

# Alginat v dostavnih sistemih s prirejenim sproščanjem

## Alginate in controlled drug delivery systems

Polona Smrdel, Marija Bogataj, Aleš Mrhar

**Povzetek** Dostavni sistemi s prirejenim sproščanjem nudijo v mnogih primerih, tako s stališča učinkovitosti kot tudi varnosti, prednost pred farmacevtskimi oblikami s takojšnjim sproščanjem. Za doseganje prirejenega sproščanja zelo pogosto uporabimo najrazličnejše polimere. Alginat je naraven polisaharid, ki ga pridobivamo iz različnih vrst rjavih alg. Je linearen polimer, sestavljen iz homogenih odsekov D- manuronske in L-guluronske kisline in odsekov, kjer se kislini izmenjujeta. Njegova lastnost je tvorba dveh vrst gelov – t.i. kislinski gel v kislem in ionotropni gel v prisotnosti večvalentnih kationov. Zaradi sposobnosti geliranja in nabrekanja ter nekaterih drugih lastnosti je zelo primeren za pripravo dostavnih sistemov s prirejenim sproščanjem. Priprava alginatnega ogrodja pod milimi pogoji omogoča tudi vgradnjo celic in biomolekul, kot so proteini, encimi in DNK, brez izgube biološke aktivnosti. Izbira ustreznega tipa alginata in strukture ter sestave dostavnega sistema omogoča pripravo farmacevtske oblike s časovno in/ali prostorsko nadzorovanim sproščanjem.

**Ključne besede:** alginat, ogrodni sistem, ionotropno geliranje, prirejeno sproščanje

**Abstract** Controlled drug delivery systems frequently offer significant benefit in comparison with immediate release dosage forms from the efficiency and safety viewpoint. Controlled release can be achieved using various polymers. Alginate is naturally occurring polysaccharide extracted from kelp. It is linear polymer, composed of homopolymeric D-mannuronic and L-guluronic acid blocks and heteropolymeric blocks where the monomers alternate. An important property is the formation of two types of gel, i.e. an acid gel in acidic medium and ionotropic gel in the presence of multivalent cations. Due to its ability to gel and swell and some other properties, alginate is very suitable for the design of controlled release drug delivery systems. Furthermore, the preparation of alginate matrix under mild conditions enables also the incorporation of cells and biomolecules like proteins, enzymes and DNA with retention of full biological activity. By the selection of an appropriate type of alginate and structure and composition of drug delivery system time and/or region controlled delivery can be achieved.

**Key words:** alginate, matrix system, ionotropic gelation, controlled release

## 1 Uvod

Razvoj sistemov s prirejenim sproščanjem učinkovine je izredno napredoval, saj uporaba tovrstnih sistemov v primerjavi s farmacevtskimi oblikami s takojšnjim sproščanjem v mnogih primerih nudi vrsto prednosti, ki se odražajo v učinkovitejšem, varnejšem in pacientu sprejemljivejšem načinu zdravljenja (1). S farmacevtskimi oblikami s prirejenim sproščanjem lahko sproščanje učinkovine časovno in prostorsko nadzorujemo, kar omogoča zmanjšanje dnevnih odmerkov in števila odmerjanj ter pripomore k manjšemu nihanju plazemskih koncentracij učinkovine, vse to pa prispeva k manj izraženim stranskim učinkom in učinkovitejši terapiji.

Prirejeno sproščanje najpogosteje dosežemo z uporabo polimerov, ki tvorijo ogrodni sistem ali oblogo, ki kontrolirata sproščanje učinkovine. Med obilico danes dostopnih polimerov postajajo vedno bolj zanimivi nekateri naravni polisaharidi, katerih glavne prednosti v primerjavi s sintezniimi so netoksičnost, široka dostopnost in nižja cena (2). V skupino naravnih polisaharidov spada tudi alginat, ki se že dalj časa uporablja v prehranski industriji kot zgoščevalo, gelirno sredstvo in

utrjevalo, vedno bolj pogosto pa ga lahko srečamo tudi v farmacevtski industriji. Namen članka je predstaviti možnosti uporabe alginata v farmaciji s poudarkom na ogrodnih sistemih s prirejenim sproščanjem.

## 2 Alginat

### 2.1 Struktura alginata

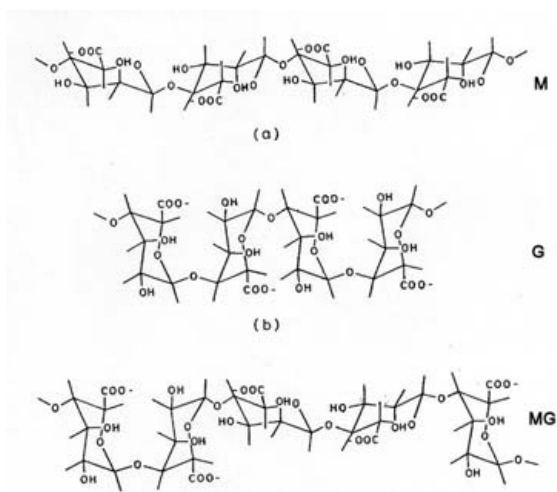
Alginska kislina je naraven polisaharid, ki se v glavnem nahaja v različnih vrstah rjavih morskih alg v obliki kalcijevih, natrijevih, stroncijevih, barijevih in magnezijevih soli. Kemijsko je to linearen nerazvejan polisaharid, sestavljen iz monomernih enot,  $\beta$ -D-manuronske (M) in  $\alpha$ -L-guluronske (G) kisline, povezanih z 1,4 glikozidno vezjo. Kislini sestavljata homogene poli-M in poli-G odseke, ki so ločeni s predeli, kjer se monomerni enoti izmenjujeta (MG, slika 1). Fizikalne lastnosti alginata so odvisne od molekulske mase in sestave (razmerja med monomernimi enotami in dolžine posameznih

blokov). Slednjo pogojujejo vrsta organizma in del alge, iz katere se alginat pridobiva, pa tudi rastišče in letni čas žetve (3-6).

