

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

HELENA VRBANAC

**VPLIV SAHAROZE, NATRIJEVEGA KLORIDA IN PEKTINA V MEDIJIH  
RAZLIČNIH VREDNOSTI pH NA SPROŠČANJE PARACETAMOLA IZ  
OGRODNIH TABLET**

**THE INFLUENCE OF SUCROSE, SODIUM CHLORIDE AND PECTIN IN  
DISSOLUTION MEDIA WITH DIFFERENT pH VALUES ON RELEASE OF  
ACETAMINOPHEN FROM MATRIX TABLETS**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2017

Magistrsko nalogo sem opravljala na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani, pod vodstvom prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm.

### *Zahvala*

*Iskreno se zahvaljujem mentorici, prof. dr. Mariji Bogataj, mag. farm. in delovni mentorici dr. Ani Krese, mag. farm. za strokovno pomoč, praktične nasvete in usmeritve pri laboratorijskem delu. Zahvaljujem se tudi Greti Cof, Nevenki Lilik in Tjaši Felicijan za vso pomoč in nasvete ter mojim prijateljem za besede vzpodbude.*

*Največja zahvala pa gre moji družini, ki mi je omogočila študij in mi stala ob strani. Hvala za vso potrpežljivost in podporo.*

### Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod vodstvom prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm.

Helena Vrbanac

Predsednik komisije: prof. dr. Samo Kreft, mag. farm.

Član komisije: doc. dr. Rok Frlan, mag. farm.

# KAZALO VSEBINE

1. POVZETEK .....	5
2. ABSTRACT .....	7
3. SEZNAM UPORABLJENIH OKRAJŠAV .....	9
4. UVOD.....	10
4.1 Prirejeno sproščanje.....	10
4.2 Mehanizmi podaljšanega sproščanja .....	10
4.3 Hidroksipropil metilceluloza in njene lastnosti .....	11
4.3.1 Substitucijski tipi HPMC.....	12
4.3.2 Topnost polimera v vodi in HPMC hidrogeli .....	13
4.4 Hidrofilni ogrodni sistemi .....	14
4.4.1 Mehanizmi sproščanja iz hidrofilnega ogrodnega sistema.....	15
4.5 Hidratacija HPMC polimera v hidrofilnem ogrodnem sistemu .....	16
4.5.1 Vpliv soli .....	17
4.5.2 Vpliv sladkorjev .....	18
4.5.3 Vpliv kombinacije sladkorjev in soli.....	20
4.5.4 Vpliv pH medija .....	22
5. NAMEN DELA .....	23
6. MATERIALI IN METODE .....	24
6.1 Uporabljene snovi.....	24
6.2 Uporabljena laboratorijska oprema .....	24
6.3 Izdelava tablet.....	25
6.5 Lastnosti učinkovine.....	25
6.6 Priprava medijev za sproščanje .....	26
6.7 Testi sproščanja .....	28
6.8 Priprava in analiza vzorcev.....	30
6.9 Umeritvene premice .....	30
6.10 Izračun deleža sproščenega paracetamola .....	32
7. REZULTATI .....	34
7.1 Enačbe umeritvenih premic .....	34
7.2 Profili sproščanja .....	36
8. RAZPRAVA.....	48
8.1 Ponovljivost med paralelami .....	49
8.2 Vpliv NaCl.....	50
8.3 Vpliv naraščajoče koncentracije saharoze .....	52

8.4 Vpliv pH medija .....	54
8.4.1 Vpliv pH medija v prisotnosti topljencev .....	54
8.5 Vpliv pektina .....	56
8.5.1 Vpliv pektina na sproščanje v medijih z različnim pH.....	56
8.5.2 Vpliv pektina na sproščanje paracetamola v medijih z naraščajočo koncentracijo NaCl in različnimi pH vrednostmi .....	57
8.5.3 Vpliv pektina na sproščanje paracetamola v medijih z naraščajočo koncentracijo saharoze in različnimi pH vrednostmi .....	58
8.6 Možnosti nadaljnjih poskusov .....	60
9. SKLEP .....	61
10. LITERATURA .....	63

# 1. POVZETEK

Zaradi številnih prednosti, ki jih imajo farmacevtske oblike (FO) s podaljšanim sproščanjem v primerjavi z običajnimi, so dandanes te na trgu zelo zaželeno in zato tudi pogoste. V primeru hidrofilnih ogrodnih tablet, ki so ena izmed oblik s podaljšanim sproščanjem, se kot hidrofilni polimer zelo pogosto uporablja hidroksipropil metilceluloza ali krajše HPMC. Takšni dostavni sistemi morajo biti odporni na številne fizikalno-kemijske variabilnosti, ki so jim izpostavljeni pri potovanju skozi prebavni trakt, hkrati pa morajo omogočati nadzorovano sproščanje učinkovine preko daljšega časovnega obdobja.

Stanje v prebavnem traktu ima torej močan vpliv na intaktnost takšnih FO, poleg interindividualnih razlik so pomembne tudi intraindividualne. K slednjim štejemo prisotnost hrane v prebavnem sistemu, ki ima zelo pomemben vpliv na potek sproščanja učinkovine iz ogrodnega hidrofilnega sistema, saj so v takem primeru razmere, v katerih se FO znajde, povsem drugačne, kot bi bili v primeru brez hrane.

V sklopu raziskovalnega dela smo želeli ugotoviti vpliv prisotnosti sladkorjev, soli in pektina v prehrani na potek sproščanja paracetamola iz hidrofilnih ogrodnih tablet, ki so vsebovale HPMC polimer. Teste smo izvajali v medijih z naraščajočo koncentracijo saharoze ali natrijevega klorida pri treh pH vrednostih (2,5; 3,5 in 4,5), s čimer smo želeli posnemati pH želodca. Poleg navedenih medijev smo uporabili tudi medije enake sestave, ki smo jim dodali še pektin.

Ugotovili smo, da nižje koncentracije saharoze nekoliko upočasnijo potek sproščanja. Ko je mejna koncentracija saharoze ( $S_{krit}$ ) presežena pa pride do ravno obratnega pojava – pospešitve sproščanja učinkovine. V primeru dodane nižje koncentracije NaCl v medij za sproščanje, upočasnitve sproščanja nismo opazili. V primerjavi z medijem brez dodanih topljencev, smo v primeru višje koncentracije natrijevega klorida opazili pospešitev sproščanja paracetamola pri pH 3,5 in 4,5. Nižje koncentracije saharoze omogočijo nastanek koherentne gelske plasti na površini hidrofilnega ogrodnega sistema, koncentracije nad  $S_{krit}$  pa zavrejo hidratacijo HPMC. Dodatek višjih koncentracij soli v medij za sproščanje prav tako zmanjša hidratacijo polimera. V obeh primerih se na površini ogrodnega sistema tvori nekoherentna gelska plast, ki ne omogoča podaljšanega sproščanja učinkovine.

Vpliv dodatka konstantne koncentracije pektina v medije enake sestave z naraščajočo koncentracijo saharoze, se je kazal kot upočasnitev sproščanja pri višjih koncentracijah saharoze; pri 260 in 280 g/l v medijih s pH vrednostjo 2,5 ter pri 240, 260 in 280 g/l s pH vrednostjo 3,5, glede na medije brez pektina. Podobno smo opazili tudi pri dodatku pektina v medije z natrijevim kloridom. V medijih s pH vrednostjo 2,5 in dodanimi 30 ali 35 g/l NaCl smo opazili rahlo upočasnitev sproščanja v medijih s pektinom v primerjavi z mediji brez dodanega pektina. V ostalih medijih pa o vplivu pektina zaradi velike variabilnosti rezultatov ne moremo sklepati. Z višanjem vrednosti pH medija za sproščanje smo se približali pKa vrednosti pektina, karboksilne skupine na polisaharidnih verigah polimera so bile v bolj ionizirani obliki, tvorjenje gela pa oteženo.

## 2. ABSTRACT

Dosage forms with extended release properties show many advantages when compared to the conventional ones, thus nowadays they are highly desirable and also more common on the market. The most commonly used systems with extended release properties are hydrophilic matrix systems, where hydrophilic polymer is frequently hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC). Such delivery systems must show a great resistance to the many physicochemical changes they are exposed to while traveling through the digestive tract. At the same time, they should allow a controlled release of the active substance for a longer period of time.

Therefore, the state of the gastrointestinal tract (GIT) has a strong influence on the intactness of such dosage forms. In addition to interindividual differences in the GIT, intraindividual differences are also of a great importance. The latter are considered to be, for instance, the presence or absence of food in the digestive tract, which has a very important influence on the release of the active substance from the matrix. The conditions within GIT in fed state are found to be completely different as they would be in the case of a fasted state.

Within our research we wanted to determine the influence of sugars, salt and pectin, common components of food, on release of acetaminophen from hydrophilic matrix tablets with HPMC polymer. The tests were carried out in dissolution media with an increasing concentration of sucrose or sodium chloride, at three different pH values (2,5; 3,5 and 4,5) in order to imitate the pH of the stomach. In addition to the mentioned media, dissolution media of the same composition with added constant concentration of pectin, were also used.

We found that lower sucrose concentrations slow down the release of acetaminophen, but when the critical sucrose concentration is exceeded, the acceleration of the release occurs. In the case of sodium chloride, at lower concentration we did not observe the slowdown of acetaminophen release. With adding higher concentration of sodium chloride in dissolution media on the other hand, acceleration of acetaminophen release was observed at pH of 3,5 and 4,5. Lower concentrations of sucrose enable the formation of a coherent gel layer on the hydrophilic matrix surface, while concentrations above the critical sucrose concentration and also higher salt concentration inhibit hydration of the HPMC polymer. In both cases, an

incoherent gel layer is formed on the surface of the matrix system, which does not allow prolonged release of the active substance.

The effect of adding pectin to the dissolution media of the same composition with increasing concentration of sucrose was also studied. At higher sucrose concentrations, 260 g/l and 280 g/l at a pH of 2,5 and 240, 260 and 280 g/l at a pH of 3,5, slowing down of acetaminophen release was noticed with respect to dissolution media without pectin added. Similar was observed when adding pectin in dissolution media with sodium chloride. In dissolution media with a pH value of 2,5 and 30 or 35 g/l of sodium chloride added, a slight slowing of release in media with pectin was observed, when compared to the media without pectin added. In other media, however, the effect of pectin cannot be determined due to the large variability of the results. By increasing the pH of the dissolution media, we approached pKa value of pectin. The carboxyl groups on the polysaccharide polymer chains were thus in a more ionized form and the formation of the gel was hindered.

## **KLJUČNE BESEDE**

HPMC, prirejeno sproščanje, saharoza, pektin

## **KEY WORDS**

HPMC, controlled release, sucrose, pectin



### 3. SEZNAM UPORABLJENIH OKRAJŠAV

CPT – temperatura točke zamotnitve (*ang. cloud point temperature*)

DLS – analitska metoda, dinamično sipanje svetlobe (*ang. dynamic light scattering*)

DS – stopnja substitucije

DSC – analitska metoda, diferenčna dinamična kalorimetrija (*ang. differential scanning calorimetry*)

FDA – agencija za hrano in zdravila (*ang. Food and drug administration agency*)

FO – farmacevtska oblika

HPMC – hidroksipropil metilceluloza ali hipromeloza

KV – koeficient variacije

MCC – mikrokristalna celuloza

MS – molarna substitucija

NMR – nuklearna oz. jedrska magnetna resonanca

Ph EUR, 8th ED – osma izdaja Evropske farmakopeje (*European Pharmacopoeia 8<sup>th</sup> Edition*)

® – blagovna znamka

rpm – enota za hitrost mešanja (*ang. rounds per minute*)

SGF – simuliran želodčni sok (*ang. simulated gastric fluid*)

SIF – simuliran črevesni sok (*ang. simulated intestinal fluid*)

SD – standardna deviacija

$S_{krit}$  – mejna oz. kritična koncentracija saharoze

T<sub>g</sub> – temperatura steklastega prehoda

USP – farmakopeja Združenih držav Amerike (*US Pharmacopoeia*)

## 4. UVOD

### 4.1 Prirejeno sproščanje

Za prirejeno oz. nadzorovano sproščanje je značilno, da se spremeni hitrost ali mesto sproščanja učinkovine, kljub temu, da je način aplikacije enak kot za FO s konvencionalnim načinom sproščanja. Tak način sproščanja lahko dosežemo s posebno sestavo oz. s posebnim postopkom izdelave FO (1).

Krovni izraz »prirejeno sproščanje« po Ph EUR, 8th Ed zajema:

- FO s podaljšanim sproščanjem
- FO z zakasnelim sproščanjem in
- FO s pulzirajočim sproščanjem

### 4.2 Mehanizmi podaljšanega sproščanja

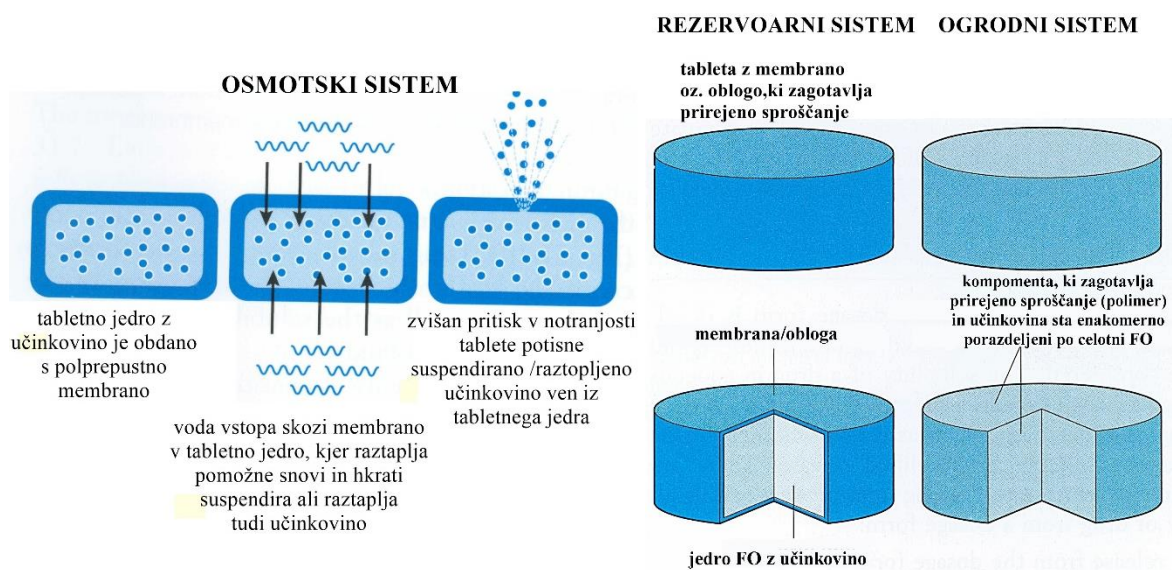
Na trgu danes prevladujejo 3 dostavni sistemi za peroralno aplikacijo, ki omogočajo prirejeno sproščanje:

- osmotski,
- rezervoarni (membranski) in
- ogrodni (matriks) sistemi.

Ključno vlogo na sproščanje učinkovine iz rezervoarnih in ogrodnih sistemov ima večinoma difuzija, medtem ko je v primeru osmotskih dostavnih sistemov za sproščanje učinkovine ključen osmotski tlak (4). Pri osmotskem dostavnem sistemu je učinkovina vključena v tabletno jedro, ki je topno v vodi, obdaja pa ga polprepustna membrana (slika 1). Membrana omogoča vstop vode v jedro tablete, skozi membrano pa je zvrtna odprtina točno določenih dimenzij. Z raztapljanjem komponent tabletnega jedra narašča hidrostatski tlak v notranjosti tablete, ki potisne raztopljeno ali suspendirano učinkovino skozi odprtino v membrani tablete. Pri rezervoarnem oz. membranskem sistemu, se zdravilna učinkovina nahaja v jedru, obdaja pa jo membrana oz. obloga, ki nadzira sproščanje. Učinkovina se sprošča skozi to membrano ali pa se sprošča zaradi raztapljanja obloge. Pri ogrodnih oz. matriks sistemih pa

imamo neko ogrodje, ki zagotavlja podaljšano sproščanje in po katerem je zdravilna učinkovina razporejena enakomerno. Ogradje učinkovina zapušča z difuzijo, ki je pogojena s koncentracijskim gradientom. Tako oblikovani sistemi so najpomembnejši sistemi s podaljšanim sproščanjem, znotraj te skupine pa so danes najbolj uporabljeni hidrofilni (2). Ogradne dostavne sisteme delimo glede na to, kakšne kemijske narave je polimer, ki tvori ogrodje (3). Sistemi so torej lahko:

- hidrofobni, saj vsebujejo v prisotnosti vode in gastrointestinalnih tekočin netopen polimer (npr. polietilen, etil celulozo, polivinil klorid, akrilatni polimeri in njihovi kopolimeri),
- hidrofilni, saj vsebujejo polimere, ki v prisotnosti vode nabrekajo v gel in
- lipidni (npr. karnauba voski v kombinaciji s stearilnim alkoholom ali stearinsko kislino).



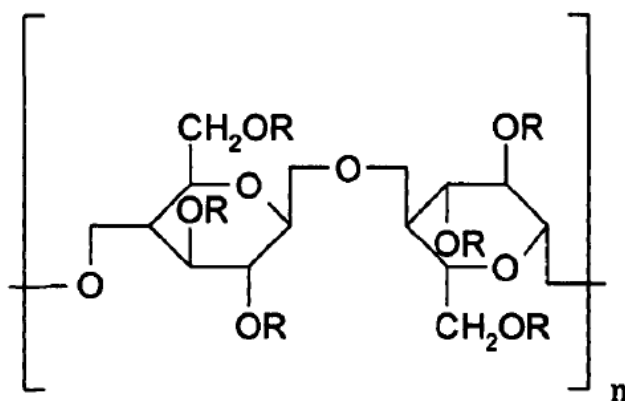
Slika 1: Shematska ponazoritev dostavnih sistemov za doseg podaljšanega sproščanja učinkovin. Prirejeno po (2).

### 4.3 Hidroksipropil metilceluloza in njene lastnosti

Primer najpogosteje uporabljenega polimera za izdelavo hidrofilnega ogradnega sistema zadnjih 50 let je hipromeloza oz. hidroksipropil metilceluloza (HPMC). HPMC je v vodi

topen polimer, ki tvori gel. Slednji pa je odporen na delovanje encimov in je kemijsko stabilen v pH območju 3,00-11,0 (5).

Pridobivanje HPMC poteka s hidrolizo celuloznih vlaken, ki jih nato obdelajo še z metilkloridom in propilen oksidom, da poteče reakcija substitucije na anhidroglukoznih enotah celuloze. Osnova polimera je torej celulozna veriga, ki ima zaetrene hidroksilne skupine z metoksilno ali hidroksipropilno skupino. S hidroksipropilno substitucijo uvedemo v strukturo sekundarno OH skupino, na kateri lahko prav tako poteče substitucija. (6).



Slika 2: Strukturna formula hipromeloze: R predstavlja  $CH_3$ ,  $CH_2CH(CH_3)OH$  skupino ali H atom, n pa celo število (8).

#### 4.3.1 Substitucijski tipi HPMC

HPMC polimeri se med seboj razlikujejo v deležu hidroksipropilne in metoksilne substitucije, kar se kaže v njihovih fizikalno-kemijskih lastnostih, kot je npr. topnost in temperatura sol-gel prehoda (8). Primeri polimerov z različnimi stopnjami substitucije in pripadajočimi lastnostmi so podani v preglednici I. Obseg substitucije polimera je označen z dvema parametroma; s stopnjo substitucije, D.S. (ang. »degree of substitution«), ki opredeljuje povprečno število substituiranih mest na obroč molekule glukoze. Pri nativni celulozi so na obroču glukozne molekule na voljo 3 mesta za substitucijo, zato je  $DS=0$ , pri povsem substituiranem obroču pa je  $DS=3$ . Drug parameter, s katerim lahko okarakteriziramo obseg substitucije celuloznega polimera pa je molarna substitucija, M.S.

(ang. »molar substitution«), ki opredeljuje povprečno število substituentov na anhidroglukozni enoti polimera (9).

