

Roman Zarzycki, Zofia Modrzejewska, Katarzyna Nawrotek i Agata Skwarczyńska

Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska
Politechnika Łódzka
ul. Wólczańska 213, 90-924 Łódź
email: zmodrzej@wipos.p.lodz.pl

**PROCESY ADSORPCYJNE W TWORZENIU HYBRYDOWYCH UKŁADÓW
DO KONTROLOWANEGO UWALNIANIA
PREPARATÓW FARMACEUTYCZNYCH****ADSORPTION PROCESSES IN FORMING OF HYBRID STRUCTURES
FOR CONTROLLED RELEASE OF PHARMACEUTICALS**

Abstrakt: Przedstawiono możliwości wytwarzania układów hybrydowych do kontrolowanego uwalniania środków farmakologicznych przy wykorzystaniu nośników hydrożelowych i struktury w skali mikro i nano. Szczególną uwagę zwrócono na wytwarzanie takich układów w procesie adsorpcji, korzystając z nośnika chitozanowego. Przedstawiono modele opisujące stan równowagi oraz kinetykę w procesie sorpcji substancji modelowych.

Słowa kluczowe: adsorpcja, kontrolowane uwalnianie, chitozan, równowaga adsorpcyjna, kinetyka

Abstract: Possibilities of formation of hybrid systems for controlled drug release from hydrogel carriers and structures in micro- and nanoscale are discussed in the study. Attention is focussed on the formation of such systems in the adsorption process from a chitosan carrier. Models which describe the equilibrium state and sorption kinetics of model substances are presented.

Keywords: adsorption, controlled release, chitosan, equilibrium, kinetics

Wstęp

Tworzenie układów hybrydowych (nośnik + środek farmakologiczny) do kontrolowanego uwalniania stanowi podstawowy kierunek badań nad opracowaniem nowych postaci leków, mających na celu uzyskanie lepszej dostępności i skuteczności, przy ograniczonych działaniach ubocznych, a zatem najbardziej korzystny dla prowadzonej terapii. Hybrydowy układ można uzyskać, wprowadzając lek w trakcie jego formowania, bądź nanosić na nośnik w procesie adsorpcji. Wprowadzając środek farmakologiczny w trakcie formowania układu, uzyskuje się równomierne jego rozłożenie w strukturze, natomiast w przypadku formowania na drodze adsorpcyjnej stężenie leku w przekroju nośnika nie zawsze jest stałe, a w warstwie powierzchniowej może być zdecydowanie większe. Ilość zaadsorbowanego środka i głębokość jego penetracji w strukturę nośnika zależy zarówno od formy fizycznej nośnika (jego porowatości), jak i od charakteru oddziaływań nośnik-środek farmakologiczny. Najczęściej w przypadku wprowadzenia leku drogą adsorpcji profile uwalniania charakteryzują się gwałtowną desorpcją na początku procesu, czyli tzw. "burst effect". Wiadomo, że w ogólnym przypadku dąży się do eliminacji tego efektu. Tym niemniej układy takie również mogą być interesujące, np. gdy wymagana

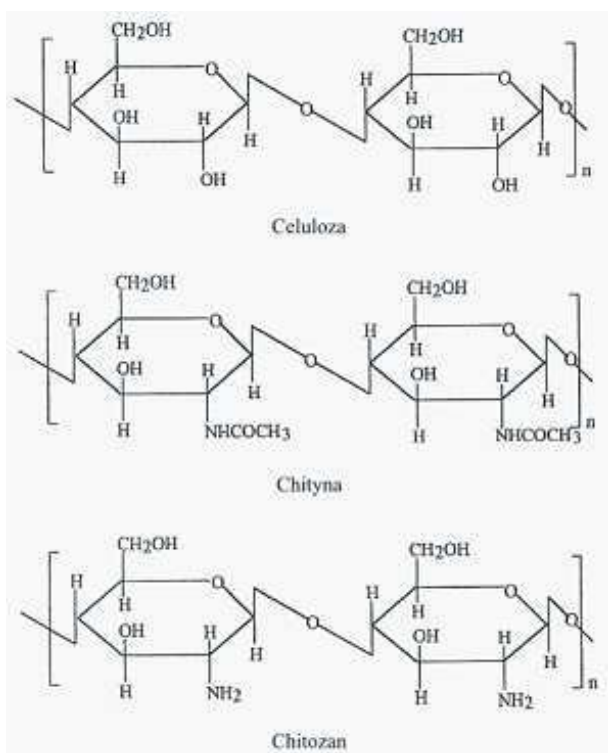
jest w pierwszym etapie leczenia duża dawka leku (zainfekowana rana), a następnie wystarczająca jest dawka podtrzymująca.

W przypadku adsorpcyjnego wprowadzania leku wpływ na profil uwalniania ma zarówno rodzaj polimeru wykorzystanego jako nośnik, jak i jego postać fizyczna.

Rodzaje nośników

Najczęściej nośnik wytwarzany jest z celulozy i jej pochodnych. Tym niemniej prowadzone są intensywne badania nad wykorzystaniem do tego celu innych polimerów pochodzenia naturalnego. Szczególne zainteresowanie budzi chityna, a zwłaszcza jej zdeacetylowana postać - chitozan. Chitozan jest kopolimerem (1,4-β)-2-acetyloamino-2-dezoksy-D-glukopiranozy i (1,4-β)-2-amino-2-dezoksy-D-glukopiranozy. Różnice w budowie chemicznej polimerów pochodzenia naturalnego przedstawiono na rysunku 1. Wykorzystanie chitozanu jako nośnika wynika z jego unikalnych właściwości. Jest polimerem stosunkowo łatwo ulegającym rozpuszczeniu w rozcieńczonych kwasach organicznych, takich jak: kwas octowy, mrówkowy, mlekowy, pirogronowy czy szczawiowy, a zatem

(w przeciwieństwie do polimeru wyjściowego - chityny) łatwo daje się przetworzyć w formy użyteczne (membrany, granulki w skali mikro czy makro itp.). Posiada reaktywną grupę aminową oraz pierwszo- i drugorzędowe grupy wodorotlenowe, występujące przy węglu C(3) i C(6), dzięki którym ma dobre właściwości adsorpcyjne, co w przypadku wytwarzania układów hybrydowych ma duże znaczenie. Wprowadzony bowiem lek może wiązać się z molekułą chitozanu w wyniku reakcji chemicznej (odwracalnej bądź nieodwracalnej). W przypadku reakcji nieodwracalnej desorpcja wymaga zmiany warunków zewnętrznych (np. zmiany pH), co daje podstawę do wykorzystania chitozanu jako nośnika czułego na bodźce zewnętrzne (*stimuli responsive*) [1-3]. Z danych literaturowych wynika, że jest to jeden z głównych kierunków badań nad nowymi postaciami leku, a możliwości wykorzystania takich materiałów są ogromne.



Rys. 1. Budowa chemiczna głównych polimerów naturalnych

Fig. 1. Chemical structure of natural polymers

Nośniki czułe na bodźce

Materiały „czułe na bodźce” są takie, dla których fizyczne bodźce zewnętrzne (temperatura, światło, pole mechaniczne, elektryczne lub magnetyczne) bądź bodźce o charakterze chemicznym (zmiana warunków pH, obecność ściśle określonych jonów lub molekuł chemicznych) wywołują szybkie, specyficzne zmiany ich właściwości, tzn. objętościowe przejście fazowe (OPF) lub też przejście typu żel-zol.

