

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

ANITA ČRNIČ

**PROUČEVANJE SPROŠČANJA AMOKSICILINA IZ DVOPLASTNIH
PLAVAJOČIH TABLET NA OSNOVI KSANTANA**

**THE RELEASE STUDY OF AMOXICILLIN FROM BILAYER
FLOATING TABLETS BASED ON XANTHAN GUM**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2008

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo na Katedri za farmacevtsko tehnologijo pod mentorstvom doc. dr. Saše Baumgartner, mag. farm.

Zahvaljujem se mentorici, doc. dr. Saši Baumgartner, mag. farm., za številne strokovne nasvete, pomoč in spodbudo pri izvedbi diplomske naloge.

Za koristne namige in pomoč pri delu v laboratoriju se zahvaljujem tudi vsem ostalim zaposlenim na Katedri za farmacevtsko tehnologijo.

Najlepša hvala Marjeti Lipar za lektoriranje diplomske naloge.

Nenazadnje se iskreno zahvaljujem staršem, sestri in fantu za vsestransko podporo in vzpodbudo v času študija.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo izdelala samostojno pod mentorstvom doc. dr. Saše Baumgartner, mag. farm.

Ljubljana, december 2008

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Danijel Kikelj, mag. farm.

Član diplomske komisije: doc. dr. Andrej Umek, mag. farm.

VSEBINA

1	POVZETEK.....	III
2	SEZNAM OKRAJŠAV.....	V
3	UVOD.....	1
3.1	ŽELODEC.....	1
3.2	MEHANIZMI ZA PODALJŠANO ZADRŽEVANJE FARMACEVTSKIH OBLIK V ŽELODCU.....	3
3.2.1	<i>SISTEMI Z VELIKO GOSTOTO.....</i>	4
3.2.2	<i>HITRO NABREKAJOČI SISTEMI.....</i>	4
3.2.3	<i>SUPERPOROZNI HIDROGELI.....</i>	5
3.2.4	<i>SISTEMI RAZLIČNIH GEOMETRIJSKIH OBLIK.....</i>	5
3.2.5	<i>MUKOADHEZIVNI ALI BIOADHEZIVNI SISTEMI.....</i>	6
3.2.6	<i>MAGNETNI SISTEMI.....</i>	6
3.2.7	<i>PLAVAJOČI SISTEMI.....</i>	6
3.3	HELICOBACTER PYLORI