*Preglednica I: Vrste HPMC polimerov z različnimi stopnjami substitucije in pripadajoče kemijsko-fizikalne lastnosti. Prirejeno po (8).*

Tip substitucije (USP in Ph. Eur)	HPMC 2910	HPMC 2906	HPMC 2208
Tip Methocel® (Dow Chemical Company)	Methocel® E	Methocel® F	Methocel® K
Delež metoksilne skupine [%]	28,0-30,0	27,0-30,0	19,0-24,0
Delež hidroksipropilne skupine [%]	7,0-12,0	4,0-7,5	4,0-12,0
DS za metoksilno skupino	1,9	1,8	1,4
MS za hidroksipropilno skupino	0,23	0,13	0,21
Viskoznost 2 % m/m vodne raztopine [mPa·s]	5-4000	50-4000	100-100000
Temperatura sol-gel prehoda 2% m/m raztopine polimera [°C]	58-64	62-68	70-90

#### 4.3.2 Topnost polimera v vodi in HPMC hidrogeli

HPMC je topen v vodi in nekaterih topilih (npr. v ustreznem razmerju etanol/voda ali propanol/voda). Topnost je neodvisna od pH, spreminja pa se z viskoznostno stopnjo polimera; nižja kot je viskoznostna stopnja, višja je topnost. Različni tipi HPMC polimera izkazujejo različne topnosti v vodi.

Polimeri HPMC tvorijo v vodni raztopini temperaturno odvisne oz. termoreverzibilne hidrogelne. Pojav je posledica dehidracije polimera in nastanka hidrofobnih interakcij na področjih verig polimera, kjer je več metoksilnih skupin. Pri nižjih temperaturah so v vodi molekule HPMC polimera povsem hidratirane, zato so interakcije polimer-polimer omejene na bolj prepletena območja. Z naraščanjem temperature se viskoznost vodne raztopine polimera v začetku zmanjša, nato pa zaradi tvorbe tridimenzionalne mreže iz hidrofobnih interakcij hitro naraste, nastane netopni gel. Temperatura, pri kateri pride do tega pojava, je t.i. temperatura sol-gel prehoda.. Odvisna je od substitucijske in viskoznostne stopnje

polimera ter prisotnosti ionov, ki bi lahko »izsolili« polimer. Drug vpliv višanja temperature vodne raztopine polimera, ki ga lahko vizualno opazimo je obarjanje polimera, in sicer s t.i. temperaturo točke zamotnitve (angleško cloud point temperature, CPT). Točka zamotnitve je dosežena s padcem transmitance vodne raztopine polimera na 50 % in je odvisna od koncentracije HPMC polimera (6).

Različni tipi HPMC polimera tvorijo gel pri različnih temperaturah. Za preučevanje sol-gel prehoda HPMC hidrogelov so na voljo številne analitske tehnike, kot so npr.: dinamično sipanje svetlobe (DLS), diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC), reološke meritve in jedrska magnetna resonanca (NMR). Na proces geliranja HPMC polimera ima velik vpliv prisotnost ionov v mediju, ki lahko v skladu z Hofmeister-jevo lestvico polimer »izsolijo« - ojačajo hidrofobni efekt in tako zmanjšajo topnost polimera, ali pa po drugi strani njegovo topnost povečajo. Primer soli, ki zmanjša topnost polimera in s tem tudi temperaturo sol-gel prehoda je npr. NaCl, medtem ko je NaSCN ena izmed soli, ki topnost polimera in temperaturo sol-gel prehoda zviša. Vpliv anionov na izsolitev polimera (zmanjšanje topnosti) narašča v zaporedju Hofmeister-jeve lestvice:  $\text{SCN}^- < \text{ClO}_4^- < \text{I}^- < \text{NO}_3^- < \text{Br}^- < \text{Cl}^- < \text{F}^- < \text{H}_2\text{PO}_4^- < \text{S}_2\text{O}_3^{2-} < \text{SO}_4^{2-}$ , medtem ko vpliv kationov pada v zaporedju:  $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Ba}^{2+}$ . Vpliv kationov na obarjanje polimera je manj opazen kot vpliv anionov (10).

Različni elektroliti in učinkovine torej lahko vplivajo na zvišanje ali znižanje CPT in temperature sol-gel prehoda. Slednje pomeni, da lahko tudi nekateri ekscipienti ali snovi, ki so prisotne v prebavnem traktu vplivajo oz. spremenijo obnašanje polimera in s tem tudi potek sproščanja učinkovine iz hidrofilnega ogrodnega sistema (6).

#### 4.4 Hidrofilni ogrodni sistemi

Hidrofilni ogrodni sistemi so dobro uveljavljeni sistemi, ki lahko vsebujejo velike količine zdravilne učinkovine, učinkovito podaljšajo sproščanje učinkovine in tako dosežejo daljši čas plazemske koncentracije učinkovine v območju terapevtskega delovanja (4). Slabost takih sistemov je ta, da nanje močno vpliva prisotnost hrane v prebavnem traktu, kar se kaže kot različni plazemski profili učinkovine pri aplikaciji FO v stanju z ali brez hrane. Za zagotavljanje podaljšanega sproščanja je zelo pomembno, da je taka farmacevtska oblika

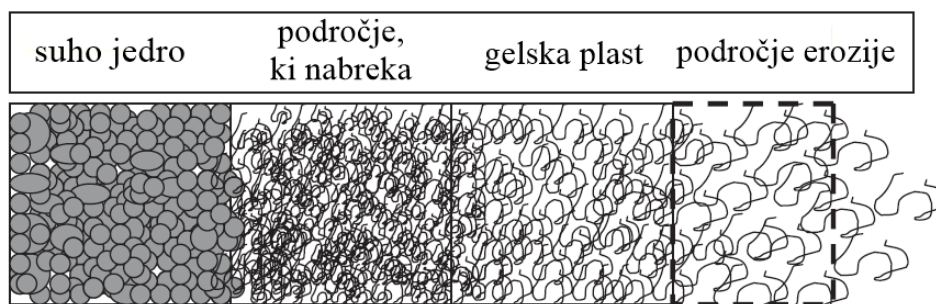
nepoškodovana in da taka tudi prehaja skozi prebavni trakt, kjer je prisotnih veliko potencialno škodljivih kemijskih in fizikalnih dejavnikov (2).

#### 4.4.1 Mehanizmi sproščanja iz hidrofilnega ogrodnega sistema

Hidrofilne ogrodne sisteme lahko izdelujemo z direktnim stiskanjem tabletne zmesi, ki vsebuje zdravilno učinkovino, v vodi nabreklijiv hidrofilni polimer ter ostale pomožne snovi. V taki tableti je torej učinkovina enakomerno porazdeljena med delci polimera (2, 4).

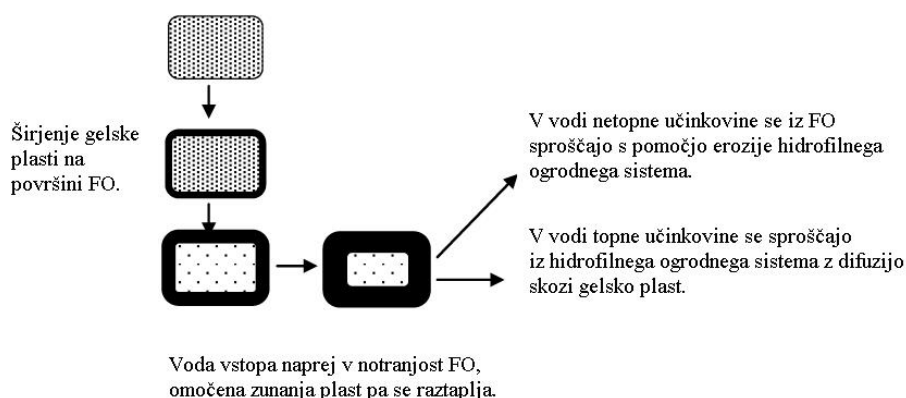
Ko FO izpostavimo mediju za sproščanje, se med zunanjo površino tablete in medijem vzpostavi strm koncentracijski gradient vode, zaradi česar pride do vstopanja molekul vode v mrežo hidrofilnega ogrodja. Voda deluje kot neke vrste plastifikator oz. mehčalec, saj približa temperaturo steklastega prehoda  $T_g$  s 154-184° C temperaturi sistema za sproščanje (37° C). Ko je  $T_g$  enaka temperaturi sistema, se verige polimera začnejo razpletati, s čimer se jim poveča molekularna površina; pride torej do nabrekanja polimera (12). Voda, ki vstopa v notranjost FO prekinja vodikove vezi med delci polimera, ki so se tvorile med stiskanjem tablet, tvorijo pa se nove z molekulami vode. Na površini ogrodja se tvori gelska plast. V omočenih ogrodnih tabletah lahko opazimo 4 različna področja (4, 11), kot so prikazana na sliki 3:

- področje erozije (močno nabrekla zunanja površina tablete)
- zmerno nabreklo področje oz. gelska plast
- področje, ki nabreka (področje vstopanja vode)
- suho jedro tablete



Slika 3: Področja v omočeni hidrofilni ogrodni tableti. Prirejeno po (4).

Gel, ki se tvori, je glavni dejavnik za nadzor sproščanja učinkovine. Predstavlja namreč bariero za difuzijo vode v ogrodje in hkrati bariero za difuzijo raztopljenih učinkovine v medij. Gelski ovoj se s časom širi, suhega jedra tablete pa je vedno manj (slika 4). Ko je polimer na površini dovolj hidratiran, pride do pojavnosti erozije. S površine ogrodne tablete se začnejo verige polimera odpletati in odstranjevati v medij. Hitrost, s katero voda difundira v tableto in nato skozi hidratirani sloj oz. gel, je eden od dejavnikov, ki vplivajo na hitrost sproščanja učinkovine. Hitrost hidratacije je odvisna od strukture gela, sestave medija, sestave tablete in drugih parametrov. Po eni strani poteka sproščanje učinkovine, ki temelji na difuziji, navadno po kinetiki 0. ali 1. reda, če sklepamo da je v gastrointestinalnem traktu dovolj tekočine, da so zagotovljeni sink pogoji. Po drugi strani pa erozija ogrodja, ki je posledica gibanja tekočin v prebavnem traktu in gibanja stene prebavnega trakta povzroči, da je dejanska kinetika sproščanja učinkovine *in vivo* bolj kompleksna (2).



Slika 4: Potek hidratacije hidrofилnega ogrodnega sistema in sproščanja učinkovine. Prirejeno po (10).

#### 4.5 Hidratacija HPMC polimera v hidrofилnem ogrodnem sistemu

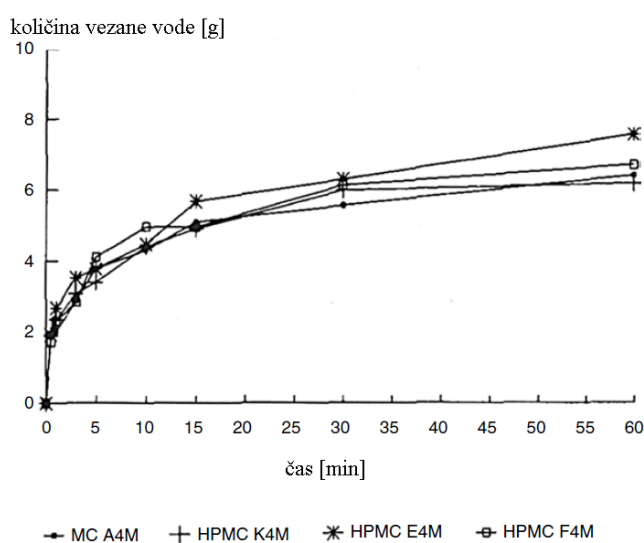
V hidrofилni polimer vezana voda obstaja v treh "oblikah" (6):

- tesno vezana voda, ki interagira z verigami polimera in zato ne zamrzne pri 0° C,
- prosta voda, ki lahko zamrzne pri 0° C,
- voda, ki ostaja vezana, nekje med zgoraj omenjenima ekstremoma.



Raztapljanje HPMC polimera je večstopenjski proces, ki je v začetku endotermne narave zaradi privzema vode, sledi pa mu eksotermna stopnja, ki je posledica procesa raztapljanja. Vključene učinkovine ali nekatere pomožne snovi v hidrofilni ogrodni sistem lahko vplivajo na potek hidratacije polimera. Tako lahko prisotnost hidrofobnih ali slabo topnih učinkovin poruši mrežo vodikovih vezi in s tem zmanjša količino vode, ki jo polimer lahko veže (6).

Mitchell in sodelavci (7) so ugotovili, da se HPMC polimeri z različnimi stopnjami substitucije, definiranimi po USP (HPMC 2208, HPMC 2910, HPMC 2906) v hitrosti hidratacije ne razlikujejo bistveno od mikrokristalne celuloza (MCC) (slika 5).



Slika 5: Graf prikazuje vezavo vode v časovnem intervalu 60 min različnih tipov HPMC polimerov, ki so jih predhodno stisnili v diske v primerjavi z v disk stisnjeno MCC. Prirejeno po (7).

#### 4.5.1 Vpliv soli

Vpliv soli oz. ionov sledi Hofmeisterjevi lestvici, kot je opisano v poglavju 3.3.2. Lestvica je nastala kot posledica vpliva ionov na precipitacijo proteinov. Mehanizem ionov, da zmanjšajo ali povečajo topnost polimera ne izhaja iz direktnih interakcij ion-polimer, temveč preko vpliva ionov na strukturo vode. Gre za kompeticijo med interakcijami ion-voda in voda-voda. Prve so odvisne od gostote naboja, druge pa od vodikovih vezi. Manjši ioni z večjo gostoto naboja (npr. Cl<sup>-</sup>) povzročijo elektrostatično urejenost molekul vode v svoji

okolici. Iz bolj urejene strukture vode pa je na voljo manj prostih molekul vode, ki bi hidrirale verige polimera, kar olajša tvorjenje hidrofobnih asociacij na metoksilno substituiranih delih polimera. Slednje se kaže kot zmanjšana topnost polimera in znižanje CPT. Večvalentni ioni (npr.  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) v primerjavi z monovalentnimi izkazujejo večji vpliv na zmanjšanje topnosti polimera. Po drugi strani pa so molekule vode v bližini večjih ionov, ki imajo manjšo gostoto naboja (npr.  $\text{SCN}^-$ ), manj urejene in se prosto gibljejo. Takšne molekule lahko tvorijo več vodikovih vezi s polimerom, kar se kaže kot boljša topnost polimera in s tem tudi višja CPT (11).

Joshi in sodelavci (11) so preučevali vpliv ionov na potek hidratacije HPMC polimera in nastanek gela v simuliranih fizioloških raztopinah. Uporabili so simuliran želodčni sok (SGF – »simulated gastric fluid«), ki je vseboval HCl in NaCl brez pepsina, in črevesni sok (SIF – »simulated intestinal fluid«), ki je vseboval  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in NaOH, brez pankreatina. Ugotovili so, da SGF in SIF ne spremenijo mehanizma sol-gel prehoda HPMC polimera, vendar pa se temperatura tega prehoda niža z višanjem vsebnosti soli SGF/SIF.

Prisotnost ionov v mediju za sproščanje oz. gastrointestinalnih tekočinah torej lahko vpliva na potek sproščanja učinkovine iz hidrofilnega ogrodnega sistema. Williams in sodelavci (14) so ugotovili, da pride v sistem, ki so ga testirali do pospešenega sproščanja zaradi preprečitve tvorbe koherentne gelske plasti pri 0,6-0,75 M NaCl. Enak učinek imajo tudi soli, ki so dodane v tabletno zmes; v primeru trinatrijevega citrata je bilo potrebnih vsaj 30% m/m za signifikantno spremembo v poteku sproščanja učinkovine.

#### **4.5.2 Vpliv sladkorjev**

Sladkorji, kot so npr. glukoza, fruktoza, galaktoza, saharoza in laktoza, so poleg soli prav tako ena izmed snovi, ki jih v današnjem načinu prehranjevanja zaužijemo v velikih količinah, četudi se tega povsem ne zavedamo. V ZDA je tako povprečna količina dnevno zaužitega sladkorja 13 čajnih žličk na osebo. Uživanje hrane, ki vsebuje veliko sladkorja (npr. športne pijače, sadni sokovi, kondenzirano mleko, kosmiči, konzervirano sadje, slaščice...) lahko povzroči lokalizirano visoke koncentracije sladkorja v želodcu (13).

Sladkorji lahko vplivajo na potek hidratacije HPMC polimera, saj izkazujejo močne vplive na prestrukturiranje vodnih molekul v neposredni bližini polimera. Na ta način, podobno kot

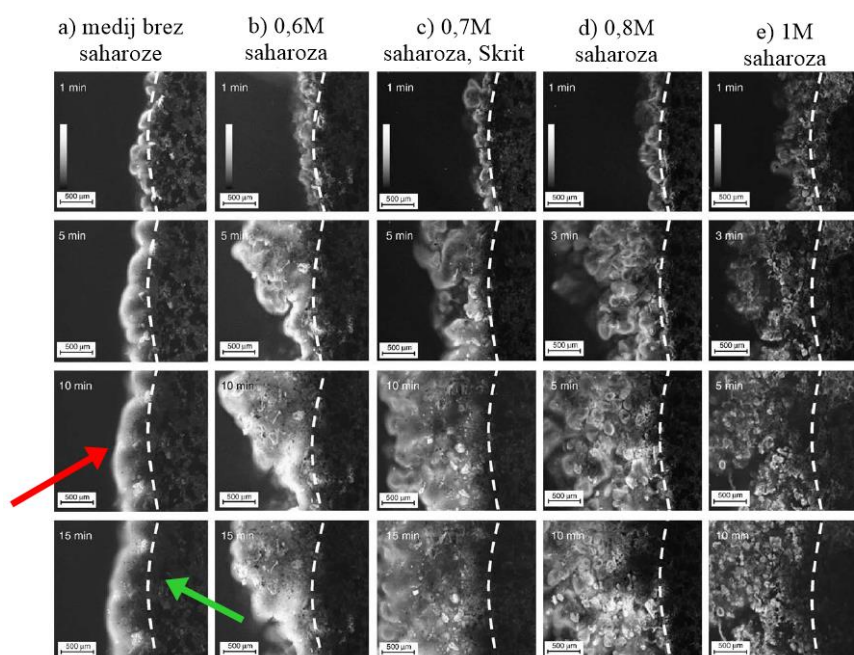
nekatero soli, pospešijo tvorjenje hidrofobnih interakcij znotraj polimera, kar zmanjša njegovo topnost v vodi. S tem se zmanjša tudi CPT polimera (15).

Vpliv sladkorjev na urejenost vode je lahko opredeljen s hidrationskim številom  $N_h$ , ki pomeni število molekul vode, ki jih ena molekula sladkorja reorientira v nekem mediju. Parameter  $N_h$  je odvisen tudi od števila hidroksilnih skupin na eni molekuli sladkorja. Ker je  $N_h$  v primeru disaharidov višji, je tudi njihov učinek na urejenost vode večji v primerjavi z učinkom monosaharidov (13).

Zgoraj opisani vplivi sladkorjev na potek hidratacije HPMC polimera se kažejo tudi pri poteku sproščanja učinkovine iz hidrofilnega ogrodnega sistema s HPMC polimerom. Pri nižjih koncentracijah sladkorjev so Williams in sodelavci (13) opazili upočasnitev sproščanja učinkovine, saj pride na površini hidrofilnega ogrodnega sistema do nastanka bolj koherentne gelske plasti, s čimer se podaljša difuzijska pot učinkovine. Po drugi strani pa so nad kritično koncentracijo sladkorja opazili pospešitev sproščanja, saj pride do zaviranja hidratacije HPMC. Tvori se namreč nekoherentna gelska plast, ki predstavlja slabo bariero za vodo, ki vstopa v notranjost FO in učinkovino, ki jo zapušča. Kritična koncentracija sladkorja je torej meja, pod katero je sproščanje učinkovine podaljšano in nad katero pride do izrazite pospešitve sproščanja in do razpada FO (ang. »burst release« efekta).

