prospěch čistého CC. V případě TC 5 je od 40 minuty navíc patrný pokles koncentrace léčiva v disolučním médiu, což může být spojeno s jeho precipitací. Ta může být následkem rychlého uvolnění léčiva v prvních minutách testování. Při zvýšení koncentrace léčivé látky nad rovnovážnou rozpustnost léčiva dochází k tvorbě přesyceného roztoku. Léčiva jsou však při vysokých koncentracích termodynamicky nestabilní a mají tendenci se srážet, což vede ke snížení jejich hladiny v médiu.^{55, 56} Rychlejší uvolňování CC z LSS v počátku

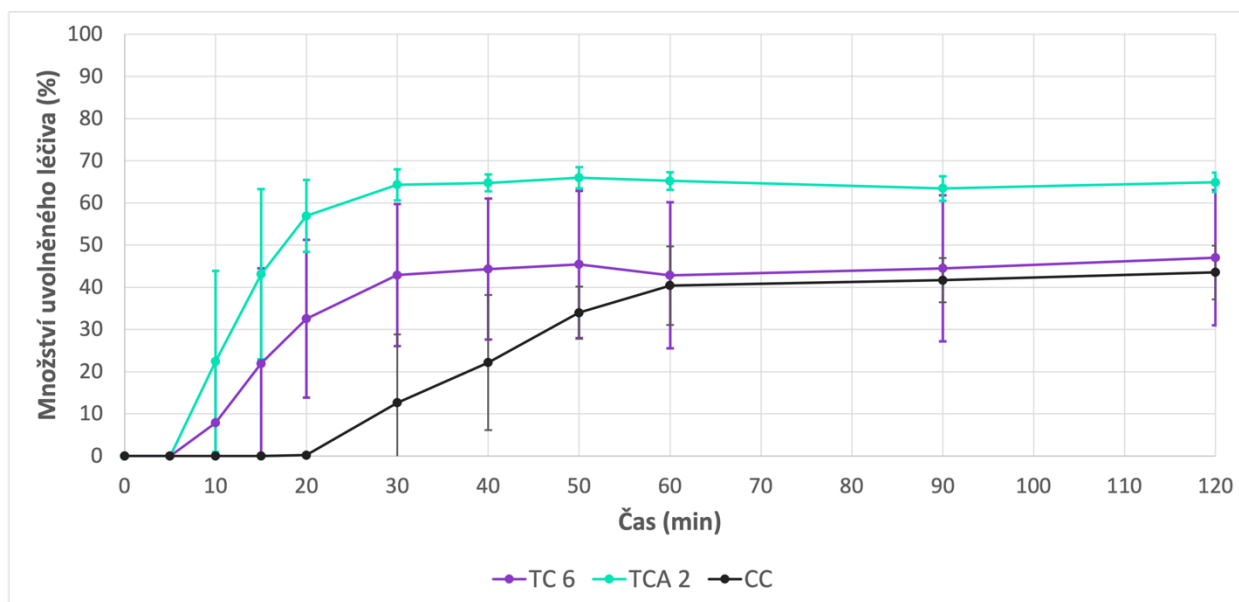
disolučního testu je tedy pravděpodobně zapříčiněno uvolněním CC, který byl v disperzi rozpuštěn. Nicméně následné zpomalení uvolňování je pak zapříčiněno neochotným rozpouštěním CC, který byl v disperzi suspendován, a také možnou precipitací léčiva v disolučním médiu.



Obrázek č. 9: Disoluční profil 6,25 % LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu (TC 5, PG 5 a TCA 1) v porovnání s čistým kandesartanem cilexetilem (CC)

Použití acetonu jako technické pomocné látky během přípravy LSS vedla k dalšímu zrychlení uvolňování CC z LSS (Obrázek č. 9). Navíc bylo u vzorku TCA 1 během disolučního testu pozorováno i kompletní uvolnění léčiva. Tyto výsledky jsou v rozporu se studií Vraníkové a kol.⁵⁷, kde použití acetonu a methanolu nemělo vliv na rychlost ani míru uvolněného léčiva celecoxibu. Tento rozpor může být spojen s typem disperze, kde v případě celecoxibu byly použity roztoky léčiva v netěkavém rozpouštědle, ale v případě CC byla původní disperzí suspenze.⁵⁷ Přídavek acetonu, tak vedl k rozpuštění většího množství CC, který mohl zůstat v rozpuštěné či amorfní podobě i po odpaření použitého acetonu. To pak následně mohlo vést k rychlejšímu a kompletnímu uvolnění léčiva z LSS.

V případě 12,50 % LSS (Obrázek č. 10) bylo opět pozorováno rychlejší uvolňování CC v porovnání se samotným léčivem. LSS TC 6 vykazovaly obdobně jako LSS TC 5 neúplné uvolnění léčiva, které bylo na konci disolučního testu srovnatelné s množstvím léčiva uvolněného z tobolek naplněných pouze samotným CC. Použití acetonu vedlo i v případě vzorku TCA 2 ke zrychlení uvolňování léčiva, avšak i zde bylo množství uvolněného léčiva nekompletní, nicméně vyšší než v případě tradičního LSS TC 6 (max. $65,99 \pm 2,53$ % uvolněného CC v případě vzorku TCA 2). Toto nekompletní uvolnění léčiva může souviset s vyšším zastoupením CC v systému, a tedy jeho horším rozpouštěním v netěkavém rozpouštědle i směsi netěkavého a těkavého rozpouštědla.