## 2.2 Tvorba gela

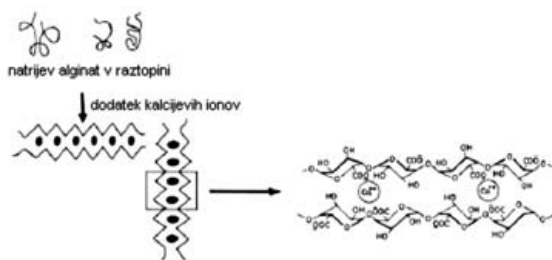
Alginska kislina je v neionizirani obliki v vodi netopna, medtem ko je topnost njenih soli odvisna tako od pH kot od vrste prisotnih kationov. Alginat tvori dve vrsti gela:

- **kislinski gel:** pri določenih pogojih lahko z zniževanjem pH raztopine pod pKa guluronske (pKa= 3.65) in manuronske (pKa = 3.38) kisline preide raztopina alginata iz sol v gel stanje in nastane t.i. kislinski gel, ki je domnevno stabiliziran z intramolekularnimi vodikovimi vezmi. Zniževanje pH-ja mora potekati počasi, saj se ob hitri spremembi pH alginska kislina izobori. Glavni gradniki tega gela so poliguluronski odseki, vendar pa k tvorbi gela nekoliko prispevajo tudi polimanuronski odseki. Najmočnejši gel nastane iz



Slika 1: Struktura polimanuronskega (M) in poliguluronskega (G) odseka alginata ter odseka, kjer se manuronski in guluronski kislini izmenjujeta (MG) (4).

Figure 1: Structure of polymannuronic (M) and polyguluronic (G) blocks of alginate and block with alternating sequence of uronic acids (MG) (4).



Slika 2: Shematski prikaz nastanka ionotropnega gela z modelom škatle za jajca (4)

Figure 2: Schematic presentation of ionotropic gelation process using egg box model (4).

alginatov z visokim deležem guluronskih odsekov in nizkim deležem alternirajočih odsekov (9, 10).

- **ionski (ionotropni) gel:** nastane z interakcijo večvalentnih kationov, kot so  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ , itd in polimernih verig. Izjema so alginatne soli magnezijevih ionov, ki tako kot soli monovalentnih ionov tvorijo v vodi viskozne koloidne raztopine. Pri ionotropnem geliranju gre za izmenjavo natrijevih ionov s soli guluronskih kislin z npr.  $\text{Ca}^{2+}$  ioni, ki povežejo odseke guluronskih kislin in povzročijo njihovo preureditev tako, da nastane urejena tridimenzionalna struktura, dodatno stabilizirana z vodikovimi vezmi, ki spominja na škatlo za jajca (slika 2). Interakcije niso le elektrostatske narave, temveč tudi koordinativne z večvalentnim kationom kot kelatnim centrom. Za razliko od kislinskega gela, v tem primeru k tvorbi gela prispevajo le poliguluronski odseki, ki imajo zaradi prostorske razporeditve kisikovih atomov v hidroksilnih in karboksilnih skupinah večjo afiniteto do večvalentnih kationov (4, 5, 10, 11). Dejavniki, ki vplivajo na lastnosti ionotropnega gela, so predstavljeni v Preglednici 1.

## 2.3 Uporaba alginata v farmaciji

Sposobnosti geliranja in nabrekanja omogočata široko uporabo alginata v farmaciji. Nekateri avtorji govorijo tudi o mukoadhezivnosti alginata. V številnih preglednih člankih pa so navedene tudi druge lastnosti alginata, kot so biokompatibilnost, biorazgradljivost in netoksičnost, čeprav je o teh lastnostih relativno malo podatkov, ki si včasih celo nasprotujejo (4, 5, 6, 7). V prebavnem traktu se alginat razgradi v debelem črevesju z encimi, ki jih izločajo bakterije kolonske mikroflore. Pri peroralni uporabi alginata ni bilo opaženih večjih imunskih reakcij in avtorji (6) za ta način aplikacije navajajo, da je alginat netoksičen in biorazgradljiv polimer. Glede biokompatibilnosti in biorazgradljivosti alginatnih vsadkov pa v literaturi najdemo nasprotujoče si podatke. Nekateri avtorji navajajo, da v živalsko tkivo implantirano alginatno ogrodje na mestu vsadka ne povzroča izrazitega vnetja (imunogenost naj bi bila posledica nečistot v alginatu) in da ogrodje s časom izgine, se resobira (4, 5), drugi pa ugotavljajo, da alginat na mestu vsadka povzroči fibrotično reakcijo, se ohrani dalj časa in ga je potrebno operativno odstraniti (13).

V sistemih s prirejenim sproščanjem za peroralno aplikacijo lahko alginat uporabimo kot ogrodni polimer za izdelavo večletnih ogrodnih sistemov ali enoletnih ogrodnih tablet, kot polimer za oblaganje farmacevtskih oblik ali za izdelavo mikrokapsul (3, 4, 14). Alginat pa uporabljamo tudi v oblogah za vlažno celjenje ran, v obliki raztopine za okularno ali peroralno aplikacijo, ki po stiku z večvalentnimi kationi in situ gela, intenzivno pa se raziskuje tudi v biotehnologiji kot ogrodje za vgradnjo biomolekul in celic, namenjeno uporabi v tkivnem inženirstvu (3, 7, 8).

## 3 Alginat v večletnih ogrodnih sistemih

### 3.1 Metode priprave alginatnih delcev z ionotropnim geliranjem

V primeru večletnih alginatnih ogrodnih sistemov se najpogosteje raziskujejo delci pripravljene z metodo ionotropnega geliranja

(Preglednica 2). Pri t.i. kapljčni metodi kapljamo koloidno raztopino alginata v raztopino večvalentnega kationa (najpogosteje kalcija). V raztopini polimera lahko dispergiramo različne učinkovine in pomožne snovi. Po interakciji kapljic disperzije alginata z večvalentnimi ioni nastanejo kroglice gela, delci, v katerih je učinkovina enakomerno porazdeljena po celotnem ogrodju kroglice. Slab izkoristek vgradnje majhnih vodotopnih učinkovin zaradi difuzije učinkovine v medij za utrjevanje lahko izboljšamo z optimizacijo časa utrjevanja delcev (15, 16,17) ali s kapljanjem alginatne disperzije v raztopino utrjevalca nasičeno z učinkovino (15, 18, 19), v primeru ionskih učinkovin pa lahko s spreminjanjem pH medija za utrjevanje vplivamo na topnost učinkovine in posledično na izkoristek vgradnje (25).

Manjše delce (mikrosfere) lahko izdelamo z razprševanjem oz. atomizacijo alginatne disperzije z učinkovino v raztopino za utrjevanje ali z emulzifikacijsko metodo (Preglednica 2).