Opisano lahko opazimo na sliki 6, ki zajema časovni potek tvorjenja gelske plasti na površini hidrofilnega ogrodnega sistema s HPMC (Methocel® K4M CR), spremljane s konfokalno fluorescenčno mikroskopijo. V mediju z vodo (slika 6, a) se kontinuirana gelska plast na površini hidrofilnega ogrodnega sistema tvori že v nekaj minutah, podobno so Williams in sodelavci opazili tudi v medijih z 0,2M in 0,4M saharozo, s to razliko, da je bila plast nastalega gela nekoliko debelejša. V medijih s koncentracijo saharoze v bližini kritične koncentracije za opazovani HPMC polimer, pa je potek tvorjenja gelske plasti drugačen; v mediju z 0,6M saharozo (slika 6, b) se pojavijo močnejše nabrekla področja na površini ogrodnega sistema, v medijih z 0,7M (slika 6, c) in 0,8M saharozo (slika 6, d) pa nastane debelejša zgodnja gelska plast, ki vsebuje delno nabrekle delce polimera in ima le malo podobnosti s koherentno gelsko plastjo, ki se tvori v vodi. V mediju z 1,0 M saharozo (slika 6, e) je opazna manjša fluorescenca (manj belih področij na sliki 6), kar nakazuje, da je visoka koncentracija saharoze zavrla hidratacijo delcev polimera in s tem tvorjenje gelske plasti. Pri različnih sladkorjih, tako kot pri različnih ionih, se opisan efekt kaže različno močno; najbolj opazen je pri laktozi, ki ima najnižjo kritično koncentracijo ( $S_{krit}$ ), in sicer

0,5 M, sledijo saharoza z 0,7 M, D-galaktoza z 0,85 M, D-glukoza z 1,0 M in D-fruktoza z 1,15 M, kar je posledica različnega hidratacijskega števila posameznih sladkorjev (13).



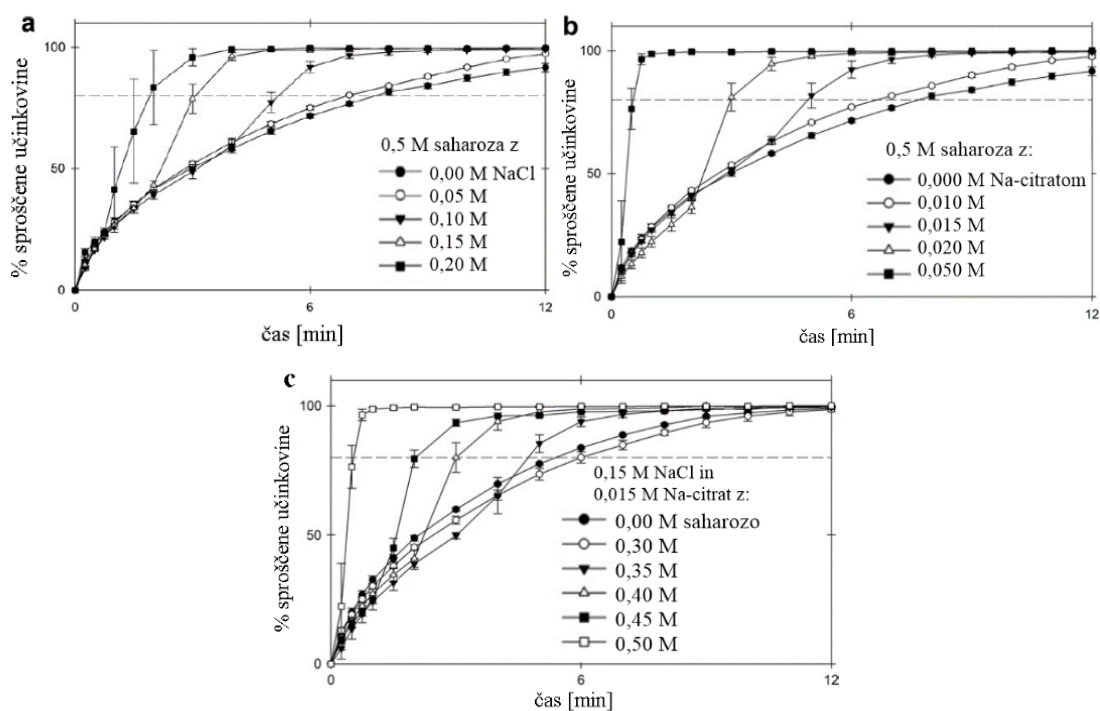
*Slika 6: Potek hidratacije HPMC polimera (Methocel® K4M CR) in tvorjenje zgodnje gelske plasti na površini hidrofilnega ogrodja v mediju brez saharoze in v medijih z naraščajočimi koncentracijami saharoze. Prekinjena bela krivulja označuje mejo med omočenim (zelena puščica) in suhim delom (rdeča puščica) ogrodja. Prirejeno po (13).*

#### 4.5.3 Vpliv kombinacije sladkorjev in soli

Učinki soli in sladkorjev na potek hidratacije HPMC polimera so aditivni, kar se kaže v nižanju temperature sol-gel prehoda. Prisotnost soli tako zniža mejno koncentracijo sladkorja, ki je potrebna da izzove pospešeno sproščanje učinkovine iz hidrofilnega ogrodnega sistema. Williams in sodelavci (14) so pri preučevanju vpliva zmesi sladkorjev in soli na potek sproščanja iz HPMC ogrodnih tablet (uporabili so Methocel® K4M) ugotovili, da dodatek 0,15 M NaCl in 0,015 M natrijevega citrata v medij za sproščanje, povzroči znižanje  $S_{krit}$  saharoze z vrednosti 0,7 M na 0,35-0,4 M, kar je za skoraj 50 % nižje v primerjavi z medijem za sproščanjem, ki je vseboval samo saharozo. Slednje je zelo

pomembno dejstvo, ki ga moramo upoštevati pri interpretiranju *in vivo* obnašanja HPMC ogrodnih sistemov v stanju po hranjenju.

Opisano lahko opazimo na sliki 6: Na grafu a) je prikazan vpliv naraščajoče koncentracije natrijevega klorida, na grafu b) pa vpliv naraščajoče koncentracije natrijevega citrata, v obeh primerih ob konstantni koncentraciji saharoze (0,5 M).



Slika 7: Grafi prikazujejo vpliv soli skupaj s saharozo na potek sproščanja iz hidrofилnega ogrodnega sistema. Prirejeno po (14).

Po dodatku soli je hitrost sproščanja učinkovine izrazito večja, kot v primerjavi z medijem brez soli. Z naraščanjem koncentracije se čas počasnega sproščanja krajša, pospešeno sproščanje učinkovine pa nastopi prej. Na grafu c) je prikazan vpliv naraščajoče koncentracije saharoze ob konstantni koncentraciji natrijevega klorida (0,15 M) in natrijevega citrata (0,015 M). Opazimo lahko, da ob dodatku 0,30 M saharoze pride do upočasnitve sproščanja učinkovine, z nadaljnjim višanjem koncentracije saharoze pa je učinek podoben kot v primeru višanja koncentracije soli; v začetnem delu krivulje je sproščanje učinkovine počasno, v določeni točki pa sledi pospešeno. Z višanjem

koncentracije saharoze se čas počasnega sproščanja učinkovine krajša, pospešeno sproščanje pa nastopi prej (14).

#### **4.5.4 Vpliv pH medija**

HPMC kot neionski celulozni polimer tvori gel, ki je stabilen v pH območju 3,0-11,0 (5). Hidrofilni ogrodni sistemi iz HPMC polimera neposredno niso občutljivi na vplive, ki so posledica spreminjanja vrednosti pH vzdolž prebavnega trakta (npr. med simuliranim želodčnim sokom, ki ima pH 1,2 in simuliranim črevesnim sokom s pH 6,8 po USP). Vplivi sprememb pH vrednosti na hidratacijo ogrodnega sistema oz. na potek sproščanja učinkovine iz hidrofilnega ogrodja so posledica lastnosti drugih komponent v FO (8). Če je npr. topnost učinkovine v FO odvisna od pH, potem lahko pH medija vpliva na potek njenega sproščanja. Po drugi strani pa so pufri, ki jih navadno uporabljamo za uravnavanje pH medijev za sproščanje, sestavljeni iz anorganskih soli, katerih ioni lahko preko vpliva ionske moči na potek hidratacije polimera prav tako vplivajo na potek sproščanja učinkovine iz hidrofilnega ogrodja (8).

## 5. NAMEN DELA

Pri raziskovalnem delu želimo ugotoviti vpliv pogosto prisotnih komponent iz zahodnega načina priprave hrane na potek sproščanja paracetamola iz ogrodnih hidrofilnih tablet. Ugotavljali bomo vpliv soli, prisotnih v hrani, sladkorjev, ki so glavna sestavina sladkih pijač ter pektina, polisaharida, ki je glavna sestavina sadja in se uporablja pri pripravi konzervirane hrane kot zgoščevalec in stabilizator (16, 17).

Ugotoviti želimo, kako prisotnost pektina v medijih s citratnim pufrom in z različno koncentracijo saharoze ali natrijevega klorida, pri različnih pH vrednostih, vpliva na potek sproščanja paracetamola iz hidrofilnih tablet. Vplive bomo ugotavljali v medijih z naraščajočo koncentracijo saharoze ali natrijevega klorida pri treh različnih pH-jih, brez prisotnosti pektina in v medijih z enako sestavo z dodano konstantno koncentracijo pektina. Pri delu se bomo oprli na članek Williamsa in sodelavcev, ki so ugotovili, da soli in različni sladkorji, nad določeno (kritično) koncentracijo, pospešijo sproščanje učinkovine iz ogrodnih tablet.

Odločili smo se, da bomo teste sproščanja izvajali v napravi z vesli (USP aparat 2). Volumen medija, v katerem bomo sproščali bo 900 ml. Medij bo vseboval 50mM citratni pufer, katerega pH bomo uravnali z dodajanjem 1M NaOH, in sicer do treh želenih pH vrednosti: 2,5; 3,5 in 4,5. Dodali bomo še naraščajočo koncentracijo saharoze ali NaCl. Pripravili bomo tudi medije z enako koncentracijo saharoze ali natrijevega klorida, in jim dodali še konstantno koncentracijo pektina. Za teste sproščanja bomo uporabili ogrodne tablete z enako sestavo. Vsebovale bodo HPMC kot hidrofilni polimer, MCC kot polnilo, magnezijev stearat kot mazivo oz. drsilo, kot učinkovino pa bomo uporabili paracetamol (21). Pripravili jih bomo z direktnim stiskanjem tabletne zmesi s tabletirko na udarec.

## 6. MATERIALI IN METODE

### 6.1 Uporabljene snovi

- Paracetamol (Acetaminophen), SigmaUltra, minimum 99,0%, Sigma-Aldrich, ZDA
- Mikrokristalna celuloza (MCC), Avicel, pH=200
- Magnezijev stearat, Ph.Eur. 7<sup>th</sup>, Lex, Slovenija
- Hidroksipropil metilceluloza, Metolose<sup>®</sup>, 90SH 100 000SR, Shin-Etsu, Japonska
- Saharoza, Ph.Eur. 7<sup>th</sup>, Lex, Slovenija
- NaCl, Merck Darmstadt, Nemčija
- Citronska kislina (citric acid for analysis), MERCK, Darmstadt, Nemčija
- Natrijev hidroksid, Titrisol<sup>®</sup> za pripravo 1M NaOH (1 N) Merck, Darmstadt, Nemčija
- Pektin, GENU<sup>®</sup> pectin type B rapid set-Z (HM pektin), CPKelco, A Huber Company, Danska

### 6.2 Uporabljena laboratorijska oprema

- Analizna tehtnica, Mettler Toledo AG245, Schwerzenbach, Švica
- Aparatura za sproščanje z vesli z ročnim vzorčenjem (aparatus USP 2), Sotax AT7, Allschwil, Švica
- Avtomatska pipeta 100-1000 µl, Eppendorf, Hamburg, Nemčija
- Avtomatska pipeta 1000-5000 µl, Eppendorf, Hamburg, Nemčija
- Digitalna tehtnica, Exacta 300EB, Tehtnica, Železniki, Slovenija
- Magnetno mešalo, Rotamix 550 MMH, Tehtnica, Železniki, Slovenija
- pH meter, Mettler Toledo MP220, Schwerzenbach, Švica
- UV- ViS Spektrofotometer, Agilent 8453, Agilent technologies, Nemčija
- Tabletirka na udarec, Kilian SP 300, Kilian Tableting GmbH, Nemčija
- Vortex lab dancer, IKA<sup>®</sup>, Nemčija
- 10 µm full flow filter, Agilent technologies, ZDA
- Kanila za vzorčenje
- 5 ml brizga za vzorčenje, BRAUN Sharing expertise, ZDA



- Obteževalec iz jeklene žičke, premera 0,81 mm

### 6.3 Izdelava tablet

Sestava tablet:

- 25 % paracetamol
- 35 % HPMC 90SH 100 000SR
- 39,5 % MCC (Metolose pH 200)
- 0,5 % Mg-stearat

Tablete smo pripravili s tehniko direktnega stiskanja, in sicer tako, da smo najprej natehtali mase ustreznih snovi na precizni tehtnici in jih zmešali v pateni po pravilu rastočih mas v homogeno praškasto zmes. 400 mg slednje smo natehtali v tehtič, jo prenesli v matrično vdolbino tabletirke na udarec ter jo stisnili v tableto.

*Preglednica II: Pogoji tabletiranja.*

	SERIJA 1	SERIJA 2	SERIJA 3
LEGE PEČATOV[mm]: zgornji pečat	10,6	10,7	11,2
spodnji pečat	12,9	12,9	13,0
SILE STISKANJA [kN]	10,8-12,8	15,2-16,2	25,9-27,1
TRDNOST STISNjenih TABLET [N]	109,6-118,9	115,6-122,6	116,5-121,8
Raven pečat [mm]	12		
Masa tablet [mg]	400		

### 6.5 Lastnosti učinkovine

Paracetamol je učinkovina, ki jo uporabljamo za simptomatsko zdravljenje zmerne bolečine in vročine. Izraženo ima namreč analgetično, antipiretično in rahlo antiflogistično delovanje. Ionizacijska konstanta, oz. pKa vrednost paracetamola je pri 25° C 9,5. Topnost paracetamola znotraj fizioloških pogojev ni odvisna od pH. Topnost v vodnih raztopinah je pri 20° C 14,7 mg/ml, pri 25° C 14,3 mg/ml, pri 37° C pa 23,7 mg/ml. Paracetamol spada v III. razred BCS klasifikacije (»biopharmaceutical classification system«), kar pomeni, da je zelo dobro topna učinkovina, vendar pa ima slabšo permeabilnost. logP v sistemu n-oktanol/voda znaša 0,2. Zaradi večjega predsistemskega metabolizma (do 20 % peroralno apliciranega odmerka) je biološka uporabnost paracetamola 62-89 % (20).

## 6.6 Priprava medijev za sproščanje

**Raztopine citratnega pufra:** 50 mM citratni pufer smo pripravili tako, da smo natehtali citronsko kislino monohidrat ( $M=210,14$  g/mol) v 25 ml čašo na precizni tehtnici. 10,507 g citronske kisline monohidrata smo kvantitativno prenesli v 1000 ml bučo. V bučo smo nalili prečiščeno vodo nekaj 10 ml pod oznako ter premešali, da se je citronska kislina povsem raztopila. Tako pripravljeno raztopino smo nato prenesli v 1000 ml čašo, dodali magnet in jo dali mešati na magnetno mešalo. Ob nenehnem mešanju ter merjenju pH s stekleno elektrodo, ki je bila predhodno umerjena na pH 4, smo uravnali pH s postopnim dodajanjem 1 M NaOH. Raztopino smo nato kvantitativno prenesli nazaj v 1000 ml bučo in dopolnili do oznake s prečiščeno vodo. Raztopine 50 mM citratnega pufra smo uravnali na 3 različne pH vrednosti, in sicer na pH 2,5; 3,5 in 4,5.

**Raztopine citratnega pufra in NaCl:** V 1000 ml bučo smo po zgoraj opisanem postopku kvantitativno prenesli ustrezno natehtano količino citronske kisline monohidrata, poleg tega pa smo v bučo kvantitativno prenesli tudi ustrezno količino natehtanega NaCl. Pripravili smo raztopine 50 mM citratnega pufra s 30 in 35 g/l NaCl. Nato smo v bučo nalili prečiščeno vodo nekaj 10 ml pod oznako, raztopino prenesli v 1000 ml čašo, dodali magnet in jo dali mešati na magnetno mešalo. Ob nenehnem mešanju ter merjenju pH, s predhodno umerjeno stekleno elektrodo na pH 4, smo raztopini uravnali pH s postopnim dodajanjem 1 M NaOH. Pripravili smo raztopine treh različnih pH vrednosti, in sicer pH 2,5; 3,5 in 4,5. Tako pripravljeno raztopino smo kvantitativno prenesli nazaj v 1000 ml bučo ter dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

**Raztopine citratnega pufra s saharozo:** v 1000 ml bučo smo po zgoraj opisanem postopku kvantitativno prenesli ustrezno natehtano količino citronske kisline v obliki monohidrata, poleg tega smo v bučo prenesli ustrezno količino natehtane saharoze. Pripravili smo raztopine 50 mM citratnega pufra, ki so vsebovale 200, 240, 260 in 280 g/l saharoze. Nato smo v bučo nalili prečiščeno vodo nekaj 10 ml pod oznako ter raztopino dobro premešali, da sta te citronska kislina in saharoza povsem raztopili. Raztopino smo prenesli v 1000 ml čašo, dodali magnet in jo dali mešati na magnetno mešalo. Raztopini smo uravnali pH s predhodno umerjeno stekleno elektrodo na pH 4, s postopnim dodajanjem 1 M NaOH. Pripravili smo raztopine saharoze v citratnem pufru pri treh različnih pH vrednostih: 2,5; 3,5

in 4,5. Tako pripravljeno raztopino smo kvantitativno prenesli nazaj v 1000 ml bučo ter dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

**Raztopine s pektinom:** Raztopine pektina smo pričeli pripravljati en dan preden smo nameravali v njih izvajati poskus sproščanja, da je bil pektin v celoti homogeno raztopljen. Na čist, bel prepognjen papir smo prvi dan natehtali 10 g pektina. V 1000 ml čašo smo nalili okoli 600 ml prečiščene vode, dodali magnet in jo dali mešati na magnetno mešalo pri najvišjih obratih. V čašo smo nato postopoma, med mešanjem stresali 10 g pektina. Raztopino smo pustili mešati pri najvišjih obratih čez noč. Naslednji dan smo po zgoraj opisanem postopku v 1000 ml bučo kvantitativno prenesli 10,507 g citronske kisline v obliki monohidrata. V 1000 ml bučo smo nalili okoli 300 ml prečiščene vode, dobro premešali, da s je citronska kislina povsem raztopila. Tako dobljeno raztopino smo prenesli v 1000 ml čašo, kjer se je od prejšnjega dneva mešal pektin. Ob nenehnem mešanju in merjenju pH s predhodno umerjeno stekleno elektrodo na pH 4, smo s postopnim dodajanjem 1 M NaOH raztopini uravnali pH. Pripravili smo raztopine 50 mM citratnega pufra z 10 g/l pektina, pri treh različnih vrednostih pH, in sicer pri: 2,5; 3,5 in 4,5. Tako pripravljeno raztopino smo kvantitativno prenesli nazaj v 1000 ml bučo in dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

**Raztopine s pektinom in NaCl:** Raztopine pektina smo pričeli pripravljati en dan preden smo nameravali v njih izvajati poskus sproščanja, po zgoraj opisanemu postopku. Naslednji dan smo ustrezni natehti citronske kisline monohidrata in NaCl kvantitativno prenesli v 1000 ml bučo in dolili okoli 300 ml prečiščene vode ter dobro premešali, da sta se NaCl in citronska kislina povsem raztopili. Raztopino smo nato prenesli v 1000 ml čašo, kjer se je od prejšnjega dneva mešal pektin. Ob nenehnem mešanju in merjenju pH s predhodno umerjeno stekleno elektrodo na pH 4, smo s postopnim dodajanjem 1 M NaOH raztopini uravnali pH. Pripravili smo raztopine 50 mM citratnega pufra s 10 g/l pektina in 30 oz. 35 g/l NaCl, pri treh različnih vrednostih pH, in sicer pri: 2,5; 3,5 in 4,5. Tako pripravljeno raztopino smo kvantitativno prenesli nazaj v 1000 ml bučo ter dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

**Raztopine s pektinom in saharozo:** Raztopine pektina smo pričeli pripravljati en dan preden smo nameravali v njih izvajati poskus sproščanja, po zgoraj opisanem postopku. Naslednji dan smo ustrezni natehti citronske kisline monohidrata in saharoze kvantitativno prenesli v 1000 ml bučo, dolili okoli 300 ml ter dobro premešali, da je bila vsa saharoza omočena in ni bilo posameznih skupkov. Raztopino smo nato prenesli v 1000 ml čašo, kjer

se je od prejšnjega dneva že mešal pektin in jo pustili mešati še približno 10 min, da se je saharoza raztopila do konca. Ob nenehnem mešanju in merjenju pH s predhodno umerjeno stekleno elektrodo na pH 4, smo s postopnim dodajanjem 1 M NaOH raztopini uravnali pH. Pripravili smo raztopine 50 mM citratnega pufra z 10 g/l pektina z različnimi koncentracijami saharoze: 200, 240, 260 in 280 g/l, pri treh različnih pH vrednostih: 2,5; 3,5 in 4,5. Tako pripravljeno raztopino smo kvantitativno prenesli nazaj v 1000 ml bučo ter dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.