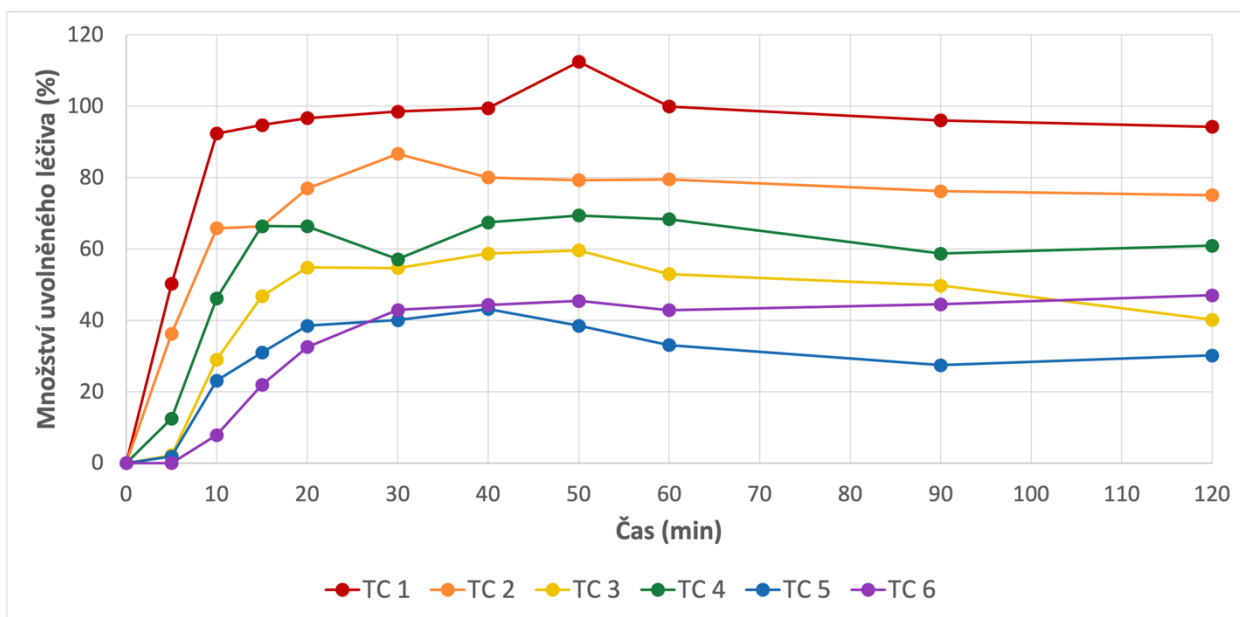


Obrázek č. 10: Disoluční profil 12,50 % LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu (TC 6 a TCA 2) v porovnání s čistým kandesartanem cilexetilem (CC)

4.2 Hodnocení disolučního profilu liquisolid systémů v závislosti na koncentraci léčiva v disperzi

Na Obrázku č. 11 jsou znázorněny disoluční profily LSS s obsahem TC jako netěkavého rozpouštědla, které se lišily koncentrací léčiva v adsorbované disperzi, a

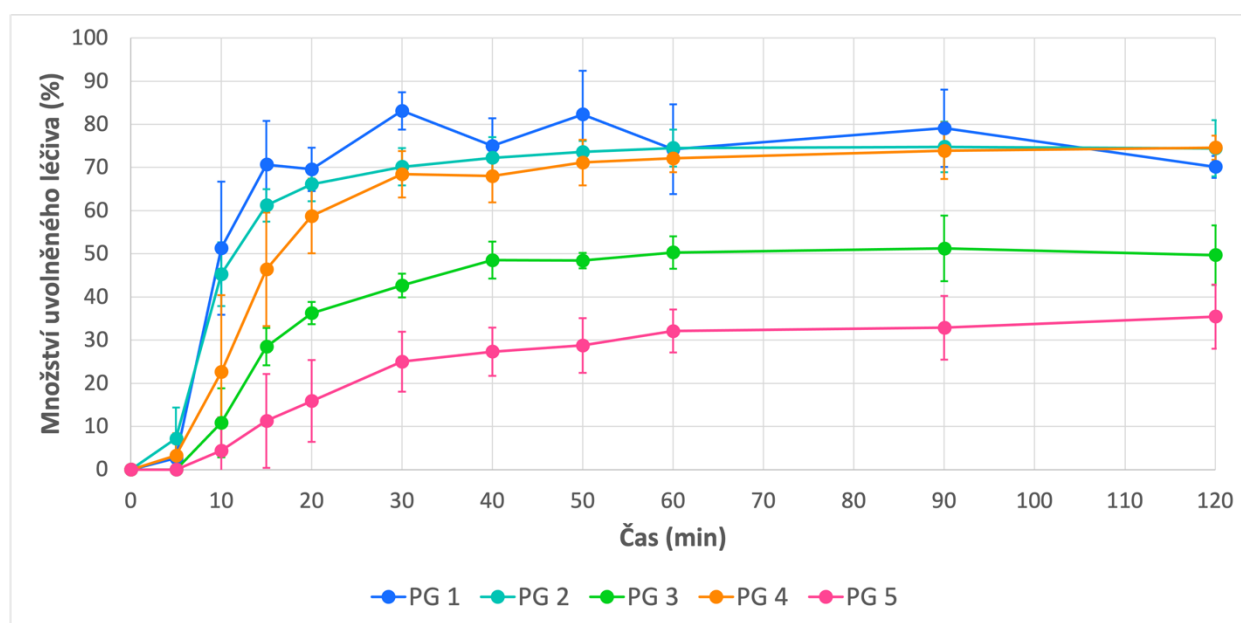
tudíž i jejím typem (roztok vs suspenze). Nejrychleji se CC uvolňoval ze systému TC 1, kde se v prvních pěti minutách uvolnilo $50,21 \pm 20,43$ % léčiva. Po deseti minutách se z tohoto systému uvolnilo $92,39 \pm 9,03$ % léčiva a po šedesáti minutách téměř 100 %. Naopak nejpomaleji se CC uvolňoval ze vzorku TC 6, kdy se v prvních deseti minutách uvolnilo pouze $7,85 \pm 14,90$ % léčiva a nejvyšší množství uvolněného CC se zaznamenalo po dvou hodinách, tj. $47,01 \pm 15,99$ % CC. S ohledem na *Obrázek č. 11* lze říci, že se vzrůstající koncentrací CC v LSS dochází s výjimkou 5 % LSS ke zpomalení uvolňování kandesartanu cilexetilu ze systému. Tento trend souvisí s typem disperze, kde se v případě použití roztoku léčivo uvolňovalo rychleji než v případě adsorbované suspenze (*Tabulka č. 6*). Navíc, čím více nerozpuštěného léčiva se v systému vyskytuje, tím pomaleji dochází k jeho uvolňování ze systému.