Najczęściej wytwarzane i stosowane są układy wykazujące objętościowe przejście fazowe w odpowiedzi na zmianę temperatury i pH [4-7].

Nośniki termowrażliwe

W przypadku układów wykazujących to przejście pod wpływem temperatury wykorzystane jest zjawisko utraty mieszalności polimeru powyżej pewnej temperatury zwanej krytyczną temperaturą rozpuszczalności. Mechanizm przejścia fazowego polimerów termowrażliwych został zaproponowany przez Heskinsa i Guilleta. Przejście fazowe związane jest z oddziaływaniami pomiędzy łańcuchami polimerowymi i molekułami wody oraz oddziaływaniami łańcuch-łańcuch. Położenie krytycznej temperatury rozpuszczalności wynika z nietrwałej równowagi pomiędzy oddziaływaniami hydrofilowymi a hydrofobowymi polimeru z wodą i zależy od zawartości elementów hydrofilowych i hydrofobowych w molekułach polimeru, ich rozkładu (kopolimery bezładne lub blokowe), topologii (polimery liniowe, szczepione, rozgałęzione) oraz masy molowej i obecności substancji małowcząsteczkowych w roztworze. Poniżej temperatury przejścia fazowego makromolekuła utrzymywana jest w roztworze dzięki sferze solwatacyjnej. Powstaje ona w wyniku utworzenia wiązań wodorowych pomiędzy hydrofilowymi fragmentami łańcucha polimerowego a molekułami wody. Dlatego polimery wykorzystywane do otrzymywania układów termoczulych zawierają ugrupowania chemiczne zarówno hydrofilowe, jak i hydrofobowe. Wzrost temperatury powoduje osłabienie wiązań wodorowych polimer-woda i dodatkowo promuje oddziaływanie hydrofobowe polimer-polimer (dipolowe, wodorowe, van der Waalsa itp.). Wytrąceniu polimeru z wodnego roztworu przy wzroście temperatury towarzyszy wzrost entropii układu. W rezultacie prowadzi to do zmiany struktury łańcucha do postaci kłębaka, separacji faz, a w przypadku trójwymiarowej sieci polimerowej objawia się to objętościowym przejściem fazowym. Formy te są odpowiednie do podawania parenteralnego. Aplikacja takiej postaci leku jest mniej inwazyjna i bolesna w porównaniu do implantów, których podanie wymaga interwencji chirurga oraz zastosowania znieczulenia miejscowego. Wprowadzać je można ponadto w trudno dostępne miejsca. Substancje lecznicze, np. antybiotyki, substancje przeciwnowotworowe wprowadzone są do roztworu polimeru i pod wpływem temperatury są unieruchomione w strukturze. Uwalnianie ich zachodzi powoli [8-12]. Termowrażliwe nośniki wytwarza się także, wykorzystując chitozan. Wytwarza się je z roztworów soli chitozanowych (głównie chlorku chitozanu) przy użyciu β -glicerofosforanu jako środka neutralizującego i umożliwiającego wzrost oddziaływań hydrofobowych [13-16]. Prowadzone są również badania nad otrzymywaniem termowrażliwych żeli chitozanowych na drodze reakcji enzymatycznych (enzymatyczna hydroliza mocznika przy użyciu ureazy aktywnej w temperaturze ciała ludzkiego) [17] oraz z użyciem alkoholu poliwinylowego PVA i wodorowęglanu sodu NaHCO_3 [18].

Nośniki wrażliwe na pH

Wrażliwość na zmiany pH z kolei wynika z chemicznej budowy nośnika polimerowego. Związane to jest z obecnością w łańcuchu polimerowym grup funkcyjnych

pochodzących od słabych zasad lub słabych kwasów. Przy małym pH segmenty polikwasów przyciągają się dzięki wodorowym oddziaływaniom pomiędzy niezjonizowanymi grupami karboksylowymi COOH. Oddziaływania wewnątrzcząsteczkowe powodują kurczenie makromolekuły do zwartej globuli, natomiast oddziaływania międzymolekularne odpowiedzialne za agregacje makromolekuł powodują wytrącenie polimeru z roztworu. Wraz ze wzrostem pH grupy karboksylowe ulegają jonizacji, odpychają się, powodując rozluźnienie łańcucha polimerowego, co prowadzi do przejścia polimeru do roztworu. Mechanizm przejścia fazowego dla polizasad ma podobny charakter, ale kierunek zmian jest odwrotny: dla małych wartości pH polimer rozpuszcza się, natomiast w środowisku zasadowym niejonizowane grupy aminowe tworzą między sobą wiązania wodorowe, a oddziaływania wewnątrz- i międzymolekularne powodują agregację makromolekuł i wytrącenie polimeru z roztworu [8-12]. Typowym przykładem słabego polielektrolitu zasadowego jest chitozan, a więc może on służyć jako nośnik wrażliwy na zmiany pH [19].

Nośniki hydrożelowe

Układy hybrydowe obecnie najczęściej wytwarzane są z hydrożeli oraz nośników w skali mikro, nano.

Hydrożelem według Hermansa jest jednorodny, ciągły, wzajemnie się przenikający dwuskładnikowy układ utworzony przez substancję stałą zdyspergowaną lub rozpuszczoną w fazie ciekłej. Pod działaniem sił mechanicznych zachowuje się on jak ciało stałe.

Układ taki powstaje na skutek różnorodnych oddziaływań między molekułami. Z uwagi na charakter tych oddziaływań żele można podzielić na:

1. chemiczne, w których makromolekuły są połączone ze sobą poprzez wiązania kowalencyjne, żele te są odporne chemicznie i termicznie, zerwanie wiązań sieciujących (na skutek reakcji chemicznych bądź pod wpływem naprężeń mechanicznych) powoduje zniszczenie struktury w sposób nieodwracalny;
2. fizyczne, w których makromolekuły połączone są wiązaniami wodorowymi bądź jonowymi. Przejście zolu w żel ma charakter odwracalny, następuje zazwyczaj w podwyższonej temperaturze bądź przy zmianie pH. O stabilności żelu decyduje przede wszystkim rodzaj oddziaływań polimer-rozpuszczalnik, polimer-polimer i rozpuszczalnik-rozpuszczalnik.

Szczególnie interesujące są ww. układy hybrydowe wytworzone z hydrożeli „czułych na bodźce”.

Hydrożele są wykorzystywane zarówno jako nośniki leków w procesie kontrolowanego uwalniania, jak i wykorzystywane jako implanty. Ich wielostronne zastosowanie wynika z ich licznych zalet: są elastyczne, miękkie, zbliżone swymi właściwościami do żywej tkanki, a zatem powodują minimalne mechaniczne podrażnienie po wszczepianiu *in vivo*. Z uwagi na obecność wody w strukturze brak jest adsorpcji białek i adhezji komórek w wyniku niskiego napięcia powierzchniowego między wodą

a hydrożelem. Możliwość sieciowania i zdolność do pęcznienia umożliwia modulowanie uwalniania inkorporowanej w matrycy substancji leczniczej. Ta droga podania leków stwarza możliwość aplikacji bardzo wrażliwych substancji leczniczych, takich jak peptydy czy białka. W przypadku termowrażliwych hydrożeli formujących się w fizjologicznej temperaturze ciała ludzkiego istnieje możliwość pozajelitowego wprowadzania leku (w formie iniekcji) w trudno dostępne chorobowo zmienione miejsca. Z kolei termowrażliwe hydrożele, które wykazują objętościowe przejście fazowe w zakresie temperatur $36,6\div 42^{\circ}\text{C}$, mogą być z powodzeniem wykorzystane jako „kierowany nośnik leku”, gdzie molekuły leku zostają uwolnione w specyficznym organie lub tkance. Wykorzystanie takich układów jest szczególnie wskazane w chorobach charakteryzujących się lokalną hipertermią patologicznej tkanki. W takim przypadku molekuły leku umieszczone w żelu po dotarciu do tkanki o podwyższonej temperaturze są uwolnione na skutek zmiany konformacji żelu i lek dociera do chorej tkanki [8-12, 20, 21].