*Slika 8: Naprava z vesli (USP aparat 2) med testom sproščanja. Na levi poteka sproščanje v mediju brez pektina, na desni pa v mediju, ki smo mu dodali pektin. Vir: Helena Vrbanac*

## 6.7 Testi sproščanja

Teste sproščanja smo izvajali v napravi z vesli (USP aparat 2). Volumen medija, v katerem je potekalo sproščanje, je bil 900 ml. Medij smo iz buče, v kateri smo ga pripravili, prenesli v 1000 ml merilni valj. Ustrezen volumen smo nato iz merilnega valja kvantitativno prenesli v stekleno posodo naprave z vesli, predhodno ogrete na 37° C. Sestava medijev, v katerih smo izvajali teste sproščanja, so navedeni v preglednici III. Pokrov aparata smo nato zaprli in zagnali mešala, da se je medij mešal in s tem enakomerno ogreval. Hitrost mešanja je bila pri vseh poskusih 100 rpm. Ko se je temperatura medija povzpela na 37° C smo lahko pričeli s poskusom. Predhodno stehtane tablete smo vstavili v obteževalce iz nerjavečega jekla ter jih spustili v steklene posode z medijem. Poskus smo izvajali v 3 paralelah, nekajkrat smo izvedli tudi po dva poskusa hkrati, torej v šestih posodah. Poskus sproščanja je trajal 5 h.

Vzorčili smo ob naslednjih časovnih točkah: 0, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 in 300 min. Vzorčili smo s pomočjo kanile, ki je imela na eni strani 10 $\mu$ m filter, in na drugi strani 5ml brizgo. Predhodno smo določili povprečni volumen tako odvzetega vzorca, in sicer tako, da smo v 100ml čašo nalili prečiščeno vodo, jo postavili na precizno tehtnico in jo starirali. Nato smo ponovili 10 odvzemov tekočine na enak način, kot smo nato odvzemali vzorce iz medijev, kjer je potekalo sproščanje ter si zabeležili zmanjšanje mase ob vsakem odvzemu. Iz povprečne mase smo nato izračunali povprečni volumen odvzetega vzorca, ki je znašal 5,4 ml. Ta volumen smo upoštevali pri izračunu koncentracije sproščene količine paracetamola iz ogrodnih hidrofilnih tablet.

*Preglednica III: Mediji, v katerih smo izvajali teste sproščanja paracetamola iz hidrofilnih ogrodnih tablet.*

1	citratni pufer pH 2,5	22	citratni pufer pH 2,5+10 g/l pektin
2	citratni pufer pH 3,5	23	citratni pufer pH 3,5+10 g/l pektin
3	citratni pufer pH 4,5	24	citratni pufer pH 4,5+10 g/l pektin
4	citratni pufer pH 2,5+30 g/l NaCl	25	citratni pufer pH 2,5+30 g/l NaCl+10 g/l pektin
5	citratni pufer pH 3,5+30 g/l NaCl	26	citratni pufer pH 3,5+30 g/l NaCl+10 g/l pektin
6	citratni pufer pH 4,5+30 g/l NaCl	27	citratni pufer pH 4,5+30 g/l NaCl+10 g/l pektin
7	citratni pufer pH 2,5+35 g/l NaCl	28	citratni pufer pH 2,5+35g/l NaCl+10 g/l pektin
8	citratni pufer pH 3,5+35 g/l NaCl	29	citratni pufer pH 3,5+35 g/l NaCl+10 g/l pektin
9	citratni pufer pH 4,5+35 g/l NaCl	30	citratni pufer pH 4,5+35 g/l NaCl+10g/l pektin
10	citratni pufer pH 2,5+200 g/l saharoza	31	citratni pufer pH 2,5+200 g/l saharoza+10g/l pektin
11	citratni pufer pH 3,5+200 g/l saharoza	32	citratni pufer pH 3,5+200 g/l saharoza+10 g/l pektin
12	citratni pufer pH 4,5+200 g/l saharoza	33	citratni pufer pH 4,5+200 g/l saharoza+10 g/l pektin
13	citratni pufer pH 2,5+240 g/l saharoza	34	citratni pufer pH 2,5+240 g/l saharoza+10 g/l pektin
14	citratni pufer pH 3,5+240 g/l saharoza	35	citratni pufer pH 3,5+240 g/l saharoza+10 g/l pektin
15	citratni pufer pH 4,5+240 g/l saharoza	36	citratni pufer pH 4,5+240 g/l saharoza+10 g/l pektin
16	citratni pufer pH 2,5+260 g/l saharoza	37	citratni pufer pH 2,5+260 g/l saharoza+10 g/l pektin
17	citratni pufer pH 3,5+260 g/l saharoza	38	citratni pufer pH 3,5+260 g/l saharoza+10 g/l pektin
18	citratni pufer pH 4,5+260g/l saharoza	39	citratni pufer pH 4,5+260 g/l saharoza+10 g/l pektin
19	citratni pufer pH 2,5+280 g/l saharoza	40	citratni pufer pH 2,5+280 g/l saharoza+10 g/l pektin

20	citratni pufer pH 3,5+280 g/l saharoza	41	citratni pufer pH 3,5+280 g/l saharoza+10 g/l pektin
21	citratni pufer pH 4,5+280 g/l saharoza	42	citratni pufer pH 4,5+280 g/l saharoza+10 g/l pektin

## 6.8 Priprava in analiza vzorcev

Koncentracije sproščene paracetamola v odvzetih vzorcih smo kvantitativno določili z UV spektrofotometrijo. Absorbanco smo merili pri valovnih dolžinah 243-245 nm, ki so predstavljale absorpcijski maksimum paracetamola v določenem mediju. Vzorce brez pektina smo pred merjenjem redčili 1/5 ali 1/10 s prečiščeno vodo, tako da so bile izmerjene absorbance znotraj območja umeritvene premice. Pred začetkom merjenja smo pomerili samo medij, ki je bil redčen tako kot naši vzorci in tako odstranili morebiten vpliv ozadja na absorbanco paracetamola v vzorcu. Pektinske vzorce smo zaradi previsoke viskoznosti medija, ki je onemogočila direktno merjenje absorbance predhodno redčili s prečiščeno vodo po sledečem postopku: nastavek za pipetiranje na 1000 µl avtomatski pipeti smo najprej omočili s prečiščeno vodo, da bi čim manj vzorca ostalo na stenah nastavka. Šele nato, ko je bil nastavek omočen, smo odpipetirali 500 µl odvzetega vzorca v novo epruveto. Ker je bil vzorec zelo viskozen smo vedno počakali še 10-15 sekund, da je vsebina stekla proti konici nastavka in preostanek ponovno potisnili v epruveto. Da bi bila količina vzorca, ki je ostala v nastavku za pipetiranje čim manjša, smo z istim nastavkom zajeli še 500 µl prečiščene vode in jo prenesli v epruveto s prej odpipetiranih 500 µl vzorca. Nato smo s 5 ml avtomatsko pipeto dodali še 4000 µl prečiščene vode in vsebino epruvete dobro premešali na vorteksu. Medij s katerim smo odšteli ozadje pred merjenjem vzorcev, smo pripravili z 10x redčenjem s prečiščeno vodo na enak način.

## 6.9 Umeritvene premice

Koncentracijo sproščene paracetamola v posameznih vzorcih smo izračunali s pomočjo prej pripravljenih umeritvenih krivulj. Slednje smo pripravili po dveh različnih postopkih.

Kadar medij ni vseboval pektina smo umeritveno krivuljo pripravili po sledečem postopku: na analitski tehtnici smo natehtali natančno, približno 10 mg paracetamola ter ga kvantitativno prenesli v 100 ml bučko, ki smo jo dopolnili do oznake z dotičnem medijem. Bučko smo dobro premešali, da se je raztopil ves paracetamol, če je bilo potrebno, smo jo

postavili za nekaj minut tudi v ultrazvočno kadičko. Tako pripravljena raztopina je predstavljala standardno raztopino iz katere smo nato naprej z redčenjem pripravili raztopine z različnimi koncentracijami v območju 1-20 mg/l. Pri pripravi teh raztopin smo si pomagali z avtomatskimi pipetami, koncentracije pa so bile enakomerno porazdeljene po vsem koncentracijskem območju.

Kadar je medij vseboval pektin, smo umeritveno krivuljo pripravili po drugačnem postopku: Najprej smo pripravili 250 ml 10x redčenega medija s prečiščeno vodo: V 250 ml bučko smo z avtomatsko pipeto odpipetirali 25 ml medija, pri čemer smo nastavek za pipetiranje predhodno omočili s prečiščeno vodo in šele nato zajeli omenjeni volumen medija. Ko smo ta volumen prenesli v bučko, smo počakali še približno 15 sekund, da je viskozen medij stekel po stenah na dno nastavka ter nato ponovno potisnili ven preostanek. Da bi v nastavku ostalo čim manj medija in bi tako napako pri redčenju čim bolj zmanjšali, smo z istim nastavkom zajeli še enak volumen prečiščene vode, ga prenesli v 250 ml bučko ter nato bučko dopolnili s prečiščeno vodo do oznake.

Za pripravo 100 mg/l standardne raztopine paracetamola smo na analitski tehtnici natehtali natančno, približno 10 mg paracetamola ter ga kvantitativno prenesli v 100 ml bučko. V slednjo smo z avtomatsko pipeto prenesli 10 ml medija na enak način, kot pri pripravi 10x redčenega medija ter dopolnili do oznake. Bučko smo za 15 min postavili v ultrazvočno kadičko, da se je paracetamol raztopil.

Iz tako pripravljene raztopine smo s pomočjo avtomatskih pipet z redčenjem pripravili raztopine različnih koncentracij v območju 1-20 mg/l. Raztopine smo redčili s predhodno 10x redčenim medijem ter jih nato prefiltrirali skozi 10 µm full flow filter na kanuli, s pomočjo plastične brizge.

Tako pripravljene raztopine pektinskih in nepektinskih medijev smo pomerili z UV spektrofotometrom. Z zbranimi absorbancami smo narisali premico  $A=k*c[\text{mg/l}]+n$ , enačbo umeritvene premice pa smo dobili s pomočjo linearne regresije. Linearnost smo preverili z izračunom Pearsonovega koeficienta.

## 6.10 Izračun deleža sproščene paracetamola

Koncentracijo paracetamola v odvzetem vzorcu smo izračunali na podlagi izmerjene absorbanca in umeritvene premice za dotični medij. Upoštevali smo volumen medija ob času odvzetega vzorca, faktor redčitve vzorca, delež sproščene paracetamola pa smo izračunali glede na maso paracetamola v tableti. Vsako tableto smo namreč pred začetkom poskusa stehali na analitski tehtnici in izračunali maso paracetamola, ki ga je vsebovala. Za vsebnost paracetamola smo upoštevali vrednost 25 %.

### Izračuni

- \* Zmanjševanje volumna medija:

$$V(t) = V_0 - V_{vz} * (n - 1),$$

*n = število odvzetih vzorcev*

- \* Enačba umeritvene premice:

$$A = k * c[\text{mg/l}] + n,$$

*n = odsek na ordinati*

- \* Koncentracija paracetamola v vzorcu ob času t:

$$c(t) = ((A-n) / k) / F$$

- \* Delež sproščene paracetamola ob času t:

$$m(t) = c(t) * V(t)$$

$$m_{\text{parac. v tabl.}} = 0,25 * m_{\text{tabl}}$$

$$\% (t) = (m(t) / m_{\text{parac. v tabl.}}) * 100$$

- \* Masa celotne sproščene učinkovine v času t:

$$m_T = c(t) * V(t) + V_{vz} * (c_1 + c_2 + \dots + c_{n-1})$$

- \* Delež celotne sproščene učinkovine:

$$\% = (m_T / m_{\text{parac. v tabl.}}) * 100$$

### Legenda simbolov:

- A – absorbanca vzorca
- F – faktor redčenja vzorca
- m(t) – masa sproščene paracetamola ob času t
- c(t) – koncentracija paracetamola v vzorcu ob času t



- $V_{vz}$  – volumen vzorca ob času  $t$
- $m_{\text{parac. v tabl.}}$  – masa paracetamola v tableti
- $m_{\text{tabl}}$  – masa tablete
- $V(t)$  – volumen medija ob času  $t$
- $V_0$  – začetni volumen medija
- $\%(t)$  – delež sproščene učinkovine v času  $t$
- $m_T$  – masa celotne sproščene učinkovine
- $\%$  - delež celotne sproščene učinkovine

## 7. REZULTATI

### 7.1 Enačbe umeritvenih premic

Za vsak medij, v katerem smo izvajali test sproščanja, smo predhodno naredili umeritveno premico. Pripravili smo različne koncentracije standardov paracetamola v dotičnem mediju, jim pomerili absorbanco ter na podlagi znanih koncentracij določili umeritveno krivuljo. Za izračun le-te smo uporabili metodo linearne regresije. Za vsako premico smo izračunali Pearsonov koeficient korelacije. V preglednicah od IV do VII smo s parametrom A v umeritveni krivulji označili absorbanco vzorca, s parametrom c pa koncentracijo sproščenega paracetamola v mg/l.

*Preglednica IV: Umeritvene premice z ustrežajočimi si Pearsonovimi koeficienti v medijih s saharozo.*

MEDIJ				
pufer	pH	Koncentracija saharoze [g/l]	Umeritvena premica; c[mg/l]	Pearsonov koeficient
50mM citratni pufer	2,5	/	$A = 0,0606 * c + 0,0440$	0,9996
	3,5		$A = 0,0617 * c - 0,0009$	1,0000
	4,5		$A = 0,0615 * c - 0,0214$	0,9999
	2,5	200	$A = 0,0647 * c + 0,0049$	0,9998
	3,5		$A = 0,0649 * c - 0,0016$	1,0000
	4,5		$A = 0,0637 * c - 0,0012$	0,9999
	2,5	240	$A = 0,0650 * c + 0,0023$	0,9999
	3,5		$A = 0,0649 * c + 0,0046$	0,9996
	4,5		$A = 0,0658 * c - 0,0013$	1,0000
	2,5	260	$A = 0,0675 * c + 0,0076$	0,9998
	3,5		$A = 0,0655 * c + 0,0136$	0,9999
	4,5		$A = 0,0656 * c + 0,0026$	0,9999
	2,5	280	$A = 0,0668 * c - 0,0033$	0,9996
	3,5		$A = 0,0656 * c + 0,0019$	0,9998
	4,5		$A = 0,0649 * c + 0,0047$	1,0000

Preglednica V: Umeritvene premice z ustrežajočimi si Pearsonovimi koeficienti v medijih z natrijevim kloridom.

MEDIJ				
pufer	pH	Koncentracija NaCl [g/l]	Umeritvena premica; c[mg/l]	Pearsonov koeficient
50mM citratni pufer	2,5	30	$A = 0,0639 \cdot c + 0,0010$	1,0000
	3,5		$A = 0,0639 \cdot c + 0,0031$	1,0000
	4,5		$A = 0,0621 \cdot c - 0,0011$	1,0000
	2,5	35	$A = 0,0638 \cdot c + 0,0045$	1,0000
	3,5		$A = 0,0645 \cdot c + 0,0020$	1,0000
	4,5		$A = 0,0648 \cdot c + 0,0040$	1,0000

Preglednica VI: Umeritvene premice z ustrežajočimi si Pearsonovimi koeficienti v medijih s saharozo in pektinom.

MEDIJ				
pufer	pH	Koncentracija saharoze [g/l]	Umeritvena premica; c[mg/l]	Pearsonov koeficient
50mM citratni pufer in 10 g/l pektina; 10x redčen s prečiščeno vodo	2,5	/	$A = 0,0640 \cdot c + 0,0013$	0,9998
	3,5		$A = 0,0609 \cdot c - 0,0033$	0,9997
	4,5		$A = 0,0642 \cdot c + 0,0026$	0,9999
	2,5	200	$A = 0,0656 \cdot c - 0,0040$	0,9999
	3,5		$A = 0,0590 \cdot c - 0,0042$	0,9999
	4,5		$A = 0,0639 \cdot c - 0,0026$	1,0000
	2,5	240	$A = 0,0626 \cdot c + 0,0079$	0,9998
	3,5		$A = 0,0611 \cdot c + 0,0019$	0,9992
	4,5		$A = 0,0633 \cdot c - 0,0010$	0,9999
	2,5	260	$A = 0,0622 \cdot c + 0,0222$	0,9997
	3,5		$A = 0,0694 \cdot c + 0,0225$	0,9996
	4,5		$A = 0,0633 \cdot c - 0,0002$	0,9998
	2,5	280	$A = 0,0643 \cdot c - 0,0216$	0,9997
	3,5		$A = 0,0638 \cdot c - 0,0015$	0,9993
	4,5		$A = 0,0628 \cdot c + 0,0091$	0,9998

Preglednica VII: Umeritvene premice z ustrežajočimi si Pearsonovimi koeficienti v medijih z natrijevim kloridom in pektinom.

MEDIJ				
pufer	pH	Koncentracija NaCl [g/l]	Umeritvena premica; c[mg/l]	Pearsonov koeficient
50mM citratni pufer in 10 g/l pektina; 10x redčen s prečiščeno vodo	2,5	30	$A = 0,0638 * c + 0,0670$	0,9997
	3,5		$A = 0,0628 * c - 0,0020$	0,9994
	4,5		$A = 0,0638 * c - 0,0080$	0,9995
50mM citratni pufer in 10 g/l pektina; 10x redčen s prečiščeno vodo	2,5	35	$A = 0,0644 * c - 0,0072$	0,9999
	3,5		$A = 0,0655 * c + 0,0026$	0,9994
	4,5		$A = 0,0623 * c + 0,0111$	0,9997

## 7.2 Profili sproščanja

Zbrane meritve profilov sproščanja so podane v preglednicah od VIII do X. Podatki so razvrščeni glede na medij sproščanja. Podane so tri paralele sproščanja, njihovo povprečje, standardni odklon (SD) in koeficient variacije (KV). Preglednice so ločene glede na serijo tablet, na katerih smo izvajali sproščanje.