Obrázek č. 11: Disoluční profil LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu za použití Transcutolu® HP

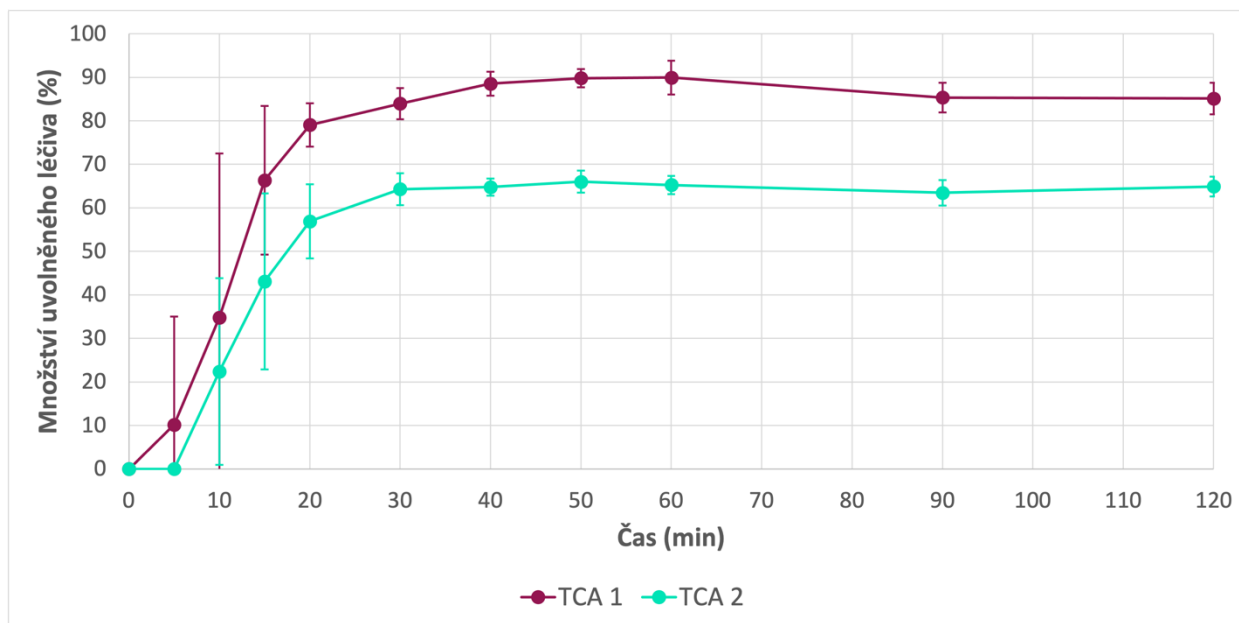
Na *Obrázku č. 12* jsou znázorněny disoluční profily LSS využívající jako rozpouštědlo PG, které se, stejně jako v předchozím případě, lišily koncentrací léčiva v adsorbované disperzi, a tudíž i jejím typem (roztok vs suspenze). Nejrychleji se CC uvolňoval ze vzorku PG 1, kde se v prvních deseti minutách uvolnilo $51,30 \pm 15,43$ %

léčiva a po třiceti minutách to bylo $83,13 \pm 4,34$ % CC. Nejpomaleji se naopak CC uvolňoval ze vzorku PG 5, kdy se v prvních třiceti minutách uvolnilo $24,99 \pm 6,97$ % léčiva a nejvyšší množství uvolněného se zaznamenalo po dvou hodinách, tj. $35,45 \pm 7,41$ %. S ohledem na *Obrázek č. 12* lze konstatovat, že se vzrůstající koncentrací CC v LSS dochází ke zpomalení uvolňování kandesartanu cilexetilu ze systému.



Obrázek č. 12: Disoluční profil LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu za použití propylenglykolu

Na *Obrázku č. 13* jsou znázorněny disoluční profily LSS s obsahem TC v kombinaci s těkavým acetonem, které se, stejně jako v předchozích případech, lišily koncentrací léčiva v adsorbované disperzi. Nejrychleji se CC uvolňoval ze vzorku TCA 1, kde se po prvních patnácti minutách uvolnilo $66,33 \pm 17,07$ % léčiva oproti vzorku TCA 2, kde se po stejném časovém úseku uvolnilo $43,11 \pm 20,21$ % léčiva. Po šedesáti minutách se pak ze systému TCA 1 uvolnilo téměř $89,93 \pm 3,89$ % CC a ze systému TCA 2 to bylo $65,24 \pm 2,08$ % léčiva. Stejně jako v předchozích dvou případech lze s ohledem na *Obrázek č. 13* konstatovat, že se zvyšující se koncentrací CC v disperzi klesá rychlost uvolňování CC ze systému.