### 3.2 Sproščanje učinkovin iz večletnih ogrodnih alginatnih sistemov

Delci iz kalcijevega alginata so hidrofilni ogrodni sistem, ki lahko nabreka. Učinkovina se lahko sprošča po dveh mehanizmih: z difuzijo raztopljenih učinkovin skozi pore ogrodja in/ali z erozijo površine ogrodja. Dejavniki, ki pogojujejo sproščanje učinkovine iz alginatnih delcev, so navedeni v Preglednici 3 in podrobneje predstavljeni v nadaljevanju.

#### • Lastnosti medija za sproščanje

Nabrekanje delcev je odvisno od pH medija, pa tudi od ionske sestave in ionske moči medija (27). V kislem (npr. v želodcu) se

kalcijev alginat pretvori v netopno alginatno kislino, zato je nabrekanje delcev zanemarljivo. V tem primeru se učinkovina sprošča z difuzijo skozi netopno ogrodje. Nasprotno v nevtralnem (npr. v tankem črevesu) delci intenzivno nabrekajo, zato sproščanje učinkovine pogojuje nabrekanje in erozija alginatnega ogrodja (3). Nabrekanje je posledica ionske izmenjave kalcijevih ionov v delcih z natrijevimi ioni prisotnimi v mediju za raztapljanje. V začetni fazi se izmenjajo natrijevi ioni s kalcijevimi ioni, vezanimi na karboksilne skupine manuronskih odsekov. Nastali elektrostatični odboj med negativno nabitimi karboksilnimi skupinami pospeši nabrekanje ogrodja. V drugi fazi nabrekanja se zaradi izstopa kalcijevih ionov, ki povezujejo homoguluronske odseke, razrahlja močna struktura ogrodja, ki spominja na škatlo za jajca. To omogoči vstop dodatnih količin vode v ogrodje in sčasoma popolno raztopitev alginatnega ogrodja (11).

#### • Lastnosti alginatnega ogrodja

Hitrost in obseg nabrekanja pogojujejo tudi vrsta in količina iona za premrežitev ter sestava, koncentracija in molekulska masa alginata (Preglednica 1).

#### • Lastnosti učinkovine

Doseganje prirejenega sproščanja z vgradnjo učinkovine v alginatne delce je odvisno tudi od lastnosti učinkovine.

#### Učinkovine z majhno molekulsko maso

Sproščanje majhnih molekul je odvisno od njihove topnosti v mediju za raztapljanje. V primeru majhnih v vodi dobro topnih učinkovin je njihovo sproščanje le z vgradnjo v delce kalcijevega alginata težko nadzorovati. Učinkovina se namreč hitro raztopi v mediju, ki vstopi v

Preglednica 1: Dejavniki, ki vplivajo na lastnosti ionotropnega gela (4, 5, 9, 11, 12).

Table 1: Factors influencing ionotropic gel properties (4, 5, 9, 11, 12).

Dejavnik	Lastnosti gela	
<b>Lastnosti alginata</b>		
• Kemijska sestava (4, 5)	Visok delež G enot	• Stabilni, mehansko bolj odporni na erozijo, porozni
	Visok delež M enot	• Elastični, manj porozni, manj odporni na erozijo
• Molekulska masa (5, 9)		• Pod določeno molekulsko maso je sposobnost geliranja omejena, nad molekulsko maso $2,4 \times 10^5$ je jakost gela neodvisna od molekulske mase
• Sekvenčna sestava (4)	Dolžina / število MM, GG in MG odsekov	• Alginati z daljšimi in številnejšimi G sekvencami imajo večjo afiniteto do premrežitve
		• Afiniteta do premrežitve narašča v naslednjem zaporedju MM<MG<GG
		• Jakost gela narašča v naslednjem zaporedju MG <MM <GG
<b>Lastnosti premreževalnega kationa</b>		
• Valenca (11, 12)	Monovalentni	• Geliranje ne poteče
	Divalentni (z izjemo Mg <sup>2+</sup> )	• Afiniteta kationov do alginata pada v naslednjem zaporedju Cd <sup>2+</sup> > Ba <sup>2+</sup> > Cu <sup>2+</sup> > Ca <sup>2+</sup> > Ni <sup>2+</sup> > Co <sup>2+</sup> > Mn <sup>2+</sup>
	Trivalentni	• Ioni z večjo afiniteto tvorijo bolj rigidni gel, z grobo, nagubano površino
• Velikost, premer iona (11)		• Premrežitev poteče v treh plasteh
		• Ioni z večjim premerom zapolnijo večji prostor med alginatnimi verigami, nastane stabilnejši gel, ki manj nabreka, npr. Ba <sup>2+</sup> (1,74 Å) bolje zapolni prostor kot Ca <sup>2+</sup> (1,14 Å)

ogrodje, in raztopljena difundira skozi pore iz ogrodja. Ogrodje kalcijevega alginata je dokaj porozno (velikost por suhega ogrodja je v območju od 5 do 200 nm, (5)) in za majhne molekule ne predstavlja difuzijske bariere, ki bi bistveno upočasnila sproščanje. V primeru majhnih, v vodi slabo topnih učinkovin je sproščanje iz alginatnih delcev odvisno od hitrosti raztapljanja učinkovine, pa tudi od nabrekanja in erozije alginatnega ogrodja. V kislem mediju je sproščanje slabo topnih učinkovin iz alginatnih delcev minimalno, medtem ko je v nevtralnem, zaradi nabrekanja delcev, povečan vstop medija za raztapljanje, kar omogoča raztapljanje učinkovine. Raztopljena učinkovina difundira iz ogrodja, neraztopljena pa se sprošča z erozijo ogrodja in raztapljanjem, ki sledi eroziji (28). Zato velja, da je za doseganje prirejenega sproščanja ogrodje iz kalcijevega alginata primerno za slabo topne učinkovine in učinkovine z veliko molekulsko maso. Kljub temu je v literaturi moč najti nekaj pristopov za upočasnitev sproščanja majhnih, dobro topnih molekul iz alginatnih delcev, ki temeljijo tudi na premrežitvi alginata z naravnimi ali sintezniimi polikationskimi polimeri (npr. hitosan (29), polilizin (30)) ali s kemijskimi premreževalci (npr. formaldehid, glutaraldehid (4), epiklorhidrin (21)). Slednji kovalentno premrežijo polimer, posledica česar je nastanek bistveno bolj stabilnega ogrodja z manjšimi porami, ki počasneje erodira. Kemijski premreževalci so s stališča toksičnosti nesprejemljivi, zato je veliko boljši pristop uporaba polikationov, ki premrežijo alginat preko ionskih interakcij. Najpogosteje se te polikatione uporabi za tvorbo obloge, sestavljene iz kompleksa med alginatom in polikationom. Tako je npr. Ueng s sodelavci (30) z oblaganjem alginatnih delcev s poli-L-lizinom uspel zadržati

sproščanje vankomicina, Sezer in Akabuga (29) pa sta alginatne delce dodatno obdelala s hitosanom, kar je omogočilo prirejeno sproščanje timolol maleata.