Chitozan w postaci hydrożelu jest najczęściej badaną formą nośnika. Hydrożele wytwarzane są głównie w formie membran, granulek, struktur spienionych. Formuje się je w procesie inwersji faz (wykorzystując jako środek neutralizujący wodny roztwór wodorotlenku sodu NaOH, czy gazowy amoniak) [22], a także w reakcji polianion-polikation (przy użyciu alginianu sodu czy tri-, heksametafosforanu sodu) [23, 24].

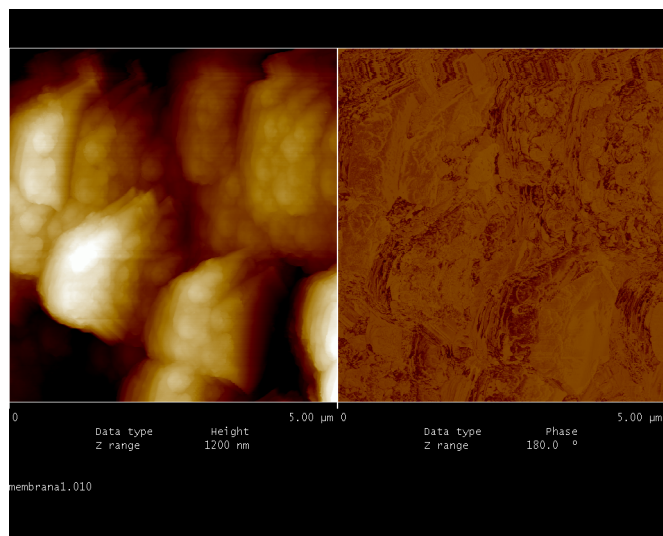
Nośniki w postaci mikrosfer

Szeroko opisane w literaturze i stosowane w praktyce do kontrolowanego uwalniania obok hydrożeli są mikrosfery. Ich średnica wynosi od 1 do 1000 μm . Morfologia, rozmiary cząstek, dystrybucja średnic i wydajność procesu zależą od metody wytwarzania. Podstawowy podział tych technik bierze pod uwagę rodzaj fazy, w której następuje formowanie się cząstek: faza gazowa lub faza ciekła. Do pierwszej grupy zalicza się techniki suszenia rozpyłowego oraz atomizację elektrohydrodynamiczną (EHDA), druga grupa obejmuje polimeryzację lub modyfikację chemiczną prowadzoną w roztworze oraz odparowanie rozpuszczalnika z emulsji.

Bardzo ważny, szczególnie w niektórych zastosowaniach (inhalacje) jest rozkład ich średnic. Lek wprowadzony w strukturę (w trakcie jej formowania bądź na drodze adsorpcji po jej uformowaniu) jest uwalniany w kontrolowany sposób najczęściej na drodze dyfuzji. W przypadku polimerów biodegradowalnych może jednocześnie zachodzić degradacja matrycy.

Mikrosfery wykorzystywane są także przy tworzeniu implantacyjnych systemów terapeutycznych, wykonane z biodegradowalnego materiału zawierające lek, są unieruchamiane w tkance (np. mięśniowej lub pod skórą). Taka droga podania umożliwia zarówno terapię lokalną, jak i ogólnoustrojową. Lek uwalnia się powoli, w sposób kontrolowany, co zmniejsza uciążliwość farmakoterapii. Wykorzystanie cząstek w skali mniejszej od średnicy naczyń

włosowatych pozwala ponadto na terapię celowaną, w której lek dociera selektywnie tylko do tkanek chorobowo zmienionych [8-12, 25].



Rys. 2. Mikrosfery otrzymane w procesie suszenia w warunkach nadkrytycznych [28]

Fig. 2. Microspheres formed by supercritical fluid processing [28]

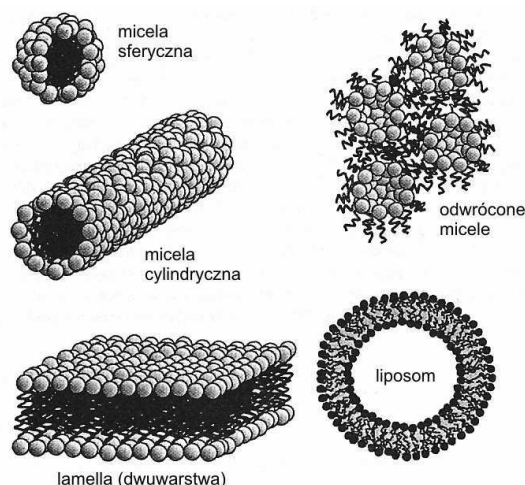
Mikrosfery chitozanowe wytwarza się głównie w procesie suszenia rozpyłowego [26, 27]. Wytwarza się je również w postaci hydrożeli, głównie na drodze reakcji polianion-polikation (głównie z fosforanami). Interesujące są również mikrogranulki otrzymane z emulsji o/w (olej/wodny roztwór chitozanu zawierający środki farmakologiczne), które stabilizuje się przy użyciu dodatkowych środków sieciujących bądź wykorzystuje zamiast sieciowania koalescencję, powodującą wytrącenie mikrogranulek w wyniku kontaktu emulsji zawierającej chitozan z emulsją zawierającą ług sodowy. Do wytwarzania mikrogranulek wykorzystuje się również proces suszenia hydrożeli w warunkach nadkrytycznych [28].

Nośniki w postaci nano

W kręgu zainteresowania inżynierii biomedycznej znajdują się obecnie również struktury w skali nano, a więc o rozmiarach rzędu 10^{-9} m. Szczególne nadzieje wiąże się z nimi w przypadku terapii antynowotworowych. Ich właściwości umożliwiają bowiem ingerencję w procesy biochemiczne zachodzące we wnętrzu komórki. Nanocząstki (<20 nm) mogą łatwo przechodzić przez ściany naczyń oraz pokonywać barierę krew-płyn mózgowo-rdzeniowy. Cząstki, przechodząc do przestrzeni pozanaczyniowej, mogą koncentrować się w guzie i, docierając do specyficznych białek na powierzchni komórki, przenosić przeciwciała molekularne lub białka integryny. Nośnikami tego typu mogą być liposomy, dendrymery, nanozłoto czy nanoplatyna [7-12, 29-31].

Do wytwarzania granulek chitozanowych w skali nano wykorzystuje się metodę odwróconych miceli [28, 32]. Użycie nośnika micelnego pozwala na uzyskanie

ultracienkich monodispersyjnych nanocząstek z wąskim rozkładem porów.