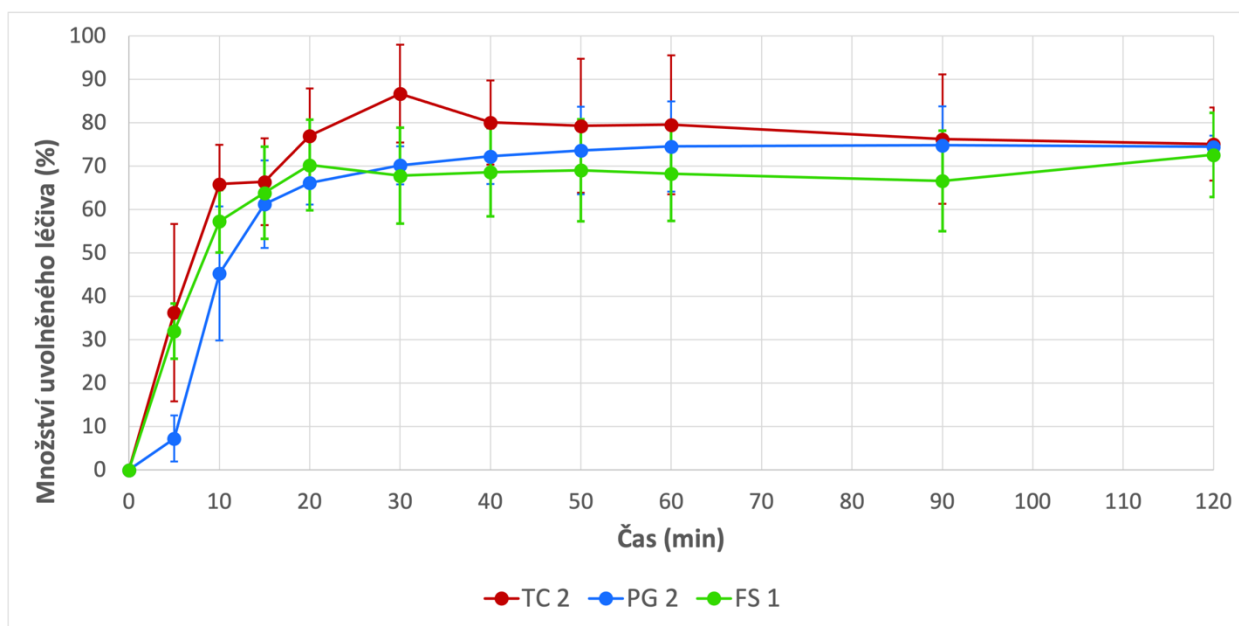


Obrázek č. 13: Disoluční profil LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu za použití Transcutolu® HP a acetonu jako pomocné technické látky

4.3 Hodnocení disolučního profilu liquisolid systémů v porovnání s fyzikální směsí

Na Obrázku č. 14 jsou znázorněné disoluční profily 2,50 % LSS v porovnání s odpovídající fyzikální směsí FS 1. Rychlost uvolňování CC z LSS oproti FS 1 byla srovnatelná, respektive z LSS TC 2 se v prvních dvaceti minutách uvolnilo $76,99 \pm 68,88$ % léčiva, ze systému PG 2 $66,14 \pm 3,92$ % a ze vzorku FS 1 $70,24 \pm 10,42$ % CC. Na konci experimentu se pak množství uvolněného CC z LSS oproti FS 1 lišilo v rámci vzorku TC 2 o zhruba 3 % a u vzorku PG 2 o téměř 2 % v obou případech ve prospěch LSS (Obrázek č. 14). Rychlé uvolňování léčiva z fyzikální směsi lze vysvětlit lepší dispergací léčiva, a tudíž jeho lepší smáčivostí disolučním médiem. V systému nosič-léčivo navíc může docházet ke vzniku interakcí mezi krystalickým léčivem kandesartanem cilexetilem¹⁶ a amorfním nosičem Neusilinem® US2, což je látka s vysokou pórovitostí a velkým specifickým povrchem.⁵⁸ Mezi CC a Neusilinem® US2 tak může během přípravy fyzikální směsi docházet k několika jevům jako jsou např. fyzikální adsorpce částic léčiva na povrch