*Učinkovine z veliko molekulsko maso*

Pri učinkovinah z večjo molekulsko maso (npr. cepiva, proteini in polipeptidi) ponuja vgradnja v alginatne delce več možnosti za doseganje prirejenega sproščanja (4). Tudi v tem primeru je sproščanje nadzorovano z difuzijo učinkovine skozi polimerno ogrodje in z erozijo ogrodja. Nadzor sproščanja z difuzijo je bolj zaželen, saj se v primeru razpada alginatnega ogrodja učinkovina sprosti naenkrat, hitro in nenadzorovano (6). Hitrost difuzije je odvisna tako od lastnosti alginatnega ogrodja kot od molekulske mase učinkovine. Kikuchi in Okano (31) sta s poskusi z dekstranom različnih molekulskih mas ugotovila, da je hitrost difuzije obratno sorazmerna z molekulsko maso dekstrana, pri molekulski masi 145000 pa se je učinkovina sproščala le z erozijo alginatnega ogrodja. Do enakih zaključkov je s proteini različnih molekulskih mas prišel tudi Martinsen s sodelavci (32). S preskušanjem alginatov različne sestave so ugotovili, da alginati z višjim deležem gularonskih enot tvorijo bolj rigidne gele, ki se manj skrčijo in je zato velikost por večja, posledica česar je lahko hitrejša difuzija makromolekul. Po drugi strani pa so tovrstni geli bistveno bolj odporni na erozijo v primerjavi z geli iz alginatov z visokim deležem manuronskih enot, in lahko zato dalj časa nadzorujejo sproščanje. Na lastnosti alginatnih delcev in posledično na hitrost sproščanja makromolekul vplivajo tudi pogoji priprave delcev, kot npr. čas in način sušenja, čas utrjevanja, vrsta in

*Preglednica 2: Metode za pripravo alginatnih delcev z ionotropnim geliranjem*  
*Table 2: Methods for preparation alginate beads using ionotropic gelation*

<b>Metoda</b>	<b>Prednosti</b>	<b>Slabosti</b>
<p><b>Kapljična metoda (3-5)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kapljanje disperzije alginata in učinkovine v vodno raztopino večvalentnega kationa</li> <li>• Delci &gt; 1 mm</li> <li>• Lastnosti delcev (vsebnost, kinetika sproščanja, oblika, morfologija) odvisne od (15-24):                      → lastnosti alginata in sestave dostavnega sistema (vrsta učinkovine, tip, koncentracija alginata, razmerje učinkovina/alginat, dodatek pomožnih snovi)                      → procesnih parametrov (čas utrjevanja, vrsta, koncentracija večvalentnih ionov, način sušenja...)</li> <li>• Atomizacija, razprševanje alginatne disperzije → delci &lt; 1 mm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enostavna metoda</li> <li>• Mili pogoji priprave → vgradnja proteinov, encimov, celic</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Difuzija majhnih vodopnih molekul v medij za utrjevanje → slab izkoristek vgradnje</li> </ul>
<p><b>Emulzifikacijska metoda (4, 5, 21, 26)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Emulzija tipa voda v olju, notranja faza: vodna disperzija alginata in snovi, ki jo želimo vgraditi, zunanja faza: organsko topilo</li> <li>• Interna premrežitev: dodatek netopnega kalcijevega kompleksa (kalcijev karbonat, citrat) v alginatno disperzijo, kalcijevi ioni se sprostijo ob nakisanju – dodatku ledocetne kisline v zunanjo fazo</li> <li>• Eksterna premrežitev: dodatek raztopine CaCl<sub>2</sub> v organsko fazo – koalescenca ob stiku s kapljicami alginatne disperzije</li> <li>• Velikost delcev odvisna od hitrosti mešanja in hitrosti dodajanja raztopine utrjevalca</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Priprava majhnih delcev (1-150 μm)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Uporaba organskih topil</li> </ul>

koncentracija utrjevalca, velikost delcev (31-33). Zlasti način sušenja delcev izrazito vpliva na velikosti por. Delci posušeni z liofilizacijo imajo bistveno večje pore kot delci posušeni na zraku, ki se s sušenjem močno skrčijo. Prav zaradi skrčenja lahko pri delcih posušeni na zraku ogrodje na površini počni, kar lahko pri ponovni rehidraciji v mediju za raztapljanje olajša erozijo na površini in pospeši sproščanje (5). Vpliv procesnih parametrov na sproščanje učinkovine je bistveno bolj izrazit pri učinkovinah z večjo molekularno maso.

Zaradi pH odvisnega nabrekanja delci iz kalcijevega alginata v kislem mediju učinkovito nadzorujejo sproščanje majhnih slabo topnih molekul in makromolekul. Problematičen je dokaj hiter razpad delcev v nevtralnem mediju, posledica česar je nenadna nenadzorovana sprostitve preostale učinkovine. Kot že razloženo lahko razpad alginatnega ogrodja preprečimo z dodatnim premreženjem, stabilnost v medijih z višjim pH pa se poveča tudi s kovalentnimi kemijskimi modifikacijami alginata. Taka primera sta alginat, na katerega je z amidno vezjo vezan L-cistein (tioliran alginat), in amfilni derivat alginata, ki ima prek esterskih vezi na polisaharidno ogrodje vezane dolge alkilne verige. Obe modifikaciji izredno pripomoreta k odpornosti alginata na erozijo, tioliran alginat pa, zaradi možnosti

tvorbe disulfidnih vezi z cisteinskimi tiolnimi skupinami na glikoproteinih mukusa, pridobi še boljše mukoadhezivne lastnosti (6).

#### Naboj učinkovine

Tako pri učinkovinah z nizko kot z veliko molekularno maso lahko na sproščanje iz alginatnih delcev izjemno vpliva naboj učinkovine. Pozitivno nabiti proteini (5, 6) in učinkovine (4) lahko interagirajo z negativno nabitim alginatom, kar zavira sproščanje iz ogrodja. V primeru proteinov lahko tovrstna interakcija povzroči celo njihovo inaktivacijo. Ta problem so v primeru TGF $\beta$ 1 rešili z dodatkom anionskega polimera akrilne kisline, ki je zaščitil TGF $\beta$ 1 pred interakcijo z alginatom in ohranil njegovo aktivnost (6). V nasprotju s pozitivno nabitimi učinkovinami je sproščanje negativno nabitih učinkovin iz alginatnega ogrodja zaradi odbojnih interakcij hitrejše. Tako privlačne kot odbojne interakcije med učinkovino in alginatom so v kislem mediju, kjer so karboksilne skupine alginata v neionizirani obliki, bistveno manj izrazite kot v nevtralnem mediju (4).