Rys. 3. Liposomy

Fig. 3. Liposomes

Liposomy

Liposomy są sferycznymi, zamkniętymi strukturami zbudowanymi z bimolekularnej warstwy lipidowej, która zamyka część rozpuszczalnika, w którym są zawieszone. Wbudować w nie można substancje o charakterze lipofilowym, amfifilowym i hydrofilowym. Amfifilowe rozmieszczają się w sposób zorientowany: grupa lipofilowa zwraca się w kierunku polisadowej części błon, a hydrofilowa w kierunku przestrzeni wodnej. Uwalnianie substancji czynnej odbywa się na drodze:

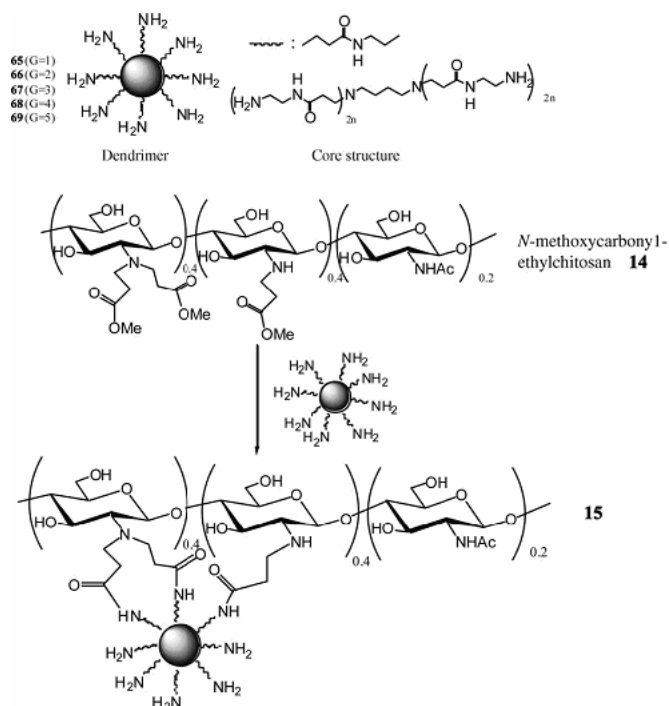
- asocjacji, która polega na tym, że zewnętrzna warstwa błony bimolekularnej łączy się z zewnętrzną częścią błony komórkowej, liposom zostaje unieruchomiony, a substancja lecznicza uwalnia się do wnętrza komórki;
- fuzji komórek, która z kolei polega na tym, że łączy się jedna warstwa liposomu z błoną komórkową, a liposom pomniejszony o jedną swoją warstwę przenika do wnętrza komórki, gdzie następuje strawienie otoczki;
- endocytozie - wchłaniana substancja nie przechodzi przez błonę komórkową, lecz błona komórkowa otacza liposom, który zostaje wchłonięty do wnętrza komórki [9, 33, 34].

Dendrymery

Dendrymery mają budowę kulistą o gęsto upakowanej powierzchni i wolnych wewnętrznych przestrzeniach. Są cząstkami o bardzo wielu ramionach, symetrycznie usytuowanych wokół centralnego rdzenia, a ich rozmiar i kompozycja może być regulowana przez pH, temperaturę i koncentrację. Struktura ich zatem stwarza niemal idealne warunki do unieruchamiania środków farmakologicznych i tworzenia układów hybrydowych. Najczęściej stosowaną drogą wprowadzenia środków farmakologicznych jest adsorpcja. Ponieważ dendrymer ma wiele takich grup, istnieje możliwość unieruchomienia na jego powierzchni

dużej liczby molekuł leku na drodze adsorpcji chemicznej. Ponadto, odpowiednio modyfikując powierzchnię dendrymeru (np. resztami kwasu foliowego), można spowodować uwalnianie leku w miejscu chorobowo zmienionym (terapia celowana), co jest szczególnie ważne w przypadku nowotworów [35, 36].

Chitozan wykorzystywany jest również do tworzenia układów hybrydowych z dendrymerami [37].



Rys. 4. Przykładowa struktura hybrydowa chitozan-dendrymer [37]

Fig. 4. Hybrid structure of chitosan-dendrimer

Nanocząstki polimerowe i metale

Równie interesujące jako nośniki leków są nanocząstki polimerowe oraz metale.

Dla przenoszenia leków najbardziej obiecujące są nanomuszelki. Obecnie badane są złote nanomuszelki, które, sterowane przez promieniowanie podczerwone, wchodzi do guza i niszczy go przez miejscowe podgrzewanie.

Stosuje się także kompleksy żelowe nanodiamentów związanych z lekami np. doksorubicyną.

Opracowano także kuliste, elastyczne nanocząstki z tlenków żelaza, które są powiązane z peptydami atakującymi guz i łańcuchem DNA. W łańcuchach DNA z kolei wprowadzony jest lek, np. cisplatyna. Gdy całość dotrze do guza, jest traktowana falami elektromagnetycznymi, nanocząstki rozgrzewają się i powodują, że łańcuch DNA rozplątuje się i lek zostaje uwolniony. Temperatura, w której DNA się rozplątuje, zależy od długości łańcucha. Można więc stworzyć cząstki, które reagują na różne temperatury. Poprzez zmianę częstotliwości fali elektromagnetycznej można rozgrzewać je w różnym stopniu, wielokrotnie stopniowo uwalniając lekarstwo.

Nanocząstki polimerowe są także doskonałymi nośnikami leków, ale z uwagi na bardzo szybkie usuwanie

z krążenia stosowanie ich jest poważnie ograniczone. W celu wydłużenia czasu przebywania w organizmie proponuje się przyłączenie ich np. do erytrocytów. Czas ich przebywania w krwiobiegu zwiększa się i teoretycznie wynosi tyle, ile żywot krwinki czerwonej. Nie grozi im fagocytoza, gdyż erytrocyty są przed nią chronione. Nie zaburza to normalnego krążenia krwi, a nanocząstki ostatecznie oddzielają się od erytrocytów na skutek działania sił mechanicznych i interakcji między komórkami, i usuwane są z krwiobiegu za pośrednictwem wątroby i śledziony. Metodę tę można zastosować przede wszystkim do leków, które będą nadal aktywne biologicznie po połączeniu z erytrocytem [29-31, 38].

Unieruchamianie w procesie sorpcji

Procesy sorpcji są alternatywnym sposobem, pozwalającym na wytworzenie układów hybrydowych do kontrolowanego uwalniania środków farmakologicznych. Unieruchamianie środków farmakologicznych w tym procesie jest wykorzystywane głównie w przypadku, gdy środek farmakologiczny jest polianionem i układ hybrydowy tworzy się w wyniku interakcji jonowej polianion-polikation. Z uwagi na obecność w molekuł chitozanu grup aminowych nadających polimerowi charakter polikationu można z jej udziałem tworzyć układy hybrydowe drogą adsorpcyjną. Układy z nośnikiem chitozanowym wytwarzano głównie z białkami bądź genami [39-42]. Obiecujące także są prace nad unieruchomieniem w ten sposób insuliny [43, 44]. Ponadto istnieje możliwość wytwarzania układów hybrydowych z jonami metali stanowiącymi potencjalny środek farmakologiczny (srebro - antybakteryjny; platyna - antynowotworowy) [45-47]. Jako sorbent wykorzystywano w tych przypadkach zarówno hydrożele, jak i struktury w skali nano. Interesujące jako sorbenty albuminy są np. magnetyczne nanocząstki chitozanowe wytworzone metodą mikro-emulsyfikacji (10÷20 nm) zawierające żelazo [39].