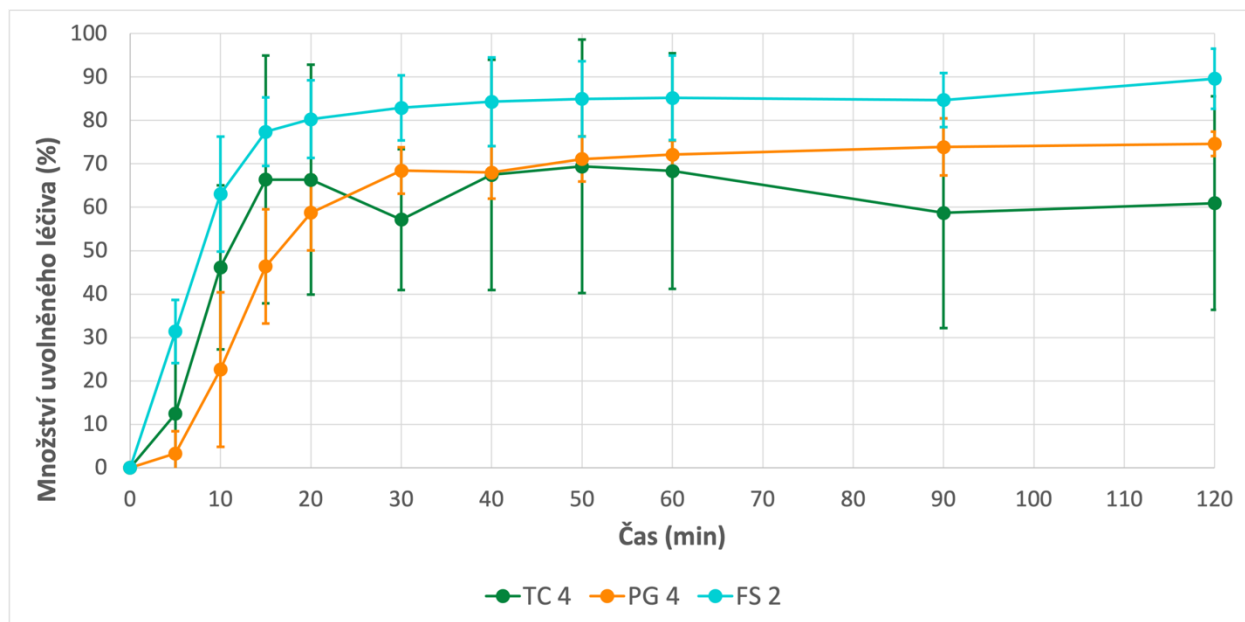
nosiče prostřednictvím působení van der Waalsových sil, slabé chemické vazby mezi léčivem a nosičem prostřednictvím vodíkových můstků či amorfizace. Tyto jevy vedou ke změně fyzikálně-chemických vlastností léčiva jako je právě rozpustnost.⁵⁹ Navíc jak již bylo zmíněno, amorfní pevné látky mají vyšší rozpustnost a rychlost rozpouštění v porovnání s krystalickými látkami.^{60, 61} Použití amorfní fáze tak může vést ke zrychlení uvolňování ve vodě špatně rozpustných léčiv.⁶²



Obrázek č. 14: Disoluční profil 2,50 % LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu (TC 2 a PG 2) v porovnání s odpovídající fyzikální směsí (FS 1)

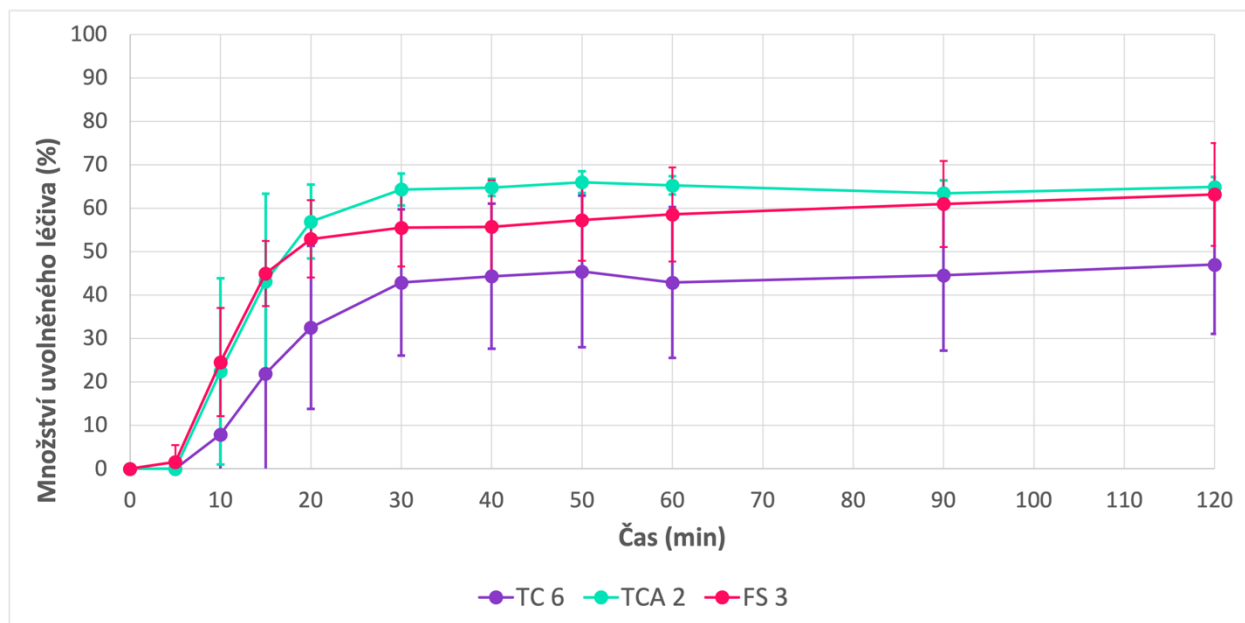
Na Obrázku č. 15 jsou znázorněné disoluční profily 5,00 % LSS v porovnání s odpovídající fyzikální směsí FS 2. Rychlost uvolňování CC z LSS byla v porovnání s FS 2 nižší, a i celkové množství uvolněného CC bylo po dvou hodinách testování menší. Ze systému TC 4 se v prvních dvaceti minutách uvolnilo $66,36 \pm 26,50$ % léčiva, ze systému PG 4 $58,76 \pm 8,67$ % a ze vzorku FS 2 $80,30 \pm 8,94$ % CC. Na konci experimentu se pak množství uvolněného CC z LSS oproti FS 2 lišilo v rámci vzorku TC 4 o přibližně 29 % a u vzorku PG 2 o téměř 15 % v obou případech ve prospěch FS 2 (Obrázek č. 15). Jak již bylo zmíněno, neúplné uvolnění léčiva z LSS je spojeno pravděpodobně s formou adsorbované disperze, kterou v tomto případě představovala

suspenze. Rychlost uvolňování CC z FS 2 by pak mohla souviset s výše zmíněnou interakcí mezi léčivem a nosičem.