Preglednica VIII: Profili sproščanj (v %) paracetamola iz 1. serije tablet

Medij: 50 mM citratni pufer, pH 2,5						
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	9,640	8,712	8,877	9,077	0,495	5,457
40	14,933	11,267	11,004	12,401	2,196	17,711
60	16,937	15,645	14,981	15,854	0,995	6,273
90	21,919	20,250	19,700	20,623	1,156	5,604
120	25,926	26,358	25,984	26,089	0,235	0,899
150	31,410	29,125	30,144	30,226	1,145	3,787
180	34,574	34,133	33,044	33,917	0,787	2,321
210	38,622	38,289	38,401	38,437	0,169	0,441
240	43,825	40,994	40,346	41,722	1,850	4,435
300	49,020	46,285	47,015	47,440	1,416	2,985
Medij: 50 mM citratni pufer, pH 3,5						
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	9,971	9,424	9,396	9,597	0,324	3,377
40	14,460	14,330	14,934	14,574	0,318	2,182
60	18,883	18,749	18,013	18,549	0,468	2,526
90	24,599	23,730	23,537	23,955	0,566	2,363
120	29,017	28,855	28,961	28,944	0,082	0,283
150	33,871	32,921	31,957	32,916	0,957	2,909

<b>180</b>	37,618	36,779	36,550	36,982	0,562	1,521
<b>210</b>	40,069	40,189	40,847	40,368	0,418	1,037
<b>240</b>	41,458	43,868	44,032	43,119	1,441	3,342
<b>300</b>	50,373	49,139	49,544	49,685	0,629	1,266
<b>Medij: 50 mM citratni pufer, pH 4,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>20</b>	9,521	8,444	9,107	9,024	0,544	6,024
<b>40</b>	14,952	15,739	15,103	15,265	0,418	2,738
<b>60</b>	20,966	19,962	19,840	20,256	0,618	3,051
<b>90</b>	25,362	24,314	25,418	25,032	0,622	2,484
<b>120</b>	30,508	29,417	30,077	30,001	0,550	1,832
<b>150</b>	35,044	33,194	32,697	33,645	1,237	3,677
<b>180</b>	39,261	36,569	38,162	37,997	1,353	3,562
<b>210</b>	40,854	39,579	41,290	40,574	0,889	2,191
<b>240</b>	44,498	43,807	44,785	44,363	0,503	1,133
<b>300</b>	50,471	48,828	50,683	49,994	1,015	2,031
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 10 g/l pektin, pH 2,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>20</b>	7,943	8,668	7,320	7,977	0,675	8,458
<b>40</b>	13,252	15,393	13,536	14,060	1,163	8,269
<b>60</b>	15,857	17,732	19,760	17,783	1,952	10,978
<b>90</b>	22,153	23,649	23,386	23,062	0,799	3,464
<b>120</b>	25,292	27,274	27,006	26,524	1,075	4,054
<b>150</b>	30,465	32,597	31,597	31,553	1,067	3,381
<b>180</b>	36,214	37,090	35,585	36,296	0,756	2,083
<b>210</b>	38,363	39,646	38,891	38,966	0,645	1,655
<b>240</b>	41,536	42,204	43,313	42,351	0,897	2,119
<b>300</b>	41,467	45,459	50,085	45,670	4,313	9,443
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 10 g/l pektin, pH 3,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
<b>0</b>	0,000	0,494	0,490	0,328	0,284	0,000
<b>20</b>	4,187	6,639	9,193	6,673	2,503	37,515
<b>40</b>	11,663	11,079	12,125	11,622	0,524	4,511
<b>60</b>	14,994	14,799	15,049	14,947	0,131	0,879
<b>90</b>	20,382	19,775	20,822	20,326	0,526	2,586
<b>120</b>	24,523	24,691	22,657	23,957	1,129	4,713
<b>150</b>	30,645	28,182	27,405	28,744	1,692	5,886
<b>180</b>	32,896	31,539	37,434	33,956	3,087	9,091
<b>210</b>	36,706	35,445	40,113	37,421	2,415	6,453
<b>240</b>	39,950	37,997	42,923	40,290	2,481	6,157
<b>300</b>	44,159	45,649	48,310	46,039	2,103	4,567
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 10 g/l pektin, pH 4,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>20</b>	9,090	5,893	7,704	7,562	1,603	21,202
<b>40</b>	14,003	11,433	11,511	12,316	1,462	11,868
<b>60</b>	15,421	15,914	17,397	16,244	1,028	6,329
<b>90</b>	19,919	20,185	20,957	20,354	0,539	2,650
<b>120</b>	25,343	23,287	24,511	24,380	1,034	4,243
<b>150</b>	26,597	25,595	28,959	27,050	1,727	6,386

<b>180</b>	31,634	29,949	35,077	32,220	2,614	8,112			
<b>210</b>	35,526	33,496	36,357	35,126	1,472	4,190			
<b>240</b>	37,685	35,043	38,118	36,949	1,665	4,505			
<b>300</b>	41,766	46,076	46,432	44,758	2,597	5,802			
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 200 g/l saharoza, pH 2,5</b>									
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>			
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
<b>20</b>	7,085	7,271	6,737	7,031	0,271	3,850			
<b>40</b>	12,212	11,610	10,955	11,592	0,629	5,425			
<b>60</b>	15,940	15,543	14,124	15,202	0,955	6,281			
<b>90</b>	19,057	18,708	18,613	18,793	0,234	1,245			
<b>120</b>	23,974	21,775	21,470	22,406	1,366	6,097			
<b>150</b>	26,438	24,725	24,555	25,239	1,042	4,127			
<b>180</b>	28,401	28,805	27,494	28,233	0,672	2,379			
<b>210</b>	31,799	31,422	29,009	30,744	1,514	4,924			
<b>240</b>	33,720	34,703	31,165	33,196	1,826	5,502			
<b>300</b>	38,199	36,275	36,879	37,118	0,984	2,651			
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 200 g/l saharoza, pH 3,5</b>									
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>			
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
<b>20</b>	7,813	8,176	7,467	7,819	0,354	4,532			
<b>40</b>	12,082	12,407	12,101	12,197	0,182	1,496			
<b>60</b>	17,610	17,170	16,232	17,004	0,704	4,139			
<b>90</b>	20,347	19,945	19,643	19,978	0,353	1,768			
<b>120</b>	24,021	23,600	23,162	23,594	0,429	1,820			
<b>150</b>	27,302	27,033	27,319	27,218	0,160	0,589			
<b>180</b>	31,470	29,912	30,370	30,584	0,801	2,618			
<b>210</b>	32,143	33,057	31,980	32,393	0,580	1,792			
<b>240</b>	36,184	33,916	34,094	34,731	1,261	3,631			
<b>300</b>	40,741	38,774	38,618	39,378	1,183	3,004			
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 240 g/l saharoza, pH 2,5</b>									
<b>čas [min]</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>	<b>P4</b>	<b>P5</b>	<b>P6</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>20</b>	7,253	6,161	6,579	7,741	7,357	7,107	6,028	0,570	9,459
<b>40</b>	10,916	9,712	10,310	11,643	10,958	11,106	9,235	0,673	7,283
<b>60</b>	14,149	12,954	13,450	17,674	15,907	15,062	12,742	1,742	13,674
<b>90</b>	18,461	18,494	18,579	21,750	18,866	18,860	16,430	1,277	7,773
<b>120</b>	21,190	21,327	21,872	23,281	22,702	21,856	18,890	0,809	4,281
<b>150</b>	24,647	24,426	24,998	28,739	26,074	25,591	22,068	1,588	7,194
<b>180</b>	27,519	26,381	28,427	33,727	29,212	28,211	24,782	2,543	10,263
<b>210</b>	31,260	30,111	31,025	44,853	32,217	32,173	28,806	5,565	19,320
<b>240</b>	37,735	33,805	34,008	65,289	34,553	33,471	34,123	12,578	36,860
<b>300</b>	67,191	40,130	40,399	94,230	40,232	37,507	45,670	22,927	50,203
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 240 g/l saharoza, pH 3,5</b>									
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>			
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
<b>20</b>	8,262	6,981	7,534	7,592	0,643	8,464			
<b>40</b>	12,311	15,656	11,570	13,179	2,177	16,518			
<b>60</b>	36,290	60,884	35,893	44,356	14,316	32,275			
<b>90</b>	71,279	85,052	83,044	79,792	7,440	9,325			
<b>120</b>	88,688	92,495	93,200	91,461	2,427	2,654			

150	89,916	95,094	96,811	93,940	3,589	3,821			
180	92,071	96,510	96,149	94,910	2,465	2,597			
210	95,421	98,563	98,192	97,392	1,717	1,763			
240	96,008	100,793	102,335	99,712	3,299	3,308			
300	96,008	100,793	102,335	99,712	3,299	3,308			
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 260 g/l saharoza, pH 2,5</b>									
čas [min]	P1	P2	P3	P4	P5	P6	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	7,253	6,161	6,579	7,741	7,357	7,107	7,211	1,711	23,723
40	10,916	9,712	10,310	11,643	10,958	11,106	9,563	2,011	21,025
60	14,149	12,954	13,450	17,674	15,907	15,062	22,266	6,226	27,964
90	18,461	18,494	18,579	21,750	18,866	18,860	67,653	9,510	14,057
120	21,190	21,327	21,872	23,281	22,702	21,856	83,642	6,312	7,546
150	24,647	24,426	24,998	28,739	26,074	25,591	86,844	2,674	3,079
180	27,519	26,381	28,427	33,727	29,212	28,211	94,058	3,522	3,744
210	31,260	30,111	31,025	44,853	32,217	32,173	95,113	3,645	3,832
240	37,735	33,805	34,008	65,289	34,553	33,471	95,056	3,724	3,918
300	67,191	40,130	40,399	94,230	40,232	37,507	95,056	3,724	3,918
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 260 g/l saharoza, pH 3,5</b>									
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)			
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
20	12,150	17,303	14,710	14,721	2,576	17,501			
40	61,752	79,145	65,249	68,715	9,200	13,389			
60	80,185	82,736	80,972	81,298	1,307	1,607			
90	88,604	86,615	95,643	90,287	4,744	5,254			
120	93,052	96,332	98,440	95,941	2,715	2,830			
150	96,758	96,332	98,440	97,177	1,115	1,147			
180	96,607	96,332	98,440	97,127	1,146	1,180			
210	96,607	96,332	98,440	97,127	1,146	1,180			
240	96,607	96,332	98,440	97,127	1,146	1,180			
300	96,607	96,332	98,440	97,127	1,146	1,180			
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 260 g/l saharoza, pH 4,5</b>									
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)			
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
20	70,266	37,633	40,069	49,322	18,179	36,857			
40	89,084	81,195	83,185	84,488	4,103	4,856			
60	95,200	88,694	91,188	91,694	3,282	3,580			
90	94,484	94,188	93,321	93,998	0,605	0,643			
120	96,174	93,415	96,164	95,251	1,590	1,669			
150	96,018	93,521	96,026	95,189	1,444	1,517			
180	96,018	93,344	96,026	95,129	1,546	1,625			
210	96,018	93,344	96,026	95,129	1,546	1,625			
240	96,018	93,344	96,026	95,129	1,546	1,625			
300	96,018	93,344	96,026	95,129	1,546	1,625			
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 280 g/l saharoza, pH 2,5</b>									
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)			
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
20	8,765	6,881	7,290	7,646	0,991	12,964			
40	48,112	77,629	61,226	62,322	14,789	23,730			
60	69,337	87,532	82,863	79,911	9,450	11,825			
90	76,764	92,507	96,279	88,516	10,352	11,695			

120	88,834	93,446	98,218	93,499	4,692	5,019
150	92,160	97,946	98,106	96,071	3,388	3,526
180	93,090	97,785	98,106	96,327	2,808	2,915
210	95,933	97,785	98,106	97,275	1,173	1,206
240	95,718	97,785	98,106	97,203	1,296	1,334
300	95,718	97,785	98,106	97,203	1,296	1,334
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 280 g/l saharoza, pH 3,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	85,548	47,267	38,142	56,986	25,153	44,139
40	99,043	90,159	70,507	86,569	14,602	16,868
60	100,340	98,204	89,534	96,026	5,723	5,960
90	100,258	97,434	99,380	99,024	1,445	1,460
120	100,258	98,269	99,292	99,273	0,994	1,002
150	100,258	99,138	99,292	99,562	0,607	0,610
180	100,258	99,869	99,292	99,806	0,486	0,487
210	100,258	99,631	99,292	99,727	0,490	0,491
240	100,258	99,631	99,292	99,727	0,490	0,491
300	100,258	99,631	99,292	99,727	0,490	0,491
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 280 g/l saharoza, pH 4,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	87,378	96,972	89,041	91,130	5,127	5,626
40	102,347	99,971	101,481	101,267	1,203	1,188
60	102,308	101,705	101,441	101,818	0,444	0,436
90	102,308	101,617	101,441	101,789	0,458	0,450
120	102,308	101,617	101,441	101,789	0,458	0,450
150	102,308	101,617	101,441	101,789	0,458	0,450
180	102,308	101,617	101,441	101,789	0,458	0,450
210	102,308	101,617	101,441	101,789	0,458	0,450
240	102,308	101,617	101,441	101,789	0,458	0,450
300	102,308	101,617	101,441	101,789	0,458	0,450
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 240 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 2,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	1,693	0,070	2,141	1,301	1,090	83,737
40	4,585	1,884	4,502	3,657	1,536	41,997
60	9,298	8,893	8,186	8,793	0,563	6,399
90	12,551	10,570	10,259	11,127	1,243	11,174
120	17,219	15,777	15,803	16,267	0,825	5,071
150	22,574	17,772	18,095	19,480	2,684	13,778
180	24,985	23,431	19,924	22,780	2,593	11,381
210	25,565	24,985	24,430	24,993	0,568	2,272
240	24,902	24,503	24,094	24,500	0,404	1,648
300	30,956	31,632	28,316	30,301	1,752	5,782
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 240 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 3,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	0,237	0,556	4,091	1,628	2,139	131,354
40	5,181	6,391	7,894	6,489	1,359	20,947
60	12,372	7,882	16,581	12,278	4,350	35,431
90	18,117	13,741	25,397	19,085	5,888	30,851



120	25,891	18,368	38,479	27,579	10,162	36,845			
150	40,997	24,805	52,371	39,391	13,853	35,168			
180	56,261	31,990	66,695	51,648	17,806	34,476			
210	70,809	39,953	78,755	63,172	20,497	32,447			
240	83,879	51,042	88,647	74,523	20,474	27,473			
300	101,189	85,824	101,171	96,061	8,866	9,230			
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 240 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 4,5</b>									
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)			
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
20	7,324	8,190	7,649	7,721	0,437	5,665			
40	21,389	22,996	19,976	21,453	1,511	7,042			
60	50,010	42,229	43,193	45,144	4,242	9,396			
90	82,293	84,479	87,809	84,860	2,778	3,274			
120	100,548	95,864	100,984	99,132	2,838	2,863			
150	100,548	99,204	100,984	100,245	0,928	0,926			
180	100,548	101,393	100,984	100,975	0,422	0,418			
210	100,548	101,393	100,984	100,975	0,422	0,418			
240	100,548	101,393	100,984	100,975	0,422	0,418			
300	100,548	101,393	100,984	100,975	0,422	0,418			
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 260 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 2,5</b>									
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)			
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
20	0,000	0,747	1,466	0,738	0,733	99,379			
40	2,985	1,177	2,888	2,350	1,017	43,261			
60	6,997	5,300	9,029	7,109	1,867	26,262			
90	10,560	10,946	10,960	10,822	0,227	2,100			
120	17,327	12,346	12,387	14,020	2,864	20,427			
150	22,264	15,712	19,791	19,256	3,309	17,182			
180	26,844	17,185	21,199	21,743	4,852	22,317			
210	33,707	24,610	29,178	29,165	4,549	15,597			
240	38,760	27,835	38,206	34,934	6,154	17,617			
300	53,417	35,362	41,150	43,310	9,219	21,286			
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 260 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 4,5</b>									
čas [min]	P1	P2	P3	P4	P5	P6	povpr.	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	36,121	0,000	13,445	21,208	14,559	15,178	16,752	11,780	70,322
40	88,933	75,517	54,011	60,260	53,711	52,982	64,236	14,799	23,038
60	103,338	96,153	92,316	102,272	101,313	97,692	98,847	4,224	4,274
90	103,338	101,485	100,710	102,272	101,313	102,535	101,942	0,952	0,934
120	103,338	101,485	100,710	102,272	101,313	102,535	101,942	0,952	0,934
150	103,338	101,485	100,710	102,272	101,313	102,535	101,942	0,952	0,934
180	103,338	101,485	100,710	102,272	101,313	102,535	101,942	0,952	0,934
210	103,338	101,485	100,710	102,272	101,313	102,535	101,942	0,952	0,934
240	103,338	101,485	100,710	102,272	101,313	102,535	101,942	0,952	0,934
300	103,338	101,485	100,710	102,272	101,313	102,535	101,942	0,952	0,934
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 280 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 4,5</b>									
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)			
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
20	21,654	15,657	20,840	19,384	3,253	16,781			
40	67,957	54,528	65,381	62,622	7,127	11,381			
60	97,408	88,776	91,228	92,471	4,448	4,811			

90	97,408	97,102	101,861	98,790	2,664	2,697
120	97,408	97,102	101,861	98,790	2,664	2,697
150	97,408	97,102	101,861	98,790	2,664	2,697
180	97,408	97,102	101,861	98,790	2,664	2,697
210	97,408	97,102	101,861	98,790	2,664	2,697
240	97,408	97,102	101,861	98,790	2,664	2,697
300	97,408	97,102	101,861	98,790	2,664	2,697

Preglednica IX: Profili sproščanj (v %) paracetamola iz 2. serije tablet:

<b>Medij: 50 mM citratni pufer 200 g/l saharoza, pH 4,5</b>						
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	7,085	7,271	6,737	7,031	0,271	3,850
40	12,212	11,610	10,955	11,592	0,629	5,425
60	15,940	15,543	14,124	15,202	0,955	6,281
90	19,057	18,708	18,613	18,793	0,234	1,245
120	23,974	21,775	21,470	22,406	1,366	6,097
150	26,438	24,725	24,555	25,239	1,042	4,127
180	28,401	28,805	27,494	28,233	0,672	2,379
210	31,799	31,422	29,009	30,744	1,514	4,924
240	33,720	34,703	31,165	33,196	1,826	5,502
300	38,199	36,275	36,879	37,118	0,984	2,651
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 240 g/l saharoza, pH 4,5</b>						
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)
0	0,018	0,018	0,018	0,018	0,000	0,000
20	17,511	15,904	11,268	14,894	3,242	21,765
40	86,944	75,870	81,355	81,390	5,537	6,804
60	96,180	94,986	98,840	96,669	1,973	2,041
90	103,193	101,659	98,227	101,026	2,543	2,517
120	103,193	101,659	100,684	101,846	1,265	1,242
150	103,193	101,659	100,684	101,846	1,265	1,242
180	103,193	101,659	100,684	101,846	1,265	1,242
210	103,193	101,659	100,684	101,846	1,265	1,242
240	103,193	101,659	100,684	101,846	1,265	1,242
300	103,193	101,659	100,684	101,846	1,265	1,242
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 200 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 2,5</b>						
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	5,598	3,046	2,331	3,658	1,717	46,948
40	6,641	7,028	5,382	6,350	0,861	13,557
60	12,045	8,281	9,736	10,021	1,898	18,940
90	16,138	14,364	11,806	14,103	2,178	15,444
120	16,760	14,677	15,402	15,613	1,058	6,775
150	20,750	18,953	19,351	19,685	0,944	4,795
180	20,960	22,350	20,241	21,184	1,072	5,061
210	26,510	24,701	24,152	25,121	1,234	4,912
240	28,143	27,495	27,892	27,844	0,327	1,173
300	29,375	33,414	29,485	30,758	2,301	7,480

<b>Medij: 50 mM citratni pufer 200 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 3,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	5,485	3,770	2,740	3,998	1,386	34,675
40	8,414	8,536	6,078	7,676	1,385	18,046
60	11,476	12,260	11,207	11,648	0,547	4,698
90	17,723	18,888	15,615	17,409	1,659	9,530
120	20,449	22,401	19,285	20,712	1,575	7,604
150	24,013	26,836	23,695	24,848	1,729	6,960
180	29,558	33,590	32,684	31,944	2,116	6,623
210	31,819	38,467	33,880	34,722	3,403	9,800
240	35,222	41,219	35,120	37,187	3,492	9,390
300	44,673	46,645	49,222	46,847	2,281	4,869
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 200 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 4,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	6,554	8,790	7,310	7,551	1,138	15,065
40	17,011	12,723	21,374	17,036	4,325	25,388
60	38,713	28,625	39,982	35,773	6,223	17,395
90	70,422	56,305	69,033	65,253	7,781	11,924
120	97,364	88,389	94,994	93,583	4,651	4,970
150	101,545	99,234	100,463	100,414	1,156	1,152
180	101,545	99,234	100,463	100,414	1,156	1,152
210	101,545	99,234	100,463	100,414	1,156	1,152
240	101,545	99,234	100,463	100,414	1,156	1,152
300	101,545	99,234	100,463	100,414	1,156	1,152
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 260 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 3,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	1,059	1,600	1,215	1,291	0,278	21,542
40	5,068	6,078	4,318	5,155	0,883	17,133
60	20,854	20,695	18,114	19,888	1,538	7,734
90	40,622	40,238	39,308	40,056	0,675	1,686
120	60,369	63,821	65,214	63,135	2,494	3,951
150	73,027	82,576	79,912	78,505	4,928	6,277
180	81,159	82,366	91,294	84,940	5,536	6,518
210	85,527	82,987	91,294	86,603	4,257	4,915
240	87,101	84,553	91,294	87,649	3,404	3,884
300	87,101	86,322	91,294	88,239	2,674	3,031
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 280 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 2,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	7,054	6,976	9,283	7,771	1,310	16,857
40	11,782	8,735	12,429	10,982	1,973	17,962
60	14,484	15,445	15,319	15,083	0,522	3,462
90	17,324	21,596	22,802	20,574	2,878	13,990
120	21,015	26,822	31,371	26,403	5,191	19,659
150	21,522	33,464	39,871	31,619	9,313	29,453
180	27,051	42,883	51,553	40,496	12,424	30,681
210	31,721	52,083	66,527	50,110	17,486	34,896
240	35,481	63,852	81,951	60,428	23,423	38,762
300	44,542	91,625	105,356	80,508	31,895	39,617