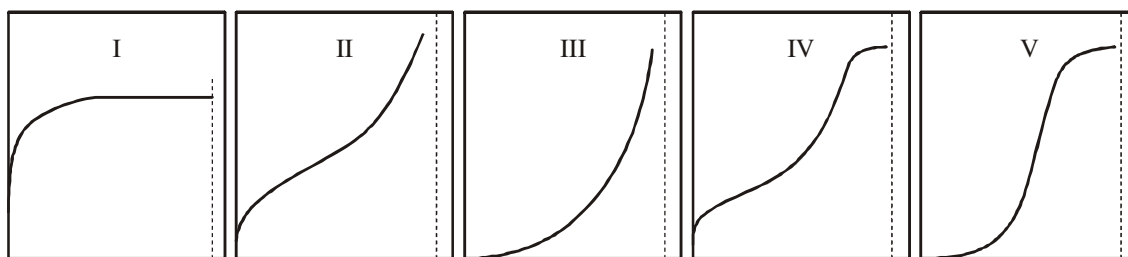
Metodą adsorpcyjną do nośnika chitozanowego wprowadzano także leki stosowane w terapii antynowotworowej (cisplatyna, fluorouracyl, centchroman), niesteroidowe leki przeciwzapalne (indometacyna), leki z grupy diuretyków (furosemid), antyalergenty (fumarany ketotiofenu oraz cyklodekstryny i koenzym A) [47-55].

Na hydrożelowych granulach chitozanowych możliwa jest również sorpcja lipidów, tłuszczów, kwasów żółciowych czy kwasu fulwinowego [52, 56, 57].

Równowaga w procesie sorpcji

W celu określenia maksymalnej ilości wprowadzonego leku wyznacza się izotermy sorpcji. Izotermy sorpcji przedstawiają zależność pojemności sorpcyjnej nośnika (q_A^*) od stężenia równowagowego środka farmakologicznego pozostającego w roztworze (C_A^*).

Brunauer sklasyfikował izotermy do opisu równowagi w procesie adsorpcji fizycznej w pięciu typach przedstawionych na rysunku 5.



Rys. 5. Typy izoterm sorpcji fizycznej

Fig. 5. Isotherm types of physical sorption

Typ I jest podstawową równowagą opisaną przez równanie Langmuira, stosowaną do mikroporowatych adsorbentów. Izotermi typu II i III uzyskuje się dla adsorbentów o szerokim rozkładzie porów. Typ IV sugeruje formowanie się dwóch warstw na powierzchni, a typ V obserwuje się przy dużych oddziaływaniach wewnątrzcząsteczkowych [58].

Przy opisie równowagi w procesie adsorpcji chemicznej, z którą często mamy do czynienia w przypadku sorpcji środków farmakologicznych na nośnikach mających reaktywne grupy, najczęściej przyjmuje się adsorpcję monowarstwową na powierzchni homogennej, a równowaga opisywana jest izotermą Langmuira. Zakłada ona, że na powierzchni adsorbentu znajduje się określona liczba miejsc aktywnych, proporcjonalna do pola powierzchni. Na każdym takim miejscu może zaadsorbować się tylko jedna molekula adsorbentu. Energia stanów każdej zaadsorbowanej molekuli nie zależy od obecności innych atomów lub cząsteczek adsorbentu w sąsiedztwie rozpatrywanego miejsca - wszystkie centra aktywne mają jednakowe powinowactwo do adsorbentu. Wiązanie adsorbentu z adsorbentem niezależnie, czy chemiczne czy fizyczne, jest dostatecznie silne, aby zaadsorbowane molekule nie przemieszczały się po powierzchni. Ponadto brak jest możliwości tworzenia wielowarstwy, energia adsorpcji jest stała, tzn. powierzchnia jest energetycznie jednorodna (homogenna). Izotermi wielowarstwowe zakładające nadbudowywanie na monowarstwie kolejnych warstw adsorbentu (BET Brunauera-Emmetta-Tellera, BDDT Brunauera-Deminga-Deminga-Tellera) dla sorpcji leków nie są wykorzystywane. Rzadko wykorzystuje się również równania dotyczące adsorpcji na powierzchniach energetycznie niejednorodnych (heterogennych).

W literaturze opisy równowag, wskazujące na heterogeny charakter powierzchni, korzystają głównie z równania Freundlicha. Szeroką dyskusję nad opisem stanu równowagi w przypadku sorpcji jonów metali w mikrogranulkach chitozanowych z uwzględnieniem równań opisujących adsorpcję na powierzchniach energetycznie niejednorodnych przeprowadzono w pracach [26, 59, 60].

W przypadku powierzchni energetycznie niejednorodnych (heterogennych) do opisu chemisorpcji wykorzystuje się izotermi wyprowadzone dla adsorpcji fizycznej, takie jak: izoterma Freundlicha (której odpowiada eksponencjalnie malejąca funkcja rozkładu), Totha

(zakładająca z kolei asymetryczny quasi-gaussowski rozkład energii adsorpcji poszerzony w kierunku małych energii adsorpcji), Langmuira-Freundlicha (znana pod nazwą izotermi Sipsa (o symetrycznym quasi-gaussowskim rozkładzie energii adsorpcji), Gaussa (zakładająca gaussowski rozkład energii adsorpcji), UNILAN (związana z prostokątnym rozkładem energii adsorpcji), oraz jej przybliżenie - dwuparametrowa izoterma Tiomkina (odpowiadająca ciągłemu, nieskończonemu rozkładowi energii miejsc adsorpcyjnych), a także izoterma Redlicha-Petersona.

Do opisu adsorpcji w mikroporach w ogólnym przypadku stosuje się izotermę Stoecklego. Pozwala ona w sposób ogólny opisać adsorpcję na ciele stałym o dowolnym rozkładzie mikroporów (tzn. strukturalnie niejednorodnym); różnice w modelu adsorpcji wynikające z kształtu mikroporów uwzględnia się poprzez odpowiedni dobór tzw. izotermi lokalnej. Jako izotermę lokalną wykorzystuje się przede wszystkim równanie Dubinina-Raduszkiewicza. Często, zgodnie z teorią objętościowego zapełniania mikroporów wykorzystuje się zarówno izotermę Freundlicha, jak również Dubinina-Astachowa. Układy adsorpcyjne o właściwościach pośrednich pomiędzy ww. izotermami opisać można izotermą eksponencjalną (izoterma eksponencjalna Jarońca). W przypadku adsorbentu charakteryzującego się mezoporami ważnym zjawiskiem w procesie adsorpcji jest kondensacja kapilarna. Jako izotermi adsorpcji w mezoporach stosuje się zwykle izotermi Harkinsa-Jury i Halseya.

Równowagi sorpcji opisuje się także teorią objętościowego zapełniania mikroporów, wykorzystując równanie Dubinina-Raduszkiewicza.

Najczęściej wykorzystywane w literaturze modele można przedstawić następującymi równaniami:

- Langmuira (L):

$$q_A^* = \frac{K_A C_A^* q_{\max}}{1 + K_A C_A^*} \quad (1)$$

gdzie: q_A^* - stężenie równowagowe jonu w fazie stałej, K_A - stała równowagi, C_A^* - stężenie równowagowe jonu w fazie ciekłej, q_{\max} - pojemność sorpcyjna.

- Freundlicha (F):

$$q_A^* = K_A C_A^{*n} \quad (2)$$

- Langmuira-Freundlicha (L-F):

$$q_A^* = \frac{(K_A C_A^*)^n q_{\max}}{1 + (K_A C_A^*)^n} \quad (3)$$

gdzie n - stała określająca heterogeniczność powierzchni sorbentu.