Obrázek č. 15: Disoluční profil 5,00 % LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu (TC 4 a PG 4) v porovnání s odpovídající fyzikální směsí (FS 2)

Na *Obrázku č. 16* jsou znázorněny disoluční profily 12,50 % LSS v porovnání s odpovídající fyzikální směsí FS 3. I v tomto případě FS 3 vykazovala srovnatelnou, respektive vyšší rychlost uvolňování CC ze směsi v porovnání s LSS. Ze vzorku TC 6 se v prvních dvaceti minutách uvolnilo $32,54 \pm 18,74$ % léčiva, ze systému TCA 2 $56,92 \pm 8,51$ % a ze vzorku FS 3 $52,90 \pm 8,90$ % CC. Po dvou hodinách testování se pak množství uvolněného CC z LSS oproti FS 3 lišilo v rámci vzorku TC 6 o asi 16 % ve prospěch FS 3 a u vzorku TCA 2 o téměř 2 % ve prospěch LSS (*Obrázek č. 16*). Lze tedy konstatovat, že fyzikální směsi vykazovaly ve všech třech případech obdobné chování. Nekompletní uvolnění léčiva pak může znovu souviset s vyšším zastoupením CC v systému.



Obrázek č. 16: Disoluční profil 12,50 % LSS s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu (TC 6 a TCA 2) v porovnání s odpovídající fyzikální směsí (FS 3)

5 Závěr

Tato práce se zaměřila na přípravu liquisolid systémů s obsahem léčiva kandesartanu cilexetilu ve snaze zvýšit jeho rychlost rozpouštění, respktive rychlost uvolňování. Liquisolid prášková směs byla tvořena léčivem v různých koncentracích za použití netěkavého rozpouštědla Transcutolu® HP nebo propylenglykolu a nosičem Neusilinem® US2. Směs se následně vpravila do tvrdých želatinových tobolek, které se podrobily disoluční zkoušce pro stanovení rychlosti uvolňování léčiva ze systému.

Výsledky hodnocení ukázaly, že téměř všechny liquisolid systémy vedly ke zvýšení rychlosti uvolňování kandesartanu cilexetilu v porovnání s jeho čistou formou. Velkou roli v tomto případě hrál typ adsorbované disperze (roztok nebo suspenze), kde se vzrůstající koncentrací léčiva klesala rychlost jeho uvolňování ze systému. Některé systémy navíc vykazovaly nekompletní uvolnění léčiva, které může souviset právě s vyšším zastoupením nerozpuštěného kandesartanu cilexetilu v systému. Výrazný vliv na tuto rychlost měl pak navíc aceton, který byl využit jako technická pomocná látka a jehož přídavek vedl k dalšímu rozpuštění kandesartanu cilexetilu v disperzi, což vedlo k rychlejšímu uvolnění léčiva z liquisolid systému.

Při porovnání liquisolid práškových směsí s fyzikálními směsmi bylo zjištěno, že liquisolid systémy vykazovaly srovnatelnou rychlost uvolňování léčiva ze systému. Toto může být vysvětleno rozptýlením kandesartanu cilexetilu v systému, a tím zlepšením jeho smáčivosti, či možnou interakcí mezi nosičem Neusilinem® US2 a kandesartanem cilexetilem, jež vedla ke zvýšení rozpustnosti léčiva.

Na základě zjištěných výsledků lze konstatovat, že liquisolid systémy představují inovativní řešení špatné rozpustnosti a rychlosti uvolňování kandesartanu cilexetilu, nicméně je potřeba dalšího testování této formulace hlavně ve vztahu k nalezení optimálního rozpouštědla pro převedení léčiva do jeho kapalné formy a postupu při zpracování liquisolid systémů vzhledem k problémům s homogenitou tohoto prášku.

6 Seznam použité literatury

- 1 Savjani, Ketan T., Anuradha K. Gajjar, and Jignasa K. Savjani. "Drug solubility: importance and enhancement techniques." *International Scholarly Research Notices* **2012(1)** (2012): 195727.
- 2 Kulkarni, Ajit S., et al. "Liquisolid systems: a review." *International journal of pharmaceutical sciences and nanotechnology* **3(1)** (2010): 795-802.
- 3 Gajdziok, J. a Vraníková, B. Zvyšování biologické dostupnosti léčiv pomocí formulace liquisolid systémů. *Česká a slovenská farmacie číslo 3*, 64, 55-66 (2015). ISSN 1803-6597
- 4 Ainurofiq, Ahmad, et al. "A review on solubility enhancement methods for poorly water-soluble drugs." *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences* **10(1)** (2021): 137-147.
- 5 Stielow, Marlina, et al. "The bioavailability of drugs—the current state of knowledge." *Molecules* **28(24)** (2023): 8038.
- 6 Samineni, Ramu, Jithendra Chimakurthy, and Sathish Konidala. "Emerging role of biopharmaceutical classification and biopharmaceutical drug disposition system in dosage form development: A systematic review." *Turkish journal of pharmaceutical sciences* **19(6)** (2022): 706.