<b>Medij: 50 mM citratni pufer 280 g/l saharoza, 10 g/l pektin, pH 3,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	5,355	5,723	5,237	5,438	0,253	4,659
40	33,701	19,458	23,747	25,635	7,307	28,503
60	57,130	42,151	43,664	47,648	8,246	17,306
90	86,824	74,479	91,820	84,374	8,926	10,579
120	99,774	96,396	100,853	99,007	2,325	2,349
150	99,774	100,442	100,853	100,356	0,545	0,543
180	99,774	100,442	100,853	100,356	0,545	0,543
210	99,774	100,442	100,853	100,356	0,545	0,543
240	99,774	100,442	100,853	100,356	0,545	0,543
300	99,774	100,442	100,853	100,356	0,545	0,543
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 30 g/l NaCl, pH 2,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	10,002	9,325	8,723	9,350	0,640	6,840
40	14,756	14,416	13,682	14,285	0,549	3,842
60	18,906	19,343	18,076	18,775	0,644	3,429
90	23,638	23,712	22,674	23,342	0,579	2,481
120	28,039	28,470	26,550	27,686	1,008	3,640
150	31,270	31,894	29,386	30,850	1,305	4,231
180	34,798	35,363	32,714	34,292	1,395	4,068
210	37,113	37,946	35,011	36,690	1,513	4,123
240	40,322	41,254	39,292	40,289	0,982	2,436
300	45,321	44,963	42,656	44,313	1,446	3,264
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 30 g/l NaCl, pH 3,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	10,594	9,400	9,168	9,721	0,765	7,873
40	17,963	17,493	19,439	18,298	1,015	5,548
60	22,917	21,420	23,896	22,744	1,247	5,483
90	28,034	29,139	31,880	29,684	1,980	6,670
120	32,810	33,200	36,972	34,327	2,299	6,696
150	37,948	37,962	38,659	38,190	0,406	1,064
180	43,843	41,811	43,383	43,012	1,066	2,477
210	49,336	45,885	45,815	47,012	2,013	4,282
240	49,519	49,367	48,956	49,281	0,291	0,591
300	58,601	58,502	55,211	57,438	1,929	3,359
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 30 g/l NaCl, pH 4,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	13,351	11,676	9,292	11,440	2,040	17,829
40	60,368	37,951	29,358	42,559	16,011	37,620
60	97,781	84,820	52,255	78,286	23,456	29,962
90	100,556	102,403	89,148	97,369	7,179	7,373
120	100,556	102,403	99,949	100,969	1,278	1,266
150	100,556	102,403	102,341	101,767	1,049	1,031
180	100,556	102,403	102,341	101,767	1,049	1,031
210	100,556	102,403	102,341	101,767	1,049	1,031
240	100,556	102,403	102,341	101,767	1,049	1,031
300	100,556	102,403	102,341	101,767	1,049	1,031

<b>Medij: 50 mM citratni pufer 30 g/l NaCl, 10 g/l pektin, pH 2,5</b>									
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)			
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
20	6,609	5,955	4,007	5,524	1,353	24,502			
40	11,164	8,729	9,165	9,686	1,298	13,406			
60	14,592	13,028	13,923	13,848	0,785	5,669			
90	18,043	18,695	19,115	18,618	0,541	2,904			
120	23,134	23,059	22,476	22,889	0,360	1,574			
150	27,865	28,046	26,740	27,550	0,708	2,569			
180	29,808	29,912	30,885	30,202	0,594	1,967			
210	32,531	33,003	32,670	32,735	0,243	0,741			
240	34,666	35,019	33,065	34,250	1,042	3,041			
300	37,461	39,409	38,258	38,376	0,980	2,553			
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 30 g/l NaCl, 10 g/l pektin, pH 3,5</b>									
čas [min]	P1	P2	P3	P4	P5	P6	povpr.	SD	KV (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	7,287	8,115	6,941	9,696	7,933	8,315	8,048	0,960	11,928
40	10,833	12,085	11,206	15,400	11,795	14,530	12,641	1,873	14,813
60	14,128	17,795	15,094	21,516	16,006	19,559	17,350	2,818	16,243
90	18,058	21,700	19,706	28,250	23,260	26,955	22,988	4,006	17,425
120	21,519	26,006	24,458	36,679	29,346	37,141	29,192	6,492	22,238
150	24,380	31,845	27,113	44,851	32,915	44,238	34,224	8,580	25,069
180	30,240	35,597	32,260	51,256	37,550	54,567	40,245	10,189	25,318
210	33,725	41,168	39,137	57,809	41,761	61,602	45,867	11,152	24,314
240	36,982	44,656	44,269	64,490	48,704	71,972	51,846	13,453	25,947
300	41,084	53,755	52,278	77,234	59,290	88,989	62,105	17,707	28,512
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 30 g/l NaCl, 10 g/l pektin, pH 4,5</b>									
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)			
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
20	24,766	17,794	9,292	17,284	7,750	44,836			
40	69,960	53,570	29,358	50,962	20,426	40,081			
60	99,222	91,109	52,255	80,862	25,104	31,045			
90	103,505	101,707	89,148	98,120	7,822	7,971			
120	103,505	101,707	99,949	101,720	1,778	1,748			
150	103,505	101,707	102,341	102,517	0,912	0,889			
180	103,505	101,707	102,341	102,517	0,912	0,889			
210	103,505	101,707	102,341	102,517	0,912	0,889			
240	103,505	101,707	102,341	102,517	0,912	0,889			
300	103,505	101,707	102,341	102,517	0,912	0,889			
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 35 g/l NaCl, pH 2,5</b>									
čas [min]	paralela 1	paralela 2	paralela 3	povprečje	SD	KV (%)			
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000			
20	11,352	12,086	9,554	10,997	1,303	11,844			
40	19,371	15,945	16,718	17,345	1,797	10,360			
60	24,008	24,360	21,221	23,197	1,720	7,415			
90	30,514	31,825	25,800	29,380	3,168	10,784			
120	35,988	37,965	31,306	35,086	3,420	9,748			
150	40,526	41,990	34,862	39,126	3,764	9,621			
180	44,004	45,489	37,448	42,314	4,278	10,111			
210	48,756	48,727	42,749	46,744	3,460	7,402			
240	50,914	50,964	44,598	48,825	3,661	7,499			

<b>300</b>	56,334	60,577	50,752	55,887	4,928	8,818
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 35 g/l NaCl, pH 3,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>20</b>	10,032	12,747	13,179	11,986	1,706	14,231
<b>40</b>	26,037	20,124	72,226	39,462	28,528	72,291
<b>60</b>	58,236	35,671	86,257	60,055	25,342	42,198
<b>90</b>	73,173	67,596	92,450	77,740	13,041	16,775
<b>120</b>	84,977	83,898	94,916	87,930	6,074	6,907
<b>150</b>	90,250	90,589	94,916	91,918	2,601	2,830
<b>180</b>	94,771	91,085	94,916	93,591	2,171	2,320
<b>210</b>	95,861	94,587	94,916	95,121	0,661	0,695
<b>240</b>	95,861	94,587	94,916	95,121	0,661	0,695
<b>300</b>	95,861	94,587	94,916	95,121	0,661	0,695
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 35 g/l NaCl, pH 4,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>20</b>	9,783	8,569	10,493	9,615	0,973	10,124
<b>40</b>	18,596	8,159	17,369	14,708	5,705	38,788
<b>60</b>	27,699	14,413	31,066	24,393	8,805	36,097
<b>90</b>	45,424	34,475	51,294	43,731	8,536	19,520
<b>120</b>	78,957	64,178	67,132	70,089	7,821	11,158
<b>150</b>	90,454	81,835	80,415	84,235	5,433	6,450
<b>180</b>	92,252	86,171	86,377	88,267	3,453	3,912
<b>210</b>	97,214	91,793	91,543	93,517	3,205	3,427
<b>240</b>	97,214	93,291	97,749	96,085	2,434	2,533
<b>300</b>	97,214	96,465	97,749	97,143	0,645	0,664
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 35 g/l NaCl, 10 g/l pektin, pH 2,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>20</b>	5,773	4,983	4,647	5,134	0,578	11,263
<b>40</b>	11,548	9,864	10,831	10,747	0,845	7,862
<b>60</b>	14,440	12,826	13,358	13,541	0,823	6,075
<b>90</b>	17,482	17,386	16,924	17,264	0,298	1,728
<b>120</b>	24,091	21,109	20,987	22,062	1,758	7,968
<b>150</b>	26,325	25,187	24,486	25,333	0,928	3,663
<b>180</b>	31,353	28,645	26,835	28,944	2,274	7,857
<b>210</b>	36,186	31,539	30,445	32,724	3,048	9,315
<b>240</b>	38,667	36,272	33,937	36,292	2,365	6,517
<b>300</b>	46,273	44,851	43,288	44,804	1,493	3,332

Preglednica X: Profili sproščanj (v %) paracetamola iz 3. serije tablet

<b>Medij: 50 mM citratni pufer 35 g/l NaCl, 10 g/l pektin, pH 3,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>20</b>	6,536	3,920	4,336	4,931	1,406	28,510
<b>40</b>	24,915	17,413	14,882	19,070	5,218	27,362
<b>60</b>	45,258	38,614	37,499	40,457	4,195	10,369
<b>90</b>	70,687	76,360	74,964	74,004	2,956	3,995
<b>120</b>	90,116	93,483	91,668	91,755	1,685	1,837
<b>150</b>	102,522	93,874	94,187	96,861	4,905	5,064
<b>180</b>	102,522	95,474	102,526	100,174	4,070	4,063
<b>210</b>	102,522	103,361	102,526	102,803	0,483	0,470
<b>240</b>	102,522	103,361	102,526	102,803	0,483	0,470
<b>300</b>	102,522	103,361	102,526	102,803	0,483	0,470
<b>Medij: 50 mM citratni pufer 35 g/l NaCl, 10 g/l pektin, pH 4,5</b>						
<b>čas [min]</b>	<b>paralela 1</b>	<b>paralela 2</b>	<b>paralela 3</b>	<b>povprečje</b>	<b>SD</b>	<b>KV (%)</b>
<b>0</b>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>20</b>	20,962	18,003	10,303	16,423	5,503	33,506
<b>40</b>	66,412	65,327	41,010	57,583	14,363	24,943
<b>60</b>	95,135	91,134	79,918	88,729	7,889	8,891
<b>90</b>	101,931	96,967	100,571	99,823	2,565	2,570
<b>120</b>	101,931	100,162	100,571	100,888	0,926	0,918
<b>150</b>	101,931	100,162	100,571	100,888	0,926	0,918
<b>180</b>	101,931	100,162	100,571	100,888	0,926	0,918
<b>210</b>	101,931	100,162	100,571	100,888	0,926	0,918
<b>240</b>	101,931	100,162	100,571	100,888	0,926	0,918
<b>300</b>	101,931	100,162	100,571	100,888	0,926	0,918

## 8. RAZPRAVA

Pri našem raziskovalnem delu smo preučevali vplive saharoze, natrijevega klorida in pektina, zelo pogostih komponent vsakodnevne prehrane, na potek sproščanja paracetamola iz hidrofilnega ogrodnega sistema s HPMC polimerom.

Pri delu smo izhajali iz članka Williamsa in sodelavcev (13 in 14). V članku (13) so preučevali vpliv prisotnosti sladkorjev iz hrane na potek sproščanja učinkovin iz hidrofilnih ogrodnih sistemov. Ugotovili so, da nižje koncentracije sladkorjev upočasnijo potek sproščanja, saj se na površini hidrofilnega ogrodnega sistema tvori gelska plast močnejše mehanske konstitucije, ki predstavlja večjo bariero pri difuziji učinkovine iz jedra FO. Po drugi strani pa naraščajoče koncentracije sladkorjev, po preseženi mejni koncentraciji sladkorja, pomembno pospešijo sproščanje učinkovine, kar lahko vodi do hitrega dviga plazemskih koncentracij učinkovine in posledično možnih neželenih učinkov zdravila. Preučevali so tudi vpliv različnih sladkorjev na sproščanje učinkovine in ugotovili, da se ti med seboj razlikujejo.

V raziskavi (14) so preučevali vpliv kombinacije soli in sladkorjev na sproščanje učinkovine iz hidrofilnih ogrodnih sistemov. Ugotovili so, da se z dodajanjem naraščajoče koncentracije soli v medij s konstantno koncentracijo saharoze obdobje počasnega sproščanja učinkovine krajša, pospešeno sproščanje učinkovine pa nastopi prej v primerjavi z medijem enake sestave, brez dodanih soli (slika 7, graf a in b).

Raziskovalno delo smo si zastavili tako, da smo v mediju za sproščanje, ki smo mu spreminjali pH vrednost (od 2,5 do 4,5) raztopili naraščajoče koncentracije natrijevega klorida ali saharoze, brez ali v kombinaciji s pektinom. Pri testih je volumen medija, segretega na 37° C, znašal 900 ml, s tem smo na podlagi podatka o topnosti paracetamola v vodnih raztopinah (23,7 mg/ml, 37°C (20)) zagotovili sink pogoje. Pri delu smo se omejili na tablete s konstantno sestavo, s HPMC polimerom viskoznostne stopnje 90SH 100 000SR. Želeli smo namreč preučiti zgoraj omenjene vplive na potek sproščanja paracetamola iz hidrofilnega ogrodnega sistema, in omejiti morebitne druge vplive, ki bi izhajali iz lastnosti polimera (kot so npr.: velikost delcev, stopnja substitucije polimera), sestave tablete (npr.: razmerje polimer/učinkovina, dodatek pH modifikatorjev) ali procesa njene izdelave (npr.: različne sile stiskanja).



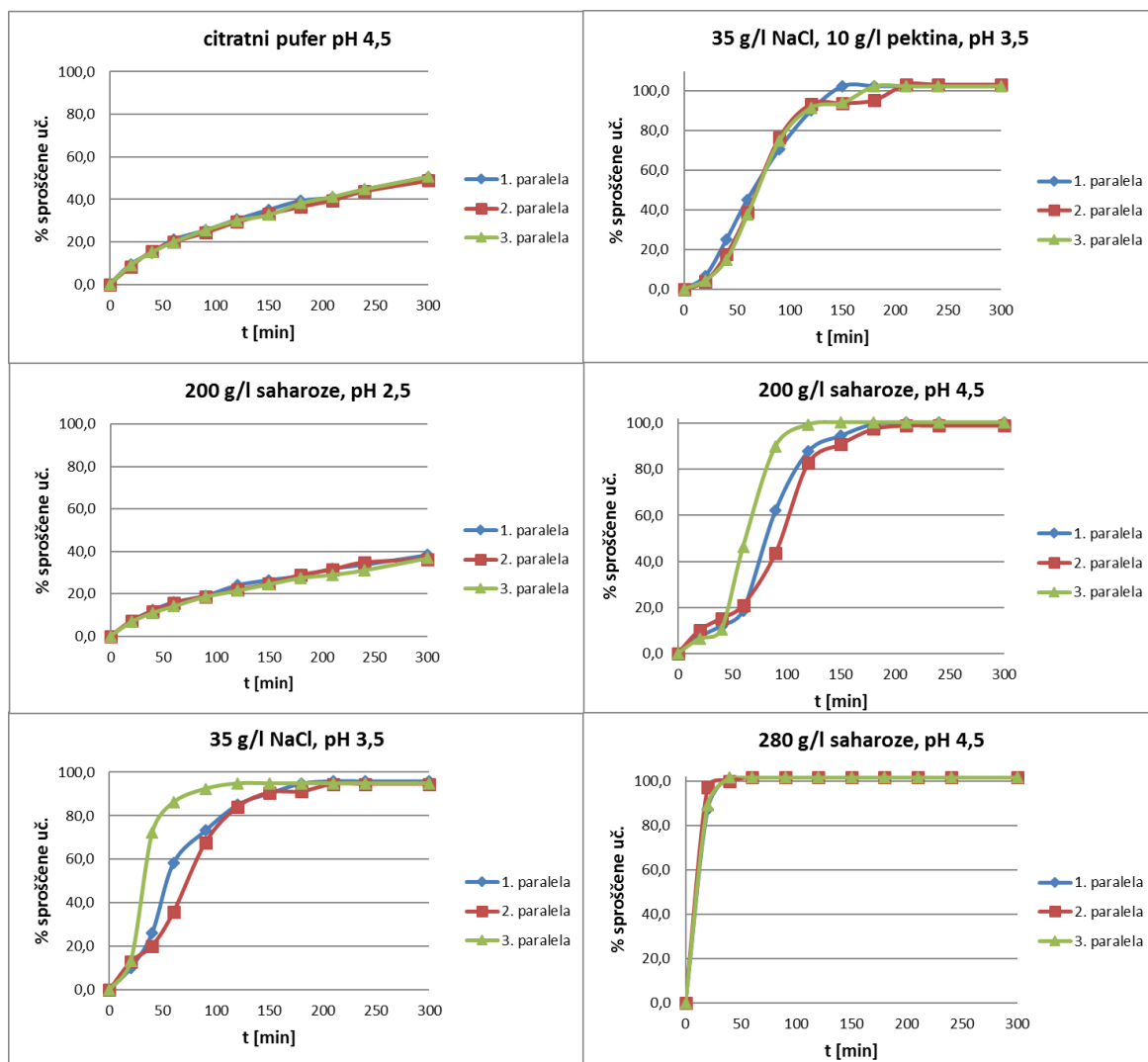
V sledeči razpravi so s pomočjo grafičnega prikaza pridobljenih rezultatov razloženi različni vplivi na potek sproščanja paracetamola iz hidrofilnih ogrodnih tablet.

## **8.1 Ponovljivost med paralelami**

Pri testih sproščanja je bila ponovljivost v medijih s citratnim puform pri različnih pH vrednostih, v mediju s pektinom in v medijih z nižjimi koncentracijami saharoze dobra.

Večja odstopanja v posameznih časovnih točkah treh paralelnih poskusov smo opazili v medijih z višjo ionsko močjo ali osmolarnostjo medija. Pri profilih sproščanja paracetamola smo v navedenih medijih namreč opazili prehodno območje, v katerem se je polimer ali hidratiral in tako tvoril gelsko plast, ki ima funkcijo difuzne bariere, kar je omogočilo upočasnjeno sproščanje učinkovine, ali pa je bila hidratacija polimera onemogočena, zaradi česar se koherentna gelska plast ni tvorila, opazili pa smo pospešeno sproščanje učinkovine.

Večja odstopanja v profilih sproščanja paralelnih poskusov smo opazili tudi v medijih, katerih viskoznost je bila višja (slika 9). Višja viskoznost medija je namreč oteževala natančnost redčenja vzorcev, saj je del alikvota lahko ostal na stenah nastavka za pipetiranje. Opisano je privedlo do večje napake pri delu in z njo tudi večje standardne deviacije. Vzorce smo redčili z osnovnim načinom pipetiranja, napako zaradi visoke viskoznosti medija pa bi morda lahko zmanjšali z metodo reverznega pipetiranja, ki ga omogočajo nekatere novejšje elektronske pipete. V tem primeru bi s pipeto zajeli večji volumen od želenega, iz pipete pa spustili točen volumen alikvota. Pri tem bi odvečen volumen, ki bi ostal v nastavku za pipetiranje, zavrgli.



Slika 9: Profili sproščanja treh paralelnih poskusov v medijih za sproščanje različnih sestav.