## 4 Alginat v ogrodnih tabletah

Alginat se pogosto uporablja tudi kot pomožno sredstvo pri tabletiranju. Njegova vloga je odvisna od uporabljene količine. V

Preglednica 3: Poglavitni dejavniki, ki vplivajo na sproščanje učinkovine iz alginatnih delcev

Table 3: Factors influencing drug release from alginate beads

Dejavnik	Opombe
<b>pH medija</b> (3, 27)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pogojuje nabrekanje ogrodja in posledično mehanizem sproščanja učinkovine</li> <li>→ v kislem: difuzija raztopljene učinkovine skozi netopno ogrodje alginatne kisline</li> <li>→ v nevtralnem: difuzija raztopljene učinkovine skozi nabreklo zvezno plast in z erozijo ogrodja</li> </ul>
<b>Lastnosti učinkovine</b> Velikost in topnost	<ul style="list-style-type: none"> <li>Majhne, dobro topne učinkovine (5, 28) sproščanje z difuzijo, praktično neodvisno od pH medija</li> <li>Večje, slabo topne učinkovine (5, 6, 31-33) sproščanje odvisno od velikosti in hitrosti raztapljanja učinkovine ter nabrekanja in erozije ogrodja</li> <li>→ v kislem: sproščanje minimalno</li> <li>→ v nevtralnem: difuzija raztopljene učinkovine skozi nabreklo plast in z erozijo ogrodja</li> <li>→ hitrost difuzije obratno sorazmerna z molekularno maso učinkovine</li> </ul>
<b>Naboj</b> (4-6)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pozitivno nabite učinkovine → relativno počasnejše sproščanje</li> <li>Negativno nabite učinkovine → relativno hitrejše sproščanje</li> <li>Vpliv naboja v kislem manj izrazit</li> </ul>
<b>Lastnosti ogrodja</b> Kemijska sestava alginata (Preglednica 1)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Večji vpliv pri učinkovinah z večjo molekularno maso</li> </ul>
Premrežitev	<ul style="list-style-type: none"> <li>Večvalentni kationi pomembna vrsta, valenca, velikost kationa (Preglednica 1)</li> <li>Polikationski polimeri (hitosan, polilizin) tvorba polielektrolitskega kompleksa z alginatom → upočasnitev sproščanja (29, 30)</li> <li>Kovalentni premreževalci (formaldehid, glutaraldehid, epiklorhidrin) kovalentna premrežitev ogrodja, manjše pore, bolj stabilno ogrodje, odporno na erozijo → upočasnitev sproščanja (4, 21)</li> </ul>
Kovalentne kemijske modifikacije alginata	<ul style="list-style-type: none"> <li>Alginat s kovalentno vezanim cisteinom, amfilni derivat alginata z alkilnimi verigami) → povečana odpornost ogrodja na erozijo (6)</li> </ul>



koncentracijah od 1 do 5% oz. od 2 do 10% deluje kot vezivo oziroma razgrajevalo (34, 35). Kot je že uvodoma predstavljeno, je alginat hidrofilni polimer, ki v vodi nabreka in tvori viskozno koloidno raztopino, zato ga lahko v večjih koncentracijah uporabimo tudi kot polimerni nosilec za izdelavo ogrodnih tablet s prirejenim sproščanjem.

#### 4.1 Sproščanje učinkovin iz alginatnih ogrodnih tablet

Ob stiku ogrodne tablete iz hidrofilnega polimera z vodnim medijem hidrofilna koloidna komponenta nabreka, kar vodi v nastanek viskozne koloidne plasti na površini tablete. Ta plast nadzoruje vstop vode v ogrodje ter izstop raztopljenih snovi iz ogrodja. Sproščanje učinkovin iz takih sistemov poteka po dveh mehanizmih: vodotopne učinkovine se v glavnem sproščajo z difuzijo raztopljene učinkovine skozi nabreklo plast (plast gela), medtem ko se slabo topne učinkovine sproščajo pretežno z erozijo ogrodja. Vpliv posameznega mehanizma na sproščanje učinkovine je odvisen tako od topnosti učinkovine kot tudi od mehanskih in fizikalnih lastnosti nabrekle plasti okrog tablete (36, 37). Dejavniki, ki vplivajo na sproščanje učinkovine iz ogrodnih alginatnih tablet, so navedeni v Preglednici 4 in podrobneje predstavljeni v nadaljevanju.

##### • pH medija in topnost učinkovine

Hodsdon in sodelavci (36) so preučevali vpliv pH medija na sproščanje klorfeniramin maleata kot modelne dobro topne

učinkovine in hidroklortiazida kot modelne slabo topne učinkovine iz ogrodnih tablet iz natrijevega alginata. Sproščanje učinkovin iz tablet so vrednotili ločeno v umetnem želodčnem soku s pH 1,2 in umetnem črevesnem soku s pH 7,5. Ugotovili so, da pH medija vpliva na nabrekanje alginata oz. strukturo hidratirane plasti, kar se odraža tudi v kinetiki sproščanja učinkovine. Avtorji navajajo, da se v kislem alginat pretvori v alginsko kislino, ki je v vodi netopna, vendar nabreka. Zato je v kislih pogojih zunanja plast tablete manj hidratirana, čvrsta in elastična, s porozno in zrnato strukturo. Sestavljena je iz predelov, kjer je večina polimera neraztopljenega in zato le-ta ne prispeva k difuzni barieri. V nevtralnem mediju natrijev alginat intenzivno nabreka, kar vodi v nastanek zvezne viskozne plasti na površini tablete, ki predstavlja učinkovito difuzijsko bariero. Za dobro topno učinkovino je omenjena skupina raziskovalcev ugotovila, da je v kislem na račun večje poroznosti hidratirane plasti v prvi uri sproščanje iz alginatne ogrodne tablete hitrejše kot v mediju s pH 7,5. Sproščanje učinkovine je potekalo s kinetiko, ki jo opisuje Higuchijeva enačba (linearno s kvadratnim korenom iz časa), kar nakazuje, da je v kislem sproščanje iz alginatnega ogrodja nadzorovano predvsem z difuzijo raztopljene učinkovine skozi netopno ogrodje. V nevtralnem k sproščanju pomembno prispeva tudi erozija ogrodja, kar je v profilu sproščanja opazno kot odklon od omenjene linearnosti. Pri slabo topni učinkovini hidroklortiazidu so bile ugotovitve ravno obratne. Medtem ko se je v nevtralnem iz alginatnih ogrodnih tablet v 4 urah sprostito 83% učinkovine, se je v kislem mediju sprostito le 15%. Tako izrazita razlika v sproščanju je pogojena s topnostjo oz. stabilnostjo alginatnega ogrodja v odvisnosti od pH. V nevtralnem namreč