- 7 See, Sharon, and Alexandra L. Stirling. "Candesartan cilexetil: an angiotensin II-receptor blocker." *American journal of health-system pharmacy* **57(8)** (2000): 739-746.
- 8 Gašanin, Edis, et al. "Effects of combination of AT1-antagonist candesartan cilexetil and ACE-inhibitors in patients with congestive heart failure." *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo* **141(1-2)** (2013): 29-34.
- 9 Gleiter, Christoph H., et al. "Candesartan." *Cardiovascular drug reviews* **22(4)** (2004): 263-284.
- 10 Poudel, Surendra, and Dong Wuk Kim. "Developing pH-modulated spray dried amorphous solid dispersion of candesartan cilexetil with enhanced in vitro and in vivo performance." *Pharmaceutics* **13(4)** (2021): 497.
- 11 Gleiter, Christoph H., and Klaus E. Mörike. "Clinical pharmacokinetics of candesartan." *Clinical pharmacokinetics* **41** (2002): 7-17.
- 12 Gurunath, S., Baswaraj K. Nanjwade, and P. A. Patila. "Enhanced solubility and intestinal absorption of candesartan cilexetil solid dispersions using everted rat intestinal sacs." *Saudi Pharmaceutical Journal* **22(3)** (2014): 246-257.
- 13 Kassem, Imad, et al. "Population pharmacokinetics of candesartan in patients with chronic heart failure." *Clinical and Translational Science* **14(1)** (2021): 194-203.

- 14 Nekkanti, Vijaykumar, et al. "Development and characterization of solid oral dosage form incorporating candesartan nanoparticles." *Pharmaceutical development and technology* **14(3)** (2009): 290-298.
- 15 Aly, Usama Farghaly, et al. "Applying different techniques to improve the bioavailability of candesartan cilexetil antihypertensive drug." *Drug Design, Development and Therapy* (2020): 1851-1865.
- 16 Malkawi, Ruba, et al. "Current trends on solid dispersions: past, present, and future." *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences* 2022.1 (2022): 5916013.
- 17 Wani, Shahid Ud Din, et al. "Enhancing therapeutic potential of poor aqueous soluble herbal drugs through solid dispersion-An overview." *Phytomedicine Plus* **1(4)** (2021): 100069.
- 18 Zhang, Xingwang, et al. "Pharmaceutical dispersion techniques for dissolution and bioavailability enhancement of poorly water-soluble drugs." *Pharmaceutics* **10(3)** (2018): 74.
- 19 Vraníková Barbora a Gajdziok Jan. Metody používané ve farmaceutické technologii ke zvyšování biologické dostupnosti špatně rozpustných léčiv po perorálním podání. *Česká a slovenská farmacie*. 2015, **64(5)**, 159-172.
- 20 Emami, Fakhrossadat, et al. "Drying technologies for the stability and bioavailability of biopharmaceuticals." *Pharmaceutics* **10(3)** (2018): 131.

- 21 Nowak, Dorota, and Ewa Jakubczyk. "The freeze-drying of foods—The characteristic of the process course and the effect of its parameters on the physical properties of food materials." *Foods* **9(10)** (2020): 1488.
- 22 Jakubowska, Emilia, and Janina Lulek. "The application of freeze-drying as a production method of drug nanocrystals and solid dispersions—a review." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* **62** (2021): 102357.
- 23 Bhujbal, Sonal V., et al. "Pharmaceutical amorphous solid dispersion: A review of manufacturing strategies." *Acta Pharmaceutica Sinica B* **11(8)** (2021): 2505-2536.
- 24 Detroja, Chetan, Sandip Chavhan, and Krutika Sawant. "Enhanced antihypertensive activity of candesartan cilexetil nanosuspension: formulation, characterization and pharmacodynamic study." *Scientia pharmaceutica* **79(3)** (2011): 635.
- 25 Jassim, Zainab E., and Nawal A. Rajab. "Review on preparation, characterization, and pharmaceutical application of nanosuspension as an approach of solubility and dissolution enhancement." *J Pharm Res* **12** (2018): 771-774.
- 26 Patel, Vishal R., and Y. K. Agrawal. "Nanosuspension: An approach to enhance solubility of drugs." *Journal of advanced pharmaceutical technology & research* **2(2)** (2011): 81-87.
- 27 Garkal, Atul, et al. "Nanosuspensions in Treatment of Tuberculosis." *Tubercular Drug Delivery Systems: Advances in Treatment of Infectious Diseases*. Cham: Springer International Publishing, 2023. 189-205.

- 28 Ahmadi Tehrani, Ali, et al. "Formation of nanosuspensions in bottom-up approach: theories and optimization." *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* **27** (2019): 451-473.
- 29 Sinha, Biswadip, Rainer H. Müller, and Jan P. Möschwitzer. "Bottom-up approaches for preparing drug nanocrystals: formulations and factors affecting particle size." *International journal of pharmaceutics* **453(1)** (2013): 126-141.
- 30 Türk, Michael. "Particle synthesis by rapid expansion of supercritical solutions (RESS): Current state, further perspectives and needs." *Journal of Aerosol Science* **161** (2022): 105950.
- 31 Kumar, Sumit, Rajeev Gokhale, and Diane J. Burgess. "Quality by design approach to spray drying processing of crystalline nanosuspensions." *International journal of pharmaceutics* **464(1-2)** (2014): 234-242.
- 32 Hu, Jiahui, Keith P. Johnston, and Robert O. Williams III. "Spray freezing into liquid (SFL) particle engineering technology to enhance dissolution of poorly water soluble drugs: organic solvent versus organic/aqueous co-solvent systems." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **20(3)** (2003): 295-303.
- 33 Patravale, V. B., Abhijit A. Date, and R. M. Kulkarni. "Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy." *Journal of pharmacy and pharmacology* **56(7)** (2004): 827-840.
- 34 Kumar, V., and D. Singh. "Methods for Making a Nanosuspension of Poorly Soluble Medications." *International Journal of Newgen Research in Pharmacy & Healthcare* (2023): 42-52.