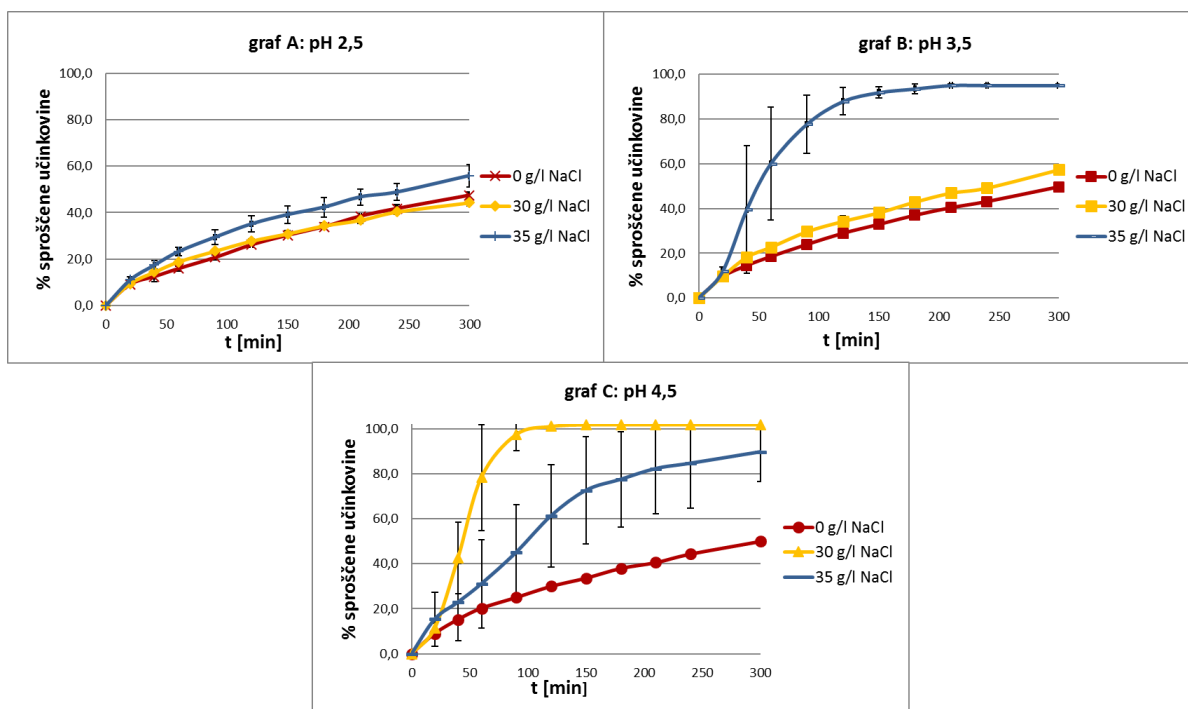
## 8.2 Vpliv NaCl

Vpliv NaCl na potek sproščanja paracetamola iz hidrofilnih ogrodnih tablet smo opazovali v medijih s 50mM citratnim pufrom z dodanimi 30 in 35 g/l natrijevega klorida pri treh pH vrednostih (2,5; 3,5 in 4,5).

V mediju s pH 2,5 je bilo sproščanje ob dodatku 30 g/l NaCl počasno in zelo podobno kot v mediju brez dodanega NaCl. Ob dodatku 35 g/l NaCl smo opazili rahlo pospešitev sproščanja v primerjavi s sproščanjem v mediju brez dodanega NaCl in z dodanimi 30 g/l (slika 10, graf A).

Sproščanje v mediju s pH 3,5 je bilo nekoliko hitrejše v primerjavi z medijem pri pH 2,5. Pri dodanih 30 g/l NaCl smo opazili rahlo hitrejše sproščanje v primerjavi z medijem brez dodane soli, ko smo koncentracijo NaCl povišali na 35g/l pa smo opazili pospešeno sproščanje paracetamola (slika 10, graf B).

V mediju s pH 4,5 je v obeh primerih koncentracije dodanega NaCl v medij za sproščanje (30 ali 35 g/l), sproščanje paracetamola pospešeno (slika 10, graf C). V primeru teh dveh medijev smo dobili nepričakovan rezultat; pri dodanih 35 g/l NaCl v medij za sproščanje je potek sproščanja paracetamola v povprečju počasnejši v primerjavi z medijem, v katerega smo dodali 30 g/l NaCl. Razlage za ta pojav trenutno nimamo, možen razlog je velika variabilnost rezultatov.



Slika 10: Profili sproščanja ob dodatku naraščajoče koncentracije natrijevega klorida v medij za sproščanje. Na grafu A je prikazan potek sproščanja v mediju s pH 2,5, na grafu B potek sproščanja v mediju s pH 3,5 in na grafu C v mediju s pH 4,5.

Iz navedenega lahko sklepamo, da z višanjem koncentracije NaCl in sočasnim višanjem pH medija, mediju za sproščanje višamo ionsko moč, ki pomembno vpliva na tvorbo koherentne gelske plasti na površini ogrodnih tablet. Z višanjem pH vrednosti medija prispevamo k spremembi ravnotežja med deležem neioniziranih in ioniziranih karboksilnih skupin citronske kisline, ki je komponenta medija. Večji delež ioniziranih karboksilnih skupin in v medij dodani  $\text{Na}^+$  in  $\text{Cl}^-$  ioni odtegnejo molekule vode polimeru, ki se tako težje hidratira. Nastaja gelska plast, ki ni mehansko odporna, kar se kaže v izraziti pospešitvi sproščanja učinkovine.

### **8.3 Vpliv naraščajoče koncentracije saharoze**

Williams in sodelavci so v svojem delu (13) ugotovili, da se ob dodatku saharoze v medij za sproščanje hitrost sproščanja učinkovine iz hidrofilnega ogrodnega sistema nekoliko upočasni do mejne koncentracije saharoze, ko opazimo ravno obraten efekt, pospešitev sproščanja. Vpliv naraščajoče koncentracije saharoze smo opazovali v citratnem puftru treh pH vrednosti (2,5; 3,5 in 4,5). Najnižja koncentracija saharoze je bila 200 g/l, medtem, ko smo za najvišjo izbrali 280 g/l.

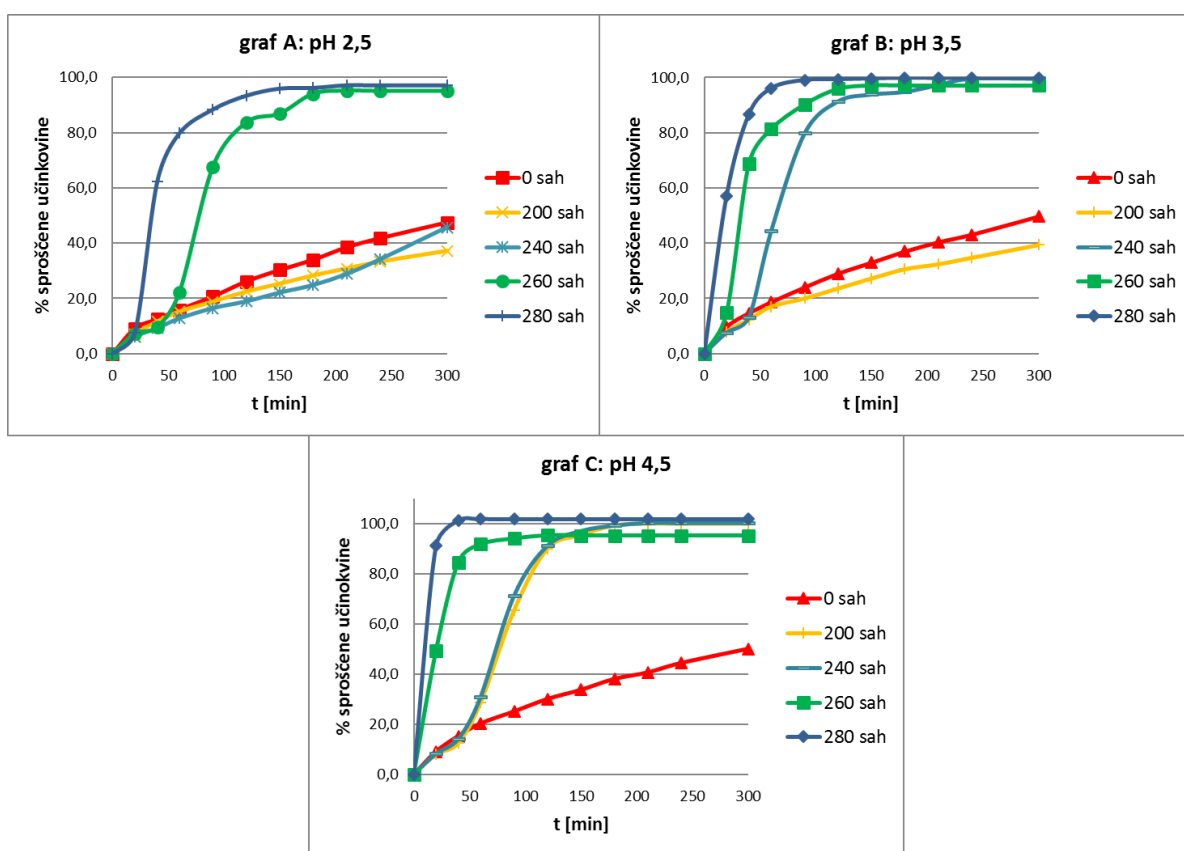
Pri sproščanju v mediju s pH 2,5 (slika 11, graf A) smo ob dodatku 200 g/l in 240 g/l saharoze opazili počasno sproščanje, ki je relativno podobno sproščanju v mediju brez dodane saharoze. V primeru dodanih 260 g/l saharoze v medij s pH 2,5 smo opazili počasno sproščanje do 40 min poskusa, v primeru dodanih 280 g/l saharoze pa do 20 minute poskusa, nato pa je v obeh primerih sledilo pospešeno sproščanje učinkovine.

V citratnem puftru s pH 3,5 (slika 11, graf B) je bilo sproščanje ob dodatku 200 g/l saharoze počasno. Pri vseh ostalih koncentracijah saharoze (240, 260 in 280 g/l) pa smo v primerjavi z medijem brez dodane saharoze in medijem z dodanimi 200 g/l saharoze opazili izrazito pospešitev sproščanja učinkovine, pri kateri se je sprostil celoten odmerek še pred koncem poskusa.

V citratnem puftru s pH 4,5 (slika 11, graf C) smo opazili pospešeno sproščanje učinkovine v vseh primerih dodajanja saharoze v medij za sproščanje. Potek sproščanja v mediju z dodanimi 200 in 240 g/l saharoze je zelo podoben; v začetku poskusa opazimo počasno sproščanje paracetamola, ki mu v določeni točki (okoli 40 min poskusa) sledi pospešeno,

med tem ko je pospešeno sproščanje v medijih z dodanimi 260 in 280 g/l saharoze opazno takoj.

Iz opisanega lahko sklepamo, da se  $S_{krit}$  saharoze niža z višanjem pH vrednosti medija za sproščanje. Vzrok za to je lahko podoben kot pri vplivu naraščajoče koncentracije NaCl ob sočasnem višanju pH. Z višanjem koncentracije saharoze se viša osmolarnost medija. Z višanjem pH medija se viša delež karboksilnih skupin citronske kisline v ionizirani obliki, kar zviša ionsko moč medija. Saharozna in ioni v mediju za sproščanje odtegnejo molekule vode HPMC polimeru, ki se zato težje hidratira, na površini ogrodnega sistema pa se tvori nekoherenten gelski sloj.

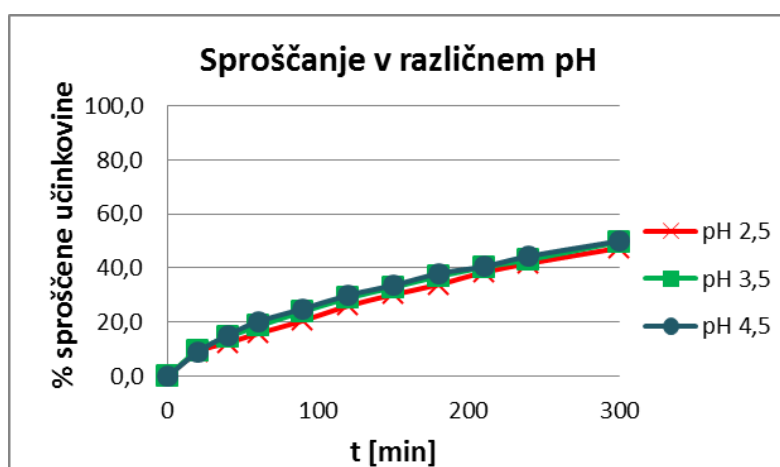


Slika 11: Profili sproščanja v medijih z naraščajočo koncentracijo saharoze (200, 240, 260 in 280 g/l). Graf A prikazuje potek sproščanja v mediju z naraščajočo koncentracijo pri pH vrednosti 2,5, graf B pri pH vrednosti 3,5 in graf C pri pH vrednosti 4,5.

## 8.4 Vpliv pH medija

Uporabili smo HPMC polimer, ki je stabilen v pH 3,0-11,0 (4) in paracetamol s pKa 9,5 (20), topnost katerega v fizioloških pogojih, kjer pH variira 1-8, in s tem tudi v pogojih našega raziskovalnega dela (pH 2,5-4,5), ni odvisna od pH.

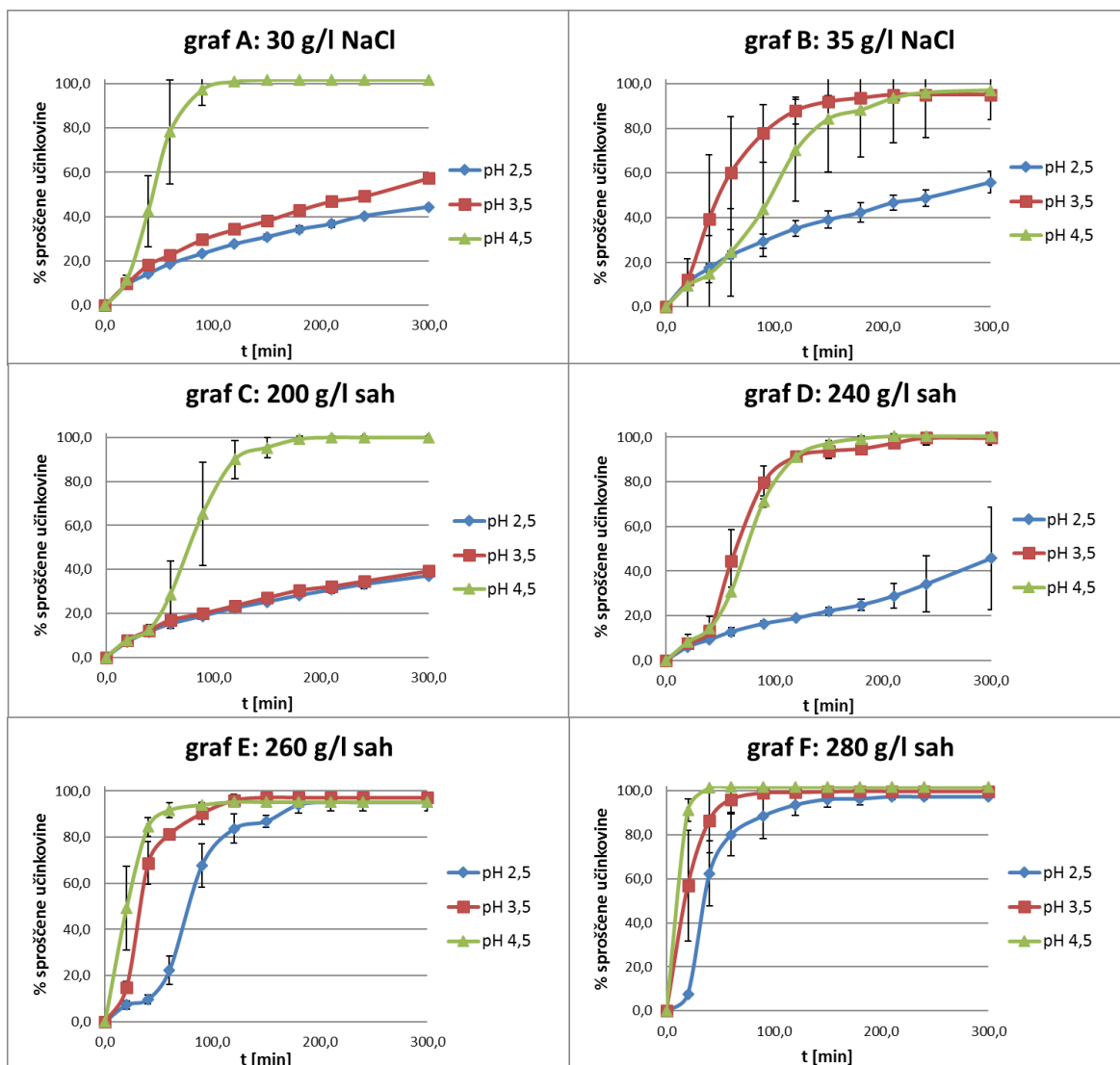
Profili sproščanja paracetamola v medijih s 50 mM citratnim pufrom pri treh pH vrednostih (2,5; 3,5 in 4,5) so si zelo podobni, vpliva pH medija praktično ne opazimo. V vseh treh primerih se je do konca poskusa sprostilo približno 50 % odmerka (slika 12).



Slika 12: Profili sproščanja v medijih s 50 mM citratnim pufrom pri treh različnih pH vrednosti, in sicer pri pH 2,5; 3,5 in 4,5.

### 8.4.1 Vpliv pH medija v prisotnosti topljencev

Vpliv pH medija je bil ob dodatku topljencev v medij za sproščanje povsem drugačen kot v mediju brez. Ob dodatku 30 g/l natrijevega klorida v medij s citratnim pufrom smo v mediju s pH 2,5 in 3,5 opazili počasno sproščanje, pri vrednosti pH 4,5 pa pospešeno sproščanje paracetamola (slika 13, graf A). Podobno smo opazili tudi ob dodatku 35 g/l natrijevega klorida v medij za sproščanje; v mediju s pH 2,5 je bilo sproščanje počasno, pri ostalih dveh vrednostih pH (3,5 in 4,5) pa je bilo sproščanje paracetamola pospešeno (slika 13, graf B).



Slika 13: Profili sproščanja v medijih z različnimi pH vrednostmi ob dodatku topljencev; graf A prikazuje potek sproščanja ob dodatku 30 g/l NaCl, graf B pa ob dodatku 35 g/l NaCl v medij za sproščanje pri pH vrednostih 2,5; 3,5 in 4,5. Na grafih C, D, E in F so prikazani profili sproščanja v medijih z naraščajočo koncentracijo saharoze (200, 240, 260 in 280 g/L) pri različnih pH vrednostih.

Ob dodatku 200 g/l saharoze v medij za sproščanje (slika 13, graf C), smo pri vrednostih pH 2,5 in 3,5 opazili počasno sproščanje, v mediju s pH 4,5 pa pospešeno sproščanje učinkovine. Ob dodatku 240 g/l je bilo sproščanje paracetamola v mediju s pH 2,5 počasno, medtem ko je v medijih z višjima pH vrednostma bilo sproščanje pospešeno. Pri povišanju koncentracije

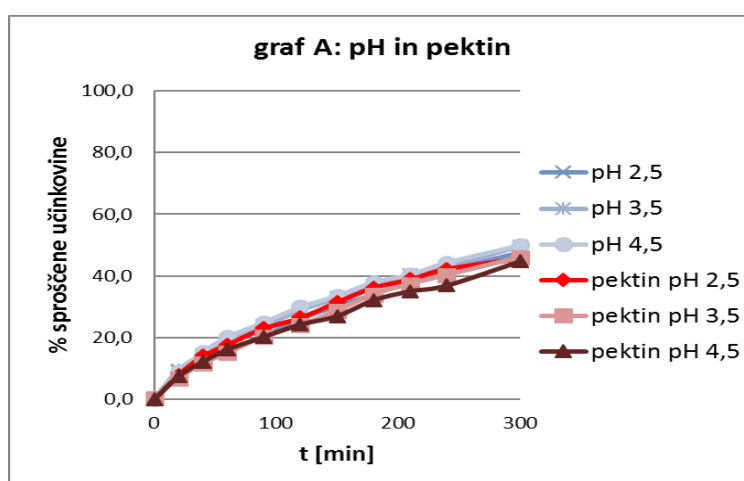
dodane saharoze v medij na 260 in 280 g/l (slika 10, graf E in F) je bilo sproščanje učinkovine pospešeno pri vseh treh vrednostih pH medija.