- Redlicha-Petersona (R-P):

$$q_A^* = \frac{K_A C_A^* q_{\max}}{1 + (K_A C_A^*)^n} \quad (4)$$

- Totha (T):

$$q_A^* = \frac{K_A C_A^* q_{\max}}{\left[1 + (K_A C_A^*)^n\right]^{1/n}} \quad (5)$$

- Dubinina-Raduszkiewiczza (D-R):

$$\log q_A^* = -n \left[\log^2 (K_A C_A^*) \right] + \log q_{\max} \quad (6)$$

Parametry modeli wyznacza się, stosując linearyzację równań bądź wykorzystując metody analizy regresji nieliniowej (programy komputerowe np. Mathematica®, Origin). W przypadku chitozanu, z uwagi na zmianę ładunku powierzchniowego w zależności od pH adsorbentu i równoległe zachodzące procesy protonowania i chelatowania, dokładny opis procesu adsorpcji jest trudny. Modele uwzględniające wpływ pH na profil izotermy sorpcji opisują równania zawierające dodatkowy człon uwzględniający obecność protonów, np. model Langmuira przedstawiony jest równaniem:

$$q_A^* = \frac{q_{\max} K_A C_A^*}{1 + K_A C_A^* + K_A K_H C_H^*} \quad (7)$$

gdzie: K_H - pozorna stała dysocjacji dla protonów, C_H^* - stężenie równowagowe protonów w roztworze.

Kinetyka sorpcji

Opis kinetyki procesu sorpcji jest skomplikowany z uwagi na różnorodność zjawisk tam zachodzących. Zazwyczaj przyjmuje się, że proces składa się z następujących etapów:

1. dyfuzja zewnętrzna - substraty dyfundują z rdzenia fazy ciekłej do zewnętrznej powierzchni złoża,
2. dyfuzja w porach adsorbentu,
3. adsorpcja na powierzchni, oraz często
4. na powierzchni zachodzi reakcja chemiczna. Równocześnie mogą zachodzić procesy odwrotne:
5. desorpcja,
6. dyfuzja związku w porach adsorbentu w kierunku zewnętrznej powierzchni,
7. wnikanie związku z powierzchni adsorbentu do rdzenia fazy płynnej.

Etapy 1, 2, 6 i 7 zachodzące w fazie płynnej mają charakter fizyczny. Zmiany wewnętrznej struktury charakterystyczne dla chemisorpcji dokonują się na powierzchni w etapach 3-5. Etapy te nazwane są procesem powierzchniowym.

Określenie szybkości całego procesu przy uwzględnieniu wszystkich etapów jest bardzo trudne. Procesy 1-2; 6-7 mają charakter szeregowy; procesy adsorpcyjno-reakcyjne 3-5 szeregowo-równoległy, ponadto nie jest również znany mechanizmu sorpcji, a więc opis procesu sorpcji metodami analitycznymi jest praktycznie niemożliwy.

Najczęściej szybkość procesu opisuje się etapem najwolniejszym bądź, nakładając pewne założenia, prowadzi się modelowanie całego procesu.

Tabela 1
Reakcyjne modele opisu kinetyki procesu sorpcji

Table 1
Reaction models of the sorption kinetics process

Modele reakcyjne	
1	2
Reakcja I rz. nieodwracalna	
$-\frac{dC_A}{dt} = k_1 C_A$	$\frac{dq_A}{dt} = k_1 (q_A^* - q_A)$
Reakcja I rz. odwracalna	
$-\frac{dC_A}{dt} = k_{11} C_A +$ $-k_{12} (C_{A0} - C_A)$	$\frac{dq_A}{dt} = k_{11} (q_{\max} - q_A) - k_{12} q_A$
Reakcja II rz. nieodwracalna	
$-\frac{dC_A}{dt} = k_2 C_A^2$	$\frac{dq_A}{dt} = k_2 (q_A^* - q_A)^2$
Reakcja II rz. odwracalna	
$-\frac{dC_A}{dt} = k_{21} C_A^2 +$ $-k_{22} (C_{A0} - C_A)^2$	$\frac{dq_A}{dt} = k_{21} (q_{\max} - q_A)^2 - k_{22} q_A$
Reakcje mieszane	
II rz. \rightleftharpoons I rz. $\frac{dq_A}{dt} = k_1 (q_{\max} - q_A)^2 - k_2 q_A$	
I rz. \rightleftharpoons II rz. $\frac{dq_A}{dt} = k_1 (q_{\max} - q_A) - k_2 q_A^2$	
Równanie Ritchie	
$\frac{d\Theta}{dt} = k_R (1 - \Theta)^n$	
Równanie Avramiego	
$\alpha = 1 - \exp^{-(k_{Av} t)^n}$	

gdzie: q_A - ilość sorbowanego składnika w fazie stałej w danym czasie, C_A - stężenie składnika w fazie ciekłej w danym czasie, C_{A0} - początkowe stężenie składnika w fazie ciekłej, k - stałe szybkości reakcji z indeksem 1 dla reakcji pierwszorzędowej, 2 dla drugorzędowej, k_R - stała szybkości równania Ritchie, k_{Av} - stała szybkości równania Avramiego, q_A^* - ilość sorbowanego składnika w fazie stałej w równowadze, q_{\max} - maksymalna ilość zaadsorbowanego składnika w fazie stałej, K_A - stała szybkości adsorpcji, K_d - stała szybkości desorpcji, $\Theta = \frac{q_A}{q_{\max}}$ - pokrycie powierzchni,

α - stopień adsorpcji, $n = 1$ lub $n = 2$ w zależności, czy zachodząca reakcja traktuje się jako I- lub II-rzędową.

W literaturze do opisu kinetyki procesu sorpcji najczęściej stosuje się dwa modele: reakcyjny i dyfuzyjny. W obu pomija się dyfuzję zewnętrzną, zakładając, że nie jest ona etapem limitującym. W obu modelach przyjmuje się, że całkowity opór procesu leży w jednym z procesów cząstkowych.

W modelu reakcyjnym proces ma charakter chemisorpcji zachodzącej z jednakową szybkością w całej objętości adsorbentu, mieszanie powoduje homogenny rozdział między roztworem zawierającym substancję adsorbowaną a adsorbentem w postaci ciała stałego - reakcja zachodzi w całej objętości, w związku z czym szybkość reakcji jest niezależna od średnicy adsorbentu. Można ją opisać równaniami przedstawionymi w tabeli 1; gdzie w kolumnach (1) oznaczono proces rozpatrywany od strony fazy ciekłej, (2) od strony fazy stałej.

W modelu dyfuzyjnym całkowita szybkość zależy od dyfuzji. Stosuje się dodatkowo alternatywnie dwa założenia:

1. zupełny brak reakcji,
2. reakcja jest natychmiastowa.

Końcowe postacie zależności modelowych otrzymuje się, rozwiązując różniczkowe równania dyfuzji w ziarnie.

W ogólnym przypadku w modelach dyfuzyjnych kinetyka sorpcji może być kontrolowana przez zewnętrzną bądź wewnętrzną opór transportu masy oraz przez oba opory jednocześnie. Można otrzymać wtedy równanie modelowe w obszarach o liniowym przebiegu izotermy równowagi Langmuira. Najczęściej jednak przyjmuje się, że kinetyka kontrolowana jest przez wewnętrzną opór transportu masy i bierze się pod uwagę prostoliniową część izotermy, zakładając tym samym, że front sorpcji przesuwa się stopniowo w głąb ziarna sorbentu - modele te nazywane są modelami nieprzereagowanego rdzenia.

W literaturze można znaleźć opisy szybkości procesu, gdy całkowity opór zlokalizowany jest na etapie adsorpcji. Szybkość procesu opisana jest wtedy równaniem:

Langmuira

$$\frac{dq_A}{dt} = K_a C_A (q_{\max} - q_A) - K_d q_A \quad (8)$$

Nikolskiego

$$\frac{dq_A}{dt} = K_a C_A (q_{\max} - q_A) - K_d q_A (C_{A0} - C_A) \quad (9)$$

Wadą tych modeli jest założenie, że opór ruchu masy ma miejsce w jednym z etapów cząstkowych:

- dyfuzji wewnętrznej,
- adsorpcji,
- reakcji chemicznej.