- 35 Dabhi, Mahesh R., et al. "Formulation, optimization and characterization of candesartan cilexetil nanosuspension for in vitro dissolution enhancement." *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **9(5)** (2015): 102-113.
- 36 Munnangi, Siva Ram, et al. "Drug complexes: perspective from academic research and pharmaceutical market." *Pharmaceutical Research* **40(6)** (2023): 1519-1540.
- 37 Semalty, Ajay. "Cyclodextrin and phospholipid complexation in solubility and dissolution enhancement: a critical and meta-analysis." *Expert opinion on drug delivery* **11(8)** (2014): 1255-1272.
- 38 Cid-Samamed, Antonio, et al. "Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications." *Food Chemistry* **384** (2022): 132467.
- 39 Jiang, Longwei, et al. "Physicochemical properties of catechin/ β -cyclodextrin inclusion complex obtained via co-precipitation." *CyTA-Journal of Food* **17(1)** (2019): 544-551.
- 40 JS, Patil, et al. "Inclusion complex system; a novel technique to improve the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs: A review." *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res* **2** (2010): 29-34
- 41 Jug, Mario, and Paola Angela Mura. "Grinding as solvent-free green chemistry approach for cyclodextrin inclusion complex preparation in the solid state." *Pharmaceutics* **10(4)** (2018): 189.

- 42 M Shaikh, S., and A. M Avachat. "Enhancement of solubility and permeability of candesartan cilexetil by using different pharmaceutical interventions." *Current drug delivery* **8(4)** (2011): 346-353.
- 43 Kuchekar, Ashwin Bhanudas, Ashwini Gawade, and Sanjay Boldhane. "Hydrotropic solubilization: an emerging approach." *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* **11(1-s)** (2021): 200-206.
- 44 Khunt, Bhavesh, et al. "ENHANCED SOLUBILITY STUDY OF CANDESARTAN CILEXITIL USING DIFFERENT HYDROTROPIC AGENT." *Pharma Science Monitor* **4(3)** (2013).
- 45 Lu, Mei, et al. "Liquisolid technique and its applications in pharmaceuticals." *Asian journal of pharmaceutical sciences* **12(2)** (2017): 115-123.
- 46 Bhise, Akash S., et al. "Solubility enhancement of poorly water-soluble drugs using liquisolid technique." *IJOD* **6(3)** (2018): 152-164.
- 47 Vraníková Barbora, et al. "Systémy kapalina v pevné fázi jako moderní trend zvyšování biologické dostupnosti léčiva." *Chemické listy* **107(9)** (2013): 681-687.
- 48 Vraníková, Barbora, and Jan Gajdziok. "Liquisolid systems and aspects influencing their research and development." *Acta pharmaceutica* **63(4)** (2013): 447-465.

- 49 Sayyad, Fahim Jahangir, Sachin Laxman Tulsankar, and Umesh Bhupal Kolap. "Design and development of liquisolid compact of candesartan cilexetil to enhance dissolution." *Journal of pharmacy research* **7(5)** (2013): 381-388.
- 50 GAJDZIOK, Jan. Superrozvolňovadla ve farmaceutické technologii. *Česká a slovenská farmacie*. 2018, **67(2)**, 59-65.
- 51 Yadav, Priyanka S., M. S. Kondawar, and B. S. Varne. "Enhancement of dissolution properties of candesartan using liquisolid technique." *International Journal of Advances in Pharmaceutical Research* **4(2)** (2013): 2503-2513
- 52 Argade, Pallavi, Vinita Chandrakant Patole, and Ashlesha Pravin Pandit. "Liquisolid compact tablet of candesartan cilexetil with enhanced solubility using Neusilin US2, Aerosil 200 and Transcutol HP." *Indian J Pharm Educ Res* **53** (2019): 457-67.
- 53 HELEROVÁ, Ladislava. *Vliv rozpouštědla na dobu rozpadu liquisolid systémů v podobě tobolek*. Akademia Heyrovského 1203, 500 03 Hradec Králové, 2023. Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutické technologie.
- 54 Anzilago, Daiane, et al. "Liquisolid systems: Understanding the impact of drug state (solution or dispersion), nonvolatile solvent and coating material on simvastatin apparent aqueous solubility and flowability." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **175** (2019): 36-43.
- 55 Han, Yi Rang, and Ping I. Lee. "Effect of extent of supersaturation on the evolution of kinetic solubility profiles." *Molecular pharmaceutics* **14(1)** (2017): 206-220.

- 56 Xu, Sen, and Wei-Guo Dai. "Drug precipitation inhibitors in supersaturable formulations." *International journal of pharmaceutics* **453(1)** (2013): 36-43.
- 57 Vraníková, Barbora, et al. "Mechanistic aspects of drug loading in liquisolid systems with hydrophilic lipid-based mixtures." *International journal of pharmaceutics* **578** (2020): 119099
- 58 Pooja, M., Swati, G., Ghanashyam, C., Harshata, B., Priti, R. Multifunctional Excipients for Solid Dosage Forms. *World Journal of Pharmaceutical Research* **4(3)**, 575-591 (2015). ISSN 2277–7105
- 59 Boldyrev, V.V. Mechanochemical modification and synthesis of drugs. *Journal of Materials Science* **39**, 5117–5120 (2004)
- 60 Gruberová, L., and B. Kratochvíl. "Pevné disperze málo rozpustných léčiv." *Chemické listy* **113(6)** (2019): 383-390.
- 61 Yu, Lian. "Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization." *Advanced drug delivery reviews* **48(1)** (2001): 27-42.
- 62 Maclean, Jenifer, et al. "Manufacture and performance evaluation of a stable amorphous complex of an acidic drug molecule and neusilin." *Journal of pharmaceutical sciences* **100(8)** (2011): 3332-3344.