Iz opisanega torej lahko sklepamo, da višanje vrednosti pH medija za sproščanje ob sočasnem višanju koncentracije soli ali saharoze povzroči pospešeno sproščanje paracetamola iz hidrofilnih ogrodnih tablet. Razlaga za ta pojav je podana v poglavjih 7.2 in 7.3; z višanjem pH in dodajanjem soli v medij za sproščanje se viša tudi ionska moč, z dodajanjem saharoze pa osmolarnost medija. Več kot je topljencev v mediju, ki odtegnejo molekule vode HPMC polimeru, težje se bo hidratiral, kar se kaže v nastavku mehansko manj odporne gelske plasti na površini ogrodnega sistema in s tem pojavom pospešenega sproščanja paracetamola.

## 8.5 Vpliv pektina

### 8.5.1 Vpliv pektina na sproščanje v medijih z različnim pH

Potek sproščanja v 50mM citratnem puftru s tremi različnimi pH vrednostmi, brez dodanega pektina se je le malo razlikoval (slika 12). Ob dodatku konstantne koncentracije pektina v medij za sproščanje s citratnim pufrom nismo opazili večjih razlik v pridobljenih profilih sproščanja v primerjavi z medijem enake sestave, brez dodanega pektina. V mediju z vrednostjo pH 4,5 in dodanim pektinom smo opazili rahlo počasnejše sproščanje paracetamola v primerjavi s sproščanjem v mediju enake sestave, brez dodanega pektina (slika 14).

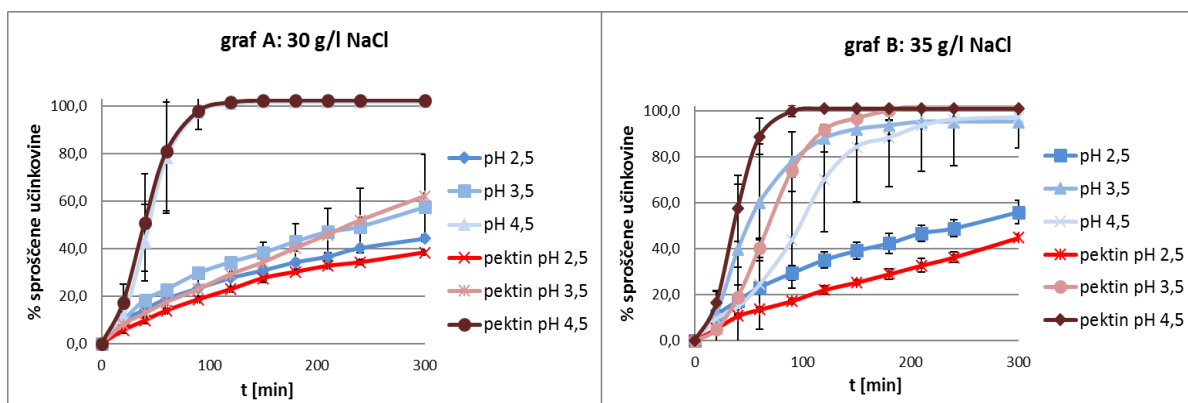


Slika 14: Povprečja treh paralel profilov sproščanja v 50 mM citratnem puftru brez in z dodanim pektinom (10 g/l), pri treh pH vrednostih: 2,5; 3,5 in 4,5.



### 8.5.2 Vpliv pektina na sproščanje paracetamola v medijih z naraščajočo koncentracijo NaCl in različnimi pH vrednostmi

Vpliv dodatka pektina smo opazovali tudi v medijih z naraščajočo ionsko močjo. V mediju z dodanimi 30 g/l NaCl (slika 15, graf A) smo pri pH 2,5 in 3,5 opazili počasno sproščanje. V mediju z vrednostjo pH 4,5 razlik med potekom sproščanja v mediju z dodanim pektinom in v mediju brez pektina praktično nismo opazili. V obeh primerih je sproščanje pospešeno, še pred koncem poskusa pa se iz ogrodnega sistema sprosti celoten odmerek paracetamola. V mediju z dodanimi 35 g/l NaCl (slika 15, graf B) je bilo sproščanje učinkovine pri vrednosti pH 2,5 v obeh primerih počasno, v mediju z dodanim pektinom pa še rahlo počasnejše v primerjavi z medijem brez dodanega pektina. Pri vrednosti pH 3,5 in 4,5 je bilo sproščanje pospešeno tako v medijih brez, kot v medijih z dodanim pektinom. V omenjenih medijih so razlike v profilih sproščanja paracetamola z in brez dodanega pektina opazne, a zaradi prevelike variabilnosti rezultatov o dejanskem vplivu pektina ne moremo sklepati.

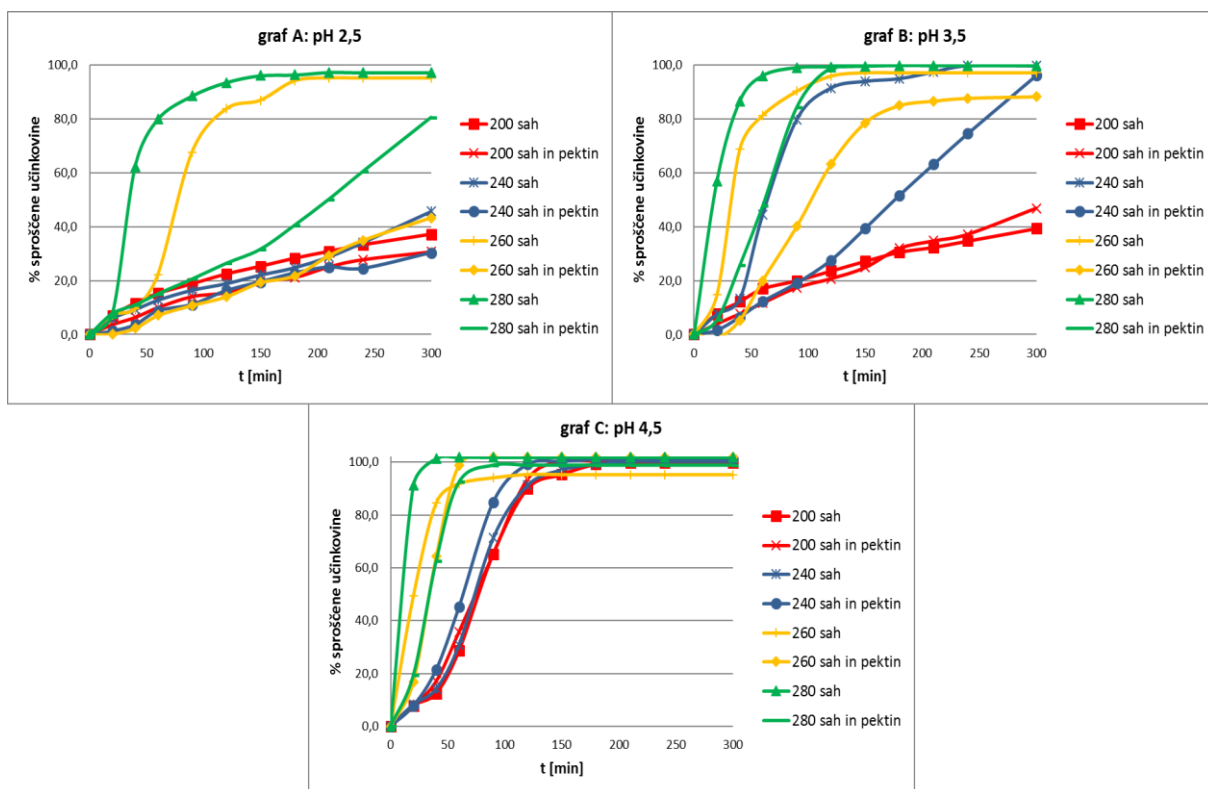


Slika 15: Profili sproščanja paracetamola iz ogrodnih hidrofилnih tablet v mediju z NaCl, brez ali z dodanim pektinom (10 g/l), pri treh pH vrednostih (2,5; 3,5 in 4,5). Graf A prikazuje sproščanje paracetamola pri koncentraciji NaCl 30 g/l, graf B pa pri 35 g/l.

### 8.5.3 Vpliv pektina na sproščanje paracetamola v medijih z naraščajočo koncentracijo saharoze in različnimi pH vrednostmi

Opazovali smo tudi, kako vpliva dodatek konstantne količine (10 g/l) pektina v medij za sproščanje v medijih z naraščajočo koncentracijo saharoze (200-280 g/l) in s tremi pH vrednostmi (2,5; 3,5 in 4,5).

V mediju z 200 g/l dodane saharoze (slika 16, graf A in B) je bilo sproščanje počasno v medijih s pH 2,5 in 3,5 v obeh primerih, z in brez dodanega pektina v medij za sproščanje. V mediju s pH 2,5 je bilo sproščanje ob dodatku pektina rahlo počasnejše v primerjavi z enakim medijem brez dodanega pektina. V mediju z vrednostjo pH 4,5 (slika 16, graf C) je bilo sproščanje v obeh primerih pospešeno, še pred koncem poskusa se je sprostil celoten odmerek paracetamola.



Slika 16: Profili sproščanja paracetamola iz ogrodnih hidrofилnih tablet pri treh pH vrednostih (2,5; 3,5 in 4,5) in naraščajoči koncentraciji saharoze (200, 240, 260 in 280 g/l), brez ali z dodanim pektinom (10 g/l) v medij za sproščanje. Graf A prikazuje profile sproščanja v medijih z vrednostjo pH 2,5, graf B s pH 3,5, graf C pa s pH 4,5.

V mediju z 240 g/l saharoze in pH 2,5 (slika 16, graf A) je bilo sproščanje paracetamola iz ogrodnega sistema v obeh medijih, z in brez dodanega pektina, počasno. Pri pH 3,5 (slika 16, graf B) je bilo sproščanje v mediju z dodanim pektinom počasnejše kot v mediju brez, a še vedno pospešeno. V mediju s pH 4,5 je bilo sproščanje pospešeno v obeh primerih uporabljenega medija za sproščanje. Celoten odmerek paracetamola se je v obeh primerih sprostil še pred koncem poskusa (slika 16, graf C).

V mediju z 260 g/l saharoze smo v vseh medijih opazili pospešeno sproščanje. Bolj opazno razliko v pridobljenih profilih sproščanja smo opazili v medijih z vrednostjo pH 2,5 in 3,5, kjer je bilo sproščanje v mediju z dodanim pektinom počasnejše v primerjavi z enakim medijem brez dodanega pektina.

Pri koncentraciji 280 g/l saharoze je bilo sproščanje učinkovine pospešeno v vseh primerih testiranih medijev. V mediju s pektinom pri pH 2,5 in 3,5 je bilo sproščanje v primerjavi z enakim medijem brez dodanega pektina počasnejše. (slika 16, graf A in B).

Vpliv pektina na upočasnitev sproščanja je bil torej najbolj opazen pri 260 in 280 g/l dodane saharoze v medijih z vrednostjo pH 2,5 in pri 240, 260 in 280 g/l dodane saharoze v medijih z vrednostjo pH 3,5. Razlog temu je lahko ta, da je pektin, ki je polisaharid glukuronske kisline, v mediju z nižjim pH v manj ionizirani obliki. Negativnega naboja na posameznih verigah pektina je manj, manj pa je tudi odbijajočih sil po njihovi dolžini, zato lahko asociirajo v gel (16). Takšen gel pa bi lahko izkazoval protektivno delovanje na gelski sloj HPMC polimera, ki se tvori na površini hidrofilnega ogrodnega sistema.

Ugotovili smo tudi, da je vpliv pektina na upočasnitev sproščanja paracetamola iz hidrofilnih ogrodnih tablet z višjim pH in višjo koncentracijo saharoze manjši, opazen je v primeru medija s pH vrednostjo 4,5 z 280 g/l saharoze. Z višanjem pH vrednosti medija za sproščanje smo se približali pKa vrednosti pektina (med 3 in 4, (16)), zato je bila ionizacija pektina večja, s tem pa tudi odbojne sile med polisaharidnimi verigami, asociacij v gel pa je bilo manj.

## 8.6 Možnosti nadaljnjih poskusov

V raziskovalnem delu smo preučevali vplive pektina v medijih z naraščajočo koncentracijo saharoze ali natrijevega klorida pri treh pH vrednostih. Uporabili smo konstantno koncentracijo pektina, opazovali pa bi lahko še vplive višjih koncentracij oz. poskusili ugotoviti katera je najnižja koncentracija, ki še ima vpliv na potek sproščanja učinkovine iz hidrofilnega ogrodnega sistema. Možnost nadaljnjih poskusov se nudi tudi v pripravi medijev kombinirane sestave, torej takih ki bi vsebovali vse tri zvrsti; sol, sladkor in pektin. Ker je v živilih več različnih tipov sladkorjev (fruktoza, laktoza, glukoza,...) in soli (različno valentne), bi lahko ugotavljali vpliv pektina v medijih s temi zvrstmi posamično ali v kombinacijah.

Pri našem delu smo uporabili ogrodne tablete konstantne in dokaj enostavne sestave. V testiranih medijih bi lahko preučevali še potek sproščanja paracetamola iz ogrodnih tablet, ki bi vsebovale HPMC polimere različne substitucije. V tabletno sestavo bi lahko dodali pogostejše uporabljene pomožne snovi in opazovali njihov vpliv na potek sproščanja.

Teste sproščanja smo izvajali v konvencionalni aparaturi z vesli, pri hitrosti mešanja 100 rpm. Vplive na potek sproščanja bi lahko opazovali pri drugačnih mehanskih obremenitvah, z nižjimi obrati mešanja. Poleg tega bi z uporabo katere izmed nekonvencionalnih metod (npr. pretočni sistem s steklenimi kroglicami, umetni želodec ali črevo) boljše ponazorili mehanske obremenitve, ki jim je FO izpostavljena v prebavnem sistemu.

## 9. SKLEP

V našem raziskovalnem delu smo opazovali vpliv naraščajoče koncentracije saharoze ali natrijevega klorida v medijih s tremi različnimi pH vrednostmi na potek sproščanja paracetamola iz hidrofilnih ogrodnih tablet s HPMC. Poleg naštetega nas je na potek sproščanja zanimal tudi vpliv raztopljenega pektina. Na podlagi naših opažanj in zbranih rezultatov lahko trdimo:

- Pri izvedenih testih sproščanja je bila ponovljivost med paralelnimi poskusi dobra, razen v medijih s koncentracijo saharoze in natrijevega klorida v bližini kritične za opazovani sistem in v medijih z višjo viskoznostjo, kjer je bila variabilnost večja, ponovljivost pa slabša.
- Pospešitev sproščanja zaradi naraščajoče koncentracije NaCl je bila najbolj opazna pri dodanih 35 g/l NaCl v medij s pH 3,5 ter ob dodatku 30 in 35 g/l NaCl v medij s pH 4,5.
- Večjega vpliva nižjih koncentracij saharoze v mediju za sproščanje pri nižjih pH vrednostih nismo opazili. Pri višjih koncentracijah saharoze (240, 260 in 280 g/l) je bilo sproščanje paracetamola pospešeno pri vseh treh pH vrednostih.  $S_{krit}$  saharoze se torej niža z višanjem pH vrednosti medija za sproščanje za opazovani sistem.
- Različne pH vrednosti medija za sproščanje v območju 2,5-4,5 brez dodanih topljencev (natrijevega klorida, saharoze ali pektina) nimajo bistvenega vpliva na potek sproščanja paracetamola iz hidrofilnega ogrodnega sistema.
- Višanje vrednoti pH medija za sproščanje ob sočasnem višanju koncentracije soli ali saharoze pomembno vpliva na pospešitev sproščanja paracetamola iz hidrofilnih ogrodnih tablet.
- Dodatek pektina v medije z naraščajočo koncentracijo NaCl je povzročil razlike v poteku sproščanja paracetamola, predvsem pri višjih koncentracijah NaCl, vendar pa zaradi prevelike variabilnosti rezultatov ne moremo sklepati o dejanskem vplivu pektina.
- Dodatek pektina v medije z naraščajočo koncentracijo saharoze se ponekod kaže kot upočasnitev sproščanja, ki je najbolj opazna pri višjih koncentracijah saharoze (240, 260 in 280 g/l) v medijih z nižjo vrednostjo pH (2,5 in 3,5). V medijih s pH 4,5 je

vpliv pektina na potek sproščanja manj opazen, najbolj pa pri dodanih 280 g/l saharoze.

- Razlaga za opažen vpliv pektina v mediju za sproščanje z dodano saharozo pri nižjih pH vrednostih je lahko ta, da je pektin pri nižjem pH manj ioniziran, kot tak pa izkazuje večji vpliv, saj je bolj učinkovit pri zaviranju sproščanja. Pri višjem pH je pektin bolj ioniziran, učinek na zaviranje sproščanja pa je manjši.

## 10. LITERATURA

1. Formularium Slovenicum, 3. izdaja, JAZMP, Ljubljana, 2011: 106.
2. Aulton M. E., Taylor K. M. G.: Aulton's Pharmaceutics, The Design and Manufacture of Medicines, Fourth Edition, Churchill Livingstone Elsevier, London, 2013: 550-565.
3. Jaimini M., Kothary A.: Sustain release matrix type drug delivery system: A review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 2012; 2: 142-148.
4. Xiaoling L., Bhaskara R. J.: Design of controlled release drug delivery systems. McGraw Hill Chemical Engineering, Stockton, 2006: 115-123.
5. Chi L.L., Martini L.G., Ford J.L., Roberts M.: The use of hypromellose in oral drug delivery. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2005; 57: 533-546.
6. Timmin P., Pygall S.R., Melia C.D.: Hydrophilic matrix tablets for oral controlled release, Springer, New York, 2014: 17-52.
7. Mitchell K., Ford J.L., Armstrong D.J., Elliot P.N.C., Hogan J.E. and Rostron C.: The influence of substitution type on performance of methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose in gels and matrices, *International Journal of Pharmaceutics* 1993; 100: 143-154.
8. Mongkolpiyawat J.: The effect of organic salts on HPMC, PhD thesis, The University of Nottingham, 2012: 2-37.
9. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, Fourth Edition, John Wiley & Sons, New Jersey, 2011: 726.
10. Phadtare D., Phadtare G., Nilesh B, Asawat M.: Hypromellose – a choice of polymer in extended release tablet formulation. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2014; 3: 551-556.
11. Joshi S.C.: Sol-gel behaviour of HPMC in ionic media including drug release. *Materials*, 2011; 4: 1861-1905.
12. Ghorri M.U., Conway B.R.: Hydrophilic matrices for oral control drug delivery. *American Journal of Pharmacological Sciences*, 2015; 3: 103-109.
13. Williams H.D., Ward R., Hardy I.J., Melia C.D.: The extended release properties of HPMC matrices in the presence of dietary sugars. *Journal of Controlled Release*, 2009; 138: 251-259.

14. Williams H.D., Ward R., Hardy I.J., Melia C.D.: The effect of sucrose and salts in combination on the drug release behaviour of an HPM matrix. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2010; 76: 433-436.
15. Williams H.D., Ward R., Culy A., Hardy I.J., Melia C.D.: Designing HPMC matrices with improved resistance to dissolved sugar. *International Journal of Pharmaceutics*, 2010; 401: 51-59.
16. Sriamornsak P: Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A review. *Silpakorn University International Journal* 2003; 3: 206-228.
17. Srivastava P, Malviya R: Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry – An overview. *Indian Journal of Natural Products and Resources* 2011; 2: 10-18.
18. Sriamornsak P, Thirawong N, Weerapol Y, Nunthanid J, Sungthongjeen S: Swelling and erosion of pectin matrix tablets and their impact on drug release behavior. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2007; 6: 211-219.
19. Maunarin F., Tanzi M.C., Petrini P.: Advances in biomedical application of pectin gel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2012; 51: 681-689.
20. Kalantzi L., Reppas C., Dressman J.B., Amidon G.L., Junginger H.E., Midha K.K., Shah V.P., Stavchansky S.A., Barends D.M.: Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Acetaminophen (paracetamol). *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2006; 95: 4-14.
21. Obreza A., Bevc B., Baumgartner S., Sollner Dolenc M., Humar M.: Pomožne snovi v farmaciji: od njihovega poimenovanja do vloge v zdravilu, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, ZRC SAZU, Inštitut za slovenski jezik Frana Ramovša, Ljubljana, 2015.
22. *European Pharmacopoeia*. 8th Edition, Council of Europe, Strasbourg, 2013.