Preglednica 4: Dejavniki, ki vplivajo na sproščanje učinkovine iz ogrodnih alginatnih tablet (36, 37)

Table 4: Factors influencing drug release from alginate matrix tablets (36, 37)

Dejavnik	Kisla	Nevtralen
<b>pH medija</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>vpliva na strukturo hidratirane plasti</li> <li>pogojuje mehanizem sproščanja učinkovine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>difuzija raztopljene učinkovine skozi netopno ogrodje alginske kisline</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>difuzija raztopljene učinkovine skozi nabreklo zvezno plast</li> <li>erozija ogrodja</li> </ul>
<b>Lastnosti alginata</b>		
<sup>a</sup> Sestava		
<ul style="list-style-type: none"> <li>vpliv odvisen od hitrosti / obsega nabrekanja alginata</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>sproščanje bolj zadržano pri alginatih z višjim deležem M enot</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>sproščanje bolj zadržano pri alginatih z višjim deležem G enot</li> </ul>
<sup>a</sup> Viskoznost		
<ul style="list-style-type: none"> <li>vpliv odvisen od hitrosti / obsega nabrekanja alginata</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>sproščanje bolj zadržano pri alginatih z nižjo viskoznostjo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>sproščanje bolj zadržano pri alginatih z višjo viskoznostjo</li> </ul>
<sup>b</sup> Velikost delcev		
<ul style="list-style-type: none"> <li>manjši delci → tvorba bolj hidratirane, bolj zvezne difuzne bariere → počasnejše sproščanje</li> </ul>		
<b>Lastnosti učinkovine</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>Majhne, dobro topne učinkovine se sproščajo z difuzijo</li> <li>Večje in/ali slabo topne učinkovine se sproščajo z difuzijo in erozijo ogrodja</li> </ul>		

<sup>a</sup> Način vpliva sestave in viskoznosti alginata odvisen od pH medija za sproščanje

<sup>b</sup> Način vpliva velikosti delcev alginata neodvisen od pH medija za sproščanje

alginatno ogrodje erodira, medtem ko ostane v kislem mediju močno elastično ogrodje tablete. To potrjuje, da je glavni mehanizem sproščanja slabo topnih učinkovin iz alginatne ogrodne tablete nadzorovan z erozijo ogrodka (36).

## • Lastnosti alginata

### *Velikost delcev alginata*

Liew in sodelavci (37) so sistematično ovrednotili vpliv velikosti delcev, viskoznosti in kemijske sestave natrijevega alginata na sproščanje iz alginatnih ogrodnih tablet. V poskusih so nazorno pokazali, da se z zmanjševanjem velikosti delcev alginata do mejne vrednosti 80 – 100 µm hitrost sproščanja učinkovine upočasni in zmanjša začetno hitro sproščanje (»burst« efekt). Pri konstantni količini alginata se z zmanjšanjem velikosti delcev poveča njihovo število, zato lahko učinkoviteje prekrijejo površino tablete, s tem pa se zmanjša verjetnost nastanka predelov na tableti brez polimernih delcev, ki so ključni za začetno hitro sproščanje pred nastankom zvezne difuzne plasti. Poleg tega manjši delci hitreje hidratirajo (nabrekajo), kar vodi v hitrejši nastanek difuzne bariere. Hkrati pa izboljšan stik med manjšimi delci pripomore k boljšemu združenju polimernih delcev in nastanku manj permeabilne bariere, ki učinkoviteje zadrži sproščanje učinkovine. Vpliv velikosti delcev alginata na sproščanje je ključnega pomena zlasti pri nižji vsebnosti alginata, ker je v tem primeru poroznost nabrekle plasti pogojena z zadostnim številom delcev na površini tablete. Pri višji vsebnosti alginata je delcev že zaradi večje količine alginata dovolj, da tvorijo stabilno (zvezno) difuzno plast. Vpliv velikosti delcev je neodvisen od sestave alginata.

### *Kemijska sestava alginata*

Velik vpliv na sproščanje ima tudi kemijska sestava natrijevega alginata. Vpliv kemijske sestave je izrazitejši pri višjih vsebnostih alginata (30% in 50%) in je odvisen tudi od pH medija za sproščanje. V kislem alginat z večjim deležem manuronskih enot hitreje nabreka, kar vodi v hitrejši nastanek difuzijske bariere in počasnejše sproščanje. Nasprotno pa je v nevtralnem sproščanje bolj zadržano iz alginatne ogrodne tablete z višjim deležem guluronskih enot, kar je posledica tvorbe stabilnejšega gela, ki je v primerjavi z gelom alginata z visokim manuronskim deležem bolj odporen na erozijo (37).

### *Viskoznost alginata*

Kot je že uvodoma predstavljeno, so fizikalne lastnosti alginata, med njimi tudi viskoznost alginatne raztopine odvisne od molekulske mase in sestave polimera (M/G razmerje, dolžine posameznih odsekov). V nadaljevanju besedila in Preglednici 4 se izraz »viskoznost alginata« nanaša na tip alginata z določeno viskoznostjo; izmerjeno v 1% (ut./ut.) vodni raztopini alginata, pri 37°C. Vpliv viskoznosti alginata na sproščanje iz ogrodnih tablet je prav tako pogojen s pH medija za raztapljanje. V kislem je sproščanje iz tablet iz alginata z nižjo viskoznostjo počasnejše kot iz tablet iz bolj viskoznega alginata. Nasprotno pa v nevtralnem sproščanje učinkovine bistveno bolj zadržimo z uporabo bolj viskoznega alginata. Vzrok temu nasprotujočemu vplivu v odvisnosti od pH pripisujejo razlikam v hitrosti nabrekanja različno viskoznih alginatov. Alginat z nizko viskoznostjo hitro nabreka takoj po stiku s kislim medijem za raztapljanje, medtem ko naj bi bila pri alginatu z višjo viskoznostjo v

kislem upočasnjena hidracija alginatnih delcev, ki je nujna za hiter nastanek difuzijske bariere. Pri višjem pH pa je situacija ravno obratna, saj alginat z višjo viskoznostjo tvori bistveno bolj viskozno in na erozijo odporno nabreklo plast, ki izrazito upočasni sproščanje učinkovine.