Celem uniknięcia tych wad opracowano model procesów sorpcji (adsorpcji oraz desorpcji), w którym uwzględnia się w modelowaniu te trzy procesy cząstkowe. Istota modelu pokazana jest na rysunku 6. Składnik A (np. lek) dyfunduje w porach hydrożelu z szybkością N_A i równocześnie sorbuje się na jego powierzchni. Szybkość dyfuzji opisana jest prawem Ficka:

$$N_A|_{r=R} = -D_{AB} \cdot \frac{\partial C}{\partial r}|_{r=R} \quad (10)$$

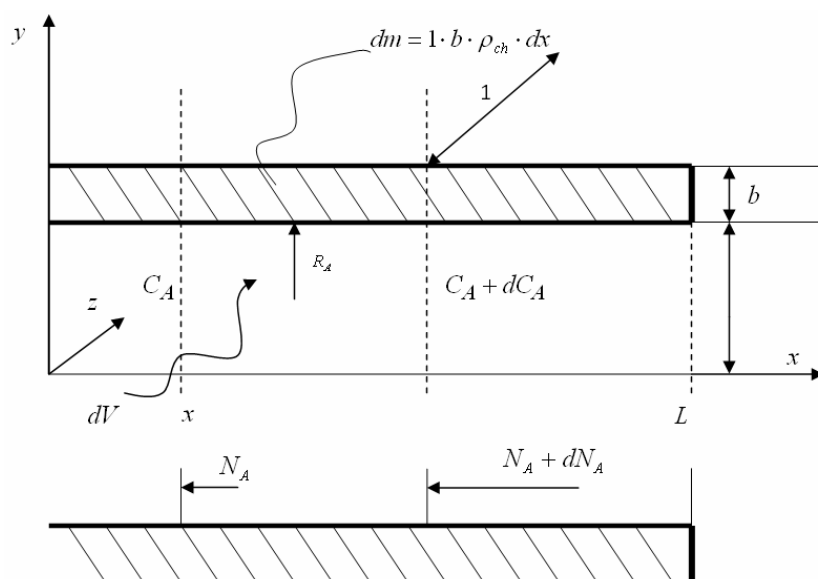
a szybkość procesów reakcyjno-powierzchniowych zależnością:

$$R_A = k_A (C_A - C_{Aeq}) \quad (11)$$

gdzie: k_A - współczynnik procesu powierzchniowego, C_A - stężenie składnika A w porze, C_{Aeq} - stężenie składnika A na granicy rozdziału faz.

Na powierzchni pora istnieje stan równowagi fizykochemicznej opisany zależnością Langmuira:

$$C_{Aeq} = f(q^*) \quad (12)$$



Rys. 6. Istota modelu równoczesnej dyfuzji i adsorpcji

Fig. 6. The model with simultaneous diffusion and adsorption

Procesy sorpcji są opisane trzema równaniami różniczkowymi, których rozwiązanie opisuje kinetykę całego procesu.

Dla różniczkowej objętości płynu w porach zmianę stężenia opisuje równanie:

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} = D_{AB} \left(\frac{2}{r} \frac{\partial C_A}{\partial r} + \frac{\partial^2 C_A}{\partial r^2} \right) - R_A \cdot a_w \quad (13)$$

Dla fazy płynnej (kąpieli zewnętrznej):

$$\alpha \cdot n \cdot 4\pi \cdot R^2 \cdot N_A \Big|_{r=R} = V_f \cdot \frac{dC_f}{dt} \quad (14)$$

Bilans masy składnika A dla ciała stałego przedstawia równanie:

$$dm \cdot \frac{dq}{dt} = R_A \cdot a_w \cdot \varepsilon \cdot dV \quad (15)$$

Model opracowano do procesu sorpcji jonów w hydrożelu chitozanowym o homogennym rozkładzie porów. Proces opisany jest tylko jednym stałym, niezależnym od stężenia parametrem - tzw. stałą procesu powierzchniowego. Weryfikacja z danymi doświadczalnymi prezentowana w pracy wskazuje, że model dobrze opisuje proces sorpcji.

Rudziński i Plaziński [2008] proponują jako alternatywne do istniejącej teorii kinetyki reakcji chemicznych wykorzystanie przy opisie kinetyki Statystycznej Teorii Transportu SRT.

Teoria SRT pozwala na zidentyfikowanie możliwych (najbardziej prawdopodobnych) ścieżek dysocjacji i adsorpcji.

Podsumowanie

- Struktury hybrydowe do kontrolowanego uwalniania środków farmakologicznych wytwarza się, wprowadzając środek farmakologiczny w trakcie formowania tego układu oraz alternatywnie nanosi się na nośnik w procesie sorpcji.
- Proces sorpcji wykorzystuje się najczęściej w tworzeniu układów hybrydowych w przypadku, gdy nośnik i środek farmakologiczny łączą się w wyniku reakcji jonowej.
- Interesujące zarówno z punktu widzenia badawczego, jak i aplikacyjnego są nośniki hydrożelowe i struktury w skali mikro i nano. Szczególną uwagę zwraca się na nośnik chitozanowy. Przedmiotem badań są zarówno hydrożele chitozanowe (szczególnie formujące się w fizjologicznej temperaturze ciała ludzkiego), jak i struktury w skali mikro i nano (nanocząstki wytwarzane drogą emulsyfikacji).
- Proces sorpcji opisuje się, wyznaczając stan równowagi oraz przedstawiając kinetykę. Równowaga najczęściej opisywana jest równaniem Langmiura - kinetyka modelami reakcyjnymi (I lub II rzędu). W hydrożelach kinetykę sorpcji dobrze opisuje model łączący proces dyfuzji z zachodzącą równocześnie reakcją chemiczną.

Podziękowania

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2007-2009 w ramach projektu badawczego N208 2940 33.