Rezultati študije dokazujejo, da lahko s pravilno izbiro velikosti delcev, sestave in viskoznosti alginata izdelamo ogrodne tablete z želenim profilom sproščanja (37).

## 5 Alginat v dostavnih sistemih s ciljano dostavo

S pomočjo alginata lahko izdelamo dostavne sisteme, ki omogočajo časovno nadzorovano sproščanje učinkovine in dostavo le-te na želeno mesto v prebavnem traktu (npr. želodec, kolon).

### 5.1 Alginat v dostavnih sistemih s podaljšanim časom zadrževanja v prebavnem traktu

Čas zadrževanja v želodcu je zlasti pomemben pri učinkovinah z absorpcijskim oknom v zgornjem delu prebavnega trakta. Zadrževanje dostavnega sistema v želodcu lahko podaljšamo z izdelavo plavajočih dostavnih sistemov. Glavni pogoj za doseganje plovnosti je nižja gostota dostavnega sistema od želodčne tekočine (vsebine). Poroznost in posledično tudi gostota delcev iz kalcijevega alginata je odvisna od načina sušenja. S sušenjem z zamrzovanjem (liofilizacija) dobimo zelo porozne delce z dovolj nizko gostoto, da plavajo na površini medija za raztapljanje. Na ta način je Whitehead s sodelavci pripravil plavajoče alginatne delce z amoksicilinom (38). Plovnost delcev iz kalcijevega alginata pa lahko dosežemo tudi z vgradnjo dodatkov z nižjo gostoto, npr. rastlinskega olja. Tovrstni dodatki lahko izrazito vplivajo na sproščanje učinkovine. V primeru metronidazola so ugotovili, da je hitrost sproščanja obratno sorazmerna s količino vgrajenega olja (39).

Drugi pristop za podaljšanje časa prehoda farmacevtske oblike skozi prebavni trakt je izdelava bioadhezivnih dostavnih sistemov. *In vitro* raziskave so pokazale, da ima alginat zaradi karboksilnih skupin odlične bioadhezivne lastnosti, kar bi potencialno lahko prispevalo k podaljšanemu času zadrževanja alginatnih dostavnih sistemov na gastrointestinalni ali nosni sluznici in tako omogočilo učinkovitejšo dostavo učinkovine (3, 5). Pri postavljanju zaključkov o podaljšanem času zadrževanja peroralno apliciranih dostavnih sistemov zaradi bioadhezije je potrebna previdnost. Namreč nekateri avtorji zagovarjajo stališče, da je bioadhezija v prebavnem traktu vprašljiva, predvsem zaradi hitre obnove mukusa. Čas zadrževanja bioadhezivnega sistema na črevesni sluznici je namreč omejen s časom, potrebnim za obnovo mukusa (na črevesni sluznici od 50 do 270 min), ker novonastali mokus izpodriva starega v lumen prebavnega trakta, s tem pa se odluči tudi adheriran dostavni sistem. Poleg tega lahko molekule odlučenega mukusa v lumnu prebavnega trakta interagirajo z dostavnim sistemom in na ta način onemogočijo njegovo adhezijo na sluznico črevesne stene (40, 41).

### 5.2 Alginat v sistemih za ciljano dostavo v kolon

Alginat je eden izmed številnih polisaharidov, ki ga v prebavnem traktu selektivno razgradijo encimi kolonske bakterijske mikroflore. To

lastnost alginata lahko izkoristimo za pripravo dostavnih sistemov s ciljno dostavo v kolon (42). Glavna omejitev polisaharidnih sistemov za ciljno dostavo v kolon je, da so to hidrofilni polimeri, ki sami po sebi ne uspejo zadržati sproščanja učinkovine do kolona. Z uporabo različnih polimernih oblog, ki se raztopijo po določenem času in/ali ob spremembi pH, lahko zagotovimo prihod dostavnega sistema v kolon brez prezgodnjega sproščanja učinkovine. Po prihodu alginatnega dostavnega sistema v kolon pa sproščanje učinkovine poteka zelo hitro zaradi razgradnje alginatnega ogrodja z bakterijskimi encimi.

## 6 Zaključek

Alginat je naraven polisaharidni polimer, ki ga zaradi svojih lastnosti, kot so nabrekanje in geliranje v prisotnosti različnih premeževalcev ali spremembi pH ter nekaterih drugih lastnosti, vedno pogosteje srečamo v dostavnih sistemih s prirejenim sproščanjem za različne učinkovine, vključno s proteini in encimi. Z izbiro ustreznega tipa alginata ter pogojev priprave alginatnega ogrodja lahko izdelamo dostavni sistem s časovno in/ali prostorsko prirejenim sproščanjem.

## 7 Literatura

1. Kumar MNVR, Kumar N. Polymeric controlled drug delivery systems: perspective issues and opportunities. *Drug Dev Ind Pharm* 2001; 27 (1): 1-30.
2. Bhardwaj TT, Kanwar M, Lal R et al. Natural gums and modified natural gums as sustained-release carriers. *Drug Dev Ind Pharm* 2000; 26 (10): 1025-1038.
3. Tønnesen HH, Karlsen J. Alginate in drug delivery systems. *Drug Dev Ind Pharm* 2002; 28: 621-630.
4. Shilpa A, Agrawal SS, Ray AR. Controlled delivery of drugs from alginate matrix. *J Macromol Sci Polym Rev* 2003; C43 (2): 187-221.
5. Gombotz WR, Wee SF. Protein release from alginate matrices. *Adv Drug Del Rev* 1998; 31: 267-285.
6. George M, Abraham TE. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: alginate and chitosan – a review. *J Control Release* 2006; 114: 1-14.
7. Malafaya BF, Silva GA, Reis RL. Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 207-233.
8. Coviello T, Matricardi P, Marianecchi C. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. *J Control Release*, 2007; 119: 5-24.
9. Draget KI, Skjåk Braek G, Smidsrød O. Alginic acid gels: the effect of alginate chemical composition and molecular weight. *Carbohydrate Polym* 1994; 25: 31-38.
10. Draget KI, Skjåk Braek G, Stokke BT. Similarities and differences between alginic acid gels and ionically crosslinked alginate gels. *Food Hydrocoll* 2006; 20: 170-175.
11. Bajpai SK, Sharma S. Investigation of swelling/degradation behaviour of alginate beads crosslinked with  $Ca^{2+}$  and  $Ba^{2+}$  ions. *React Funct Polym* 2004; 59: 129-140.
12. Ouwerx C, Velings N, Mestdagh MM et al. Physico-chemical properties and rheology of alginate gel beads with various divalent cations. *Polym Gels Netw* 1998; 6: 393-408.
13. Suzuki Y, Tanihara M, Nishimura Y et al. In vivo evaluation of a novel alginate dressing. *J Biomed Mater Res (Appl Biomater)* 1999; 48: 522-527.
14. Homar M, Šuligoj D, Gašperlin M. Preparation of microcapsules with self-microemulsifying core by a vibrating nozzle method. *J Microencapsul* 2007; 24 (1): 72-81.
15. Smrdel P, Bogataj M, Podlogar F et al. Characterization of calcium alginate beads containing structurally similar drugs. *Drug Dev Ind Pharm* 2006; 32: 623-633.
16. Smrdel P, Bogataj M, Mrhar A. The influence of selected parameters on the size and shape of alginate beads prepared by ionotropic gelatination. *Sci Pharm* 2008; 76: 77-89.
17. El – Kamel AH, Al-Gohary OMN, Hosny EA. Alginate–diltiazem hydrochloride beads: optimization of formulation factors, in vitro and in vivo availability. *J Microencapsul* 2003; 20 (2): 211-225.
18. Østberg T, Vesterhus L, Graffner C. Calcium alginate matrices for oral multiple unit administration: II. Effect of process and formulation factors on matrix properties. *Int J Pharm* 1993; 97: 183-193.
19. Rousseau I, Le Cerf D, Picton L et al. Entrapment and release of sodium polystyrene sulfonate (SPS) from calcium alginate gel beads. *Eur Polymer J* 2004; 40 (12): 2709-2715.
20. Almeida PF, Almeida AJ. Cross-linked alginate–gelatine beads: a new matrix for controlled release of pindolol. *J Control Release* 2004; 97: 431-439.
21. Fundueanu G, Nastruzzi C, Carpov A. Physico-chemical characterization of Ca–alginate microparticles produced with different methods. *Biomaterials* 1999; 20: 1427-1435.
22. Puttipathkachorn S, Pongjanyakul T, Priprem A. Molecular interaction in alginate beads reinforced with sodium starch glycolate or magnesium aluminium silicate, and their physical characteristics. *Int J Pharm* 2005; 293 (1-2): 51-62.
23. Zohar-Perez C, Chet I, Nussinovitch A. Irregular textural features of dried alginate-filler beads. *Food Hydrocoll* 2004; 18: 249-258.
24. Smrdel P, Bogataj M, Zega A et al. Shape optimization and characterization of polysaccharide beads prepared by ionotropic gelation. *J Microencapsul* 2008; 25 (2): 90-105.
25. Kedzierewicz F, Lombry C, Rios R et al. Effect of the formulation on the in-vitro release of propranolol from gellan beads. *Int J Pharm* 1999; 178: 129-136.
26. Poncelet D, Babak V, Dulieu C et al. A physico-chemical approach to production of alginate beads by emulsification-internal ionotropic gelation. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 1999; 155: 171-176.
27. Østberg T, Lund EM, Graffner C. Calcium alginate matrices for oral multiple administration: IV. Release characteristics in different media. *Int J Pharm* 1994; 112: 241-248.
28. Sugawara S, Imai T, Otagiri M. The controlled release of prednisolone using alginate gel. *Pharm Res* 1994; 11 (2): 272-277.
29. Sezer AD, Akbuga J. Release characteristics of chitosan treated alginate beads: II: Sustained release of a low molecular drug from chitosan treated alginate beads. *J Microencapsul* 1999; 16 (6): 686-696.
30. Ueng SW, Lee SS, Lin SS et al. Biodegradable alginate antibiotic beads. *Clin Orthop* 2000; 380: 250-259.
31. Kikuchi A, Okano T. Pulsatile drug release control using hydrogels. *Adv Drug Del Rev* 2002; 54: 53-77.
32. Martinsen A, Skjåk Braek G, Smidsrød O. Alginate as immobilization material: I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads. *Biotechnol Bioeng* 1989; 33: 79-89.



- 
33. Kim CK, Lee EJ. The controlled release of blue dextran from alginate beads. *Int J Pharm* 1992; 79 (1-3): 11-19.
  34. McGinity JW, Repka MA. Alginic acid. In: Rowe CR, Sheskey PJ, Owen SC. *Pharmaceutical excipients*. London, Pharmaceutical Press, Electronic version, 2006.
  35. Holte Ø, Onsøyen E, Myrvold R et al. Sustained release of water soluble drug from directly compressed alginate tablets. *Eur J Pharm Sci* 2003; 20: 403-407.
  36. Hodsdon AC, Mitchell JR, Davies C et al. Structure and behaviour in hydrophilic matrix sustained release dosage forms:3. The influence of pH on the sustained-release performance and internal gel structure of sodium alginate matrices. *J Control Release* 1995; 33: 143-152.
  37. Liew CW, Chan LW, Ching AL et al. Evaluation of sodium alginate as drug release modifier in matrix tablets. *Int J Pharm* 2006; 309: 25-37.
  38. Whitehead L, Collet JH, Fell JT. Amoxicillin release from a floating dosage form based on alginate. *Int J Pharm* 2000; 210 (1-2): 45-49.
  39. Murata Y, Sasaki N, Miyamoto E. Use of floating gel beads for stomach-specific drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 2000; 20 (2): 221-226.
  40. Lehr CM. Lectin-mediated drug delivery: The second generation of bioadhesives. *J Control Release* 2000; 65: 19-29.
  41. Junginger HE. Mucoadhesive hydrogels. *Pharm Ind* 1991; 53 (11): 1056-1065.
  42. Bogataj M, Mrhar A, Lavrič A, Černe M, Tibaut D, Štalc A, Urleb U, Mateović T, Cof G, Kerč J, Dreu R, Yoneda F, Muraoka S. Gastroresistant pharmaceutical dosage form comprising N-(2-(2-phthalimidoethoxy-) acetyl)-L-alanyl-D-glutamic acid (LK-423). *Publish Int Patent Appl WO 2005/092295 A1*, 6 October 2005.