Literatura

- [1] Saito K., Fujieda T. i Yoshioka H.: Eur. J. Pharm. Biopharm., 2006, **64**(2), 161-166.
- [2] Sinha V.R., Singla A.K., Wadhawan S., Kaushik R., Kumria R., Bansal K. i Dhawan S.: Int. J. Pharm., 2004, **274**(1-2), 1-33.
- [3] Hui-Chia Y. i Min-Hsiung H.: Microchem. J., 2009, **92**(1), 87-91.
- [4] Srinivas G., Harikrishna D., Aliasgar S. i Mansoor A.: J. Control. Release, 2008, **126**(3), 187-204.
- [5] Hideaki T., Masahiro S. i Shuji S.: Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects, 2006, **273**(1-3), 70-74.
- [6] Salehi R., Arsalani N., Davaran S. i Entezami A.A.: J. Biomed. Mater. Res. A, 2009, **89**(4), 919-28.
- [7] Biodegradable pH/thermosensitive hydrogels for sustained delivery of biologically active agents, United States Patent 6451346
- [8] Pluta J. i Karolewicz B.: Polimery Med., 2004, (3), 63-81.
- [9] Utrata-Wesołek, Trzebiecka B. i Dworak A.: Polimery, 2008, **53**(10), 1717-1724.
- [10] El Fray M.: Polimery Biomed., 2005, **9**(4), 10-14.
- [11] Pluta J. i Karolewicz B.: Polimery Med., 2004, (2), 3-19.
- [12] Bartkowiak A.: Kompozytowe żele polisacharydowe, praca doktorska, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny Szczecin 1996.
- [13] Xia J.Q., Guang C.X., Sheng Z.Q., Sheng L.C., Jie C.X. i Chong W.L.: J. Mater. Sci.: Mater. Med., 2009, **20**(8), 1603-1610.
- [14] Yun Z.H., Guang C.X., Ming K., Sheng L.C., Su C.D. i Kennedy J. F.: Carbohydr. Polymers, 2008, **73**(2), 265-273.
- [15] Zhao Q.S., Ji Q.X., Xing K., Li X.Y., Liu C.S. i Chen X.G.: Carbohydr. Polymers 2009, **76**, 410-416.
- [16] Zarzycki R., Modrzejewska Z. i Wojtasz-Pająk A.: Progr. Chem. Appl. Chitin Derivat., 2008, 35-41.
- [17] Chenite A., Gori S., Shive M., Desrosiers E. i Buschmann M.D.: Carbohydr. Polymers, 2006, **64**(3), 419-424.
- [18] Yu-Feng T., Yu-Min D., Xian-We H., Xiao-Wen S. i Kennedy J.F.: Carbohydr. Polymers, 2007, **67**(4), 491-499.
- [19] Shu X.Z., Zhu K.J. i Weihong S.: Int. J. Pharm., 2001, **212**(1), 19-28.
- [20] Chien-Chi L. i Anseth K.S.: Pharm. Rev., 2009, **26**(3), 631-643.
- [21] Chien-Chi L. i Andrew T.: Adv. Drug Delivery Rev., 2006, **58**, 1379-1408.
- [22] Berger J., Reist M., Mayer J.M., Felt O. i Gurny R.: Eur. J. Pharm. Biopharm., 2004, **57**(1), 35-52.
- [23] Shu X.Z. i Zhu K.J.: Eur. J. Pharm. Biopharm., 2002, **54**(2), 235-243.
- [24] Meera G. i Emilia T.: J. Control. Release, 2006, **114**(1), 1-14.
- [25] Van Tomme S.R., van Nostrum C.F., Dijkstra, Marjolein D., De Smedt i Stefaan C.: Eur. J. Pharm. Biopharm., 2008, **70**(2), 522-530.
- [26] Gupta K.C. i Jabrail F.H.: Carbohydr. Polymers, 2006, **66**(1), 43-54.
- [27] Adamiec J. i Modrzejewska Z.: Drying Technol., 2005, 1601-1611.
- [28] Dorabalska M.: Granulki chitozanowe wytwarzane w procesie suszenia w warunkach nadkrytycznych, praca doktorska. Polit. Łódź., Łódź 2007.
- [29] Kułakowski A.: NANO - technologia XXI wieku, Puls, 2009, 10.
- [30] Chen X. i Schluessener H.J.: Toxicol. Letts, 2008, **176**(1) 1-12.
- [31] Mukherjee P., Bhattacharya R., Wang P., Wang L., Basu S., Nagy J.A., Atala A., Mukhopadhyay D. i Soker S.: Clinical Cancer Res., 2010, 1-4.
- [32] Hui-Chia Y. i Min-Hsiung H.: *The effect of the molecular weight of chitosan nanoparticles and its application on drug delivery.* Microchem. J., 2009, **92**(1), 87-91.
- [33] Kenji K.: Adv. Drug Delivery Rev., 2001, **53**(3), 307-319.
- [34] Si-Shen F., Gang R. i Qiu-Tian L.: Biomaterials, 2004, **25**(21), 5181-5189.
- [35] Cloninger M.J.: Curr. Opinion Chem. Biol., 2002, **6**(6), 742-748.

- [36] Chie K., Celeste R., Yasuhito U., Hisataka K. i Kenji K.: *Int. J. Pharm.*, 2010, **383**(1-2), 293-296.
- [37] Hitoshi S. i Sei-ichi A.: *Progr. Polymer Sci.*, 2004, **29**(9), 887-908.
- [38] Knopp D., Tang D. i Niessner R.: *Anal. Chim. Acta*, 2009, **647**(1), 14-30.
- [39] Quan G. i Wang T.: *Colloids Surf., B: Biointerf.*, 2007, **59**(1), 24-34.
- [40] Wang Y., Wang X., Guangsheng L. i Youyuan D.: *Bioresour. Technol.*, 2008, **99**(9), 3881-3884.
- [41] Gerrit B.: *Advan. Drug Deliv. Rev.*, 2001, **52**(2), 145-150.
- [42] Lee J.I., Jung I., Sung K.H. i Sang Y.H.: *Int. J. Pharm.*, 2009, **373**(1-2), 93-99.
- [43] Lian-Yan W., Yong-Hong G., Zhi-Guo Su. i Guang-Hui M.: *Int. J. Pharm.*, 2006, **311**(1-2), 187-195.
- [44] Mueller B.Y.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2008, **69**(1), 388-395.
- [45] Chunmeng S., Ying Z., Xinze R., Meng W., Yongping Su. i Tianmin C.: *J. Surgical Res.*, 2006, **133**(2), 185-192.
- [46] Wen-Li D., Shan-Shan N., Ying-Lei X., Zi-Rong X. i Cheng-Li F.: *Carbohydr. Polym.*, 2009, **75**(3), 385-389.
- [47] Carraher C.E.Jr. i Swift G.G.: *Functional Condensation Polymers, Towards the Synthesis of Water Soluble Cancer Drugs*. Springer US, 2007.
- [48] Zhang D.Y., Shen X.Z. i Wang J.Y.: *World J. Gastroenter.*, 2008, **14**(22), 3554-3562.
- [49] Tze-Wen C., Shyr-Yi L., Der-Zen L., Yu-Chang T. i Juin-Sen Y.: *Int. J. Pharm.*, 2009, **382**(1-2), 39-44.
- [50] Fwu-Long Mi., Shin-Shing S., Chin-Ta C. i Juin-Yih L.: *Polymer*, 2002, **43**(3), 757-765.
- [51] Gupta K.C. i Habeeb J.F.: *Carbohydr. Res.*, 2006, **341**(6), 744-756.
- [52] Jia Z., Yujun W. i Guangsheng L.: *React. Funct. Polymers*, 2005, **65**(3), 249-257.
- [53] Alkhamis K.A., Salem M.S. i Khanfar M.S.: *AAPS Pharm. Sci. Technol.*, 2008, **9**(3), 866-869.
- [54] Fei Z., Shaoguang L. i Yue C.: *Carbohydr. Polymers*, 2008, **72**(3), 456-461.
- [55] Baolin G., Jinfang Y. i Qingyu G.: *J. Mater. Sci.: Mater. Medic.*, 2007, **18**(5), 753-757.
- [56] Helgason T., Gislason J., McClements D.J., Kristbergsson K. i Weiss J.: *Food Hydrocol.*, 2009, **23**(8), 2243-2253.
- [57] Kequan Z., Wenshui X., Can Z. i Yu Liangli L.: *LWT - Food Sci. Technol.*, 2006, **39**(10), 1087-1092.
- [58] Ruthven D. M.: *Principles of Adsorption and Adsorption Processes*. Wiley, New York 1984.
- [59] Hideaki T., Ryoichi K. i Shuji S.: *Separat. Purificat. Technol.*, 2005, **44**(2), 152-159.
- [60] Zarzycki R., Rogacki G. i Modrzejewska Z.: *Chem. Proc. Eng.*, 2008, **29**, 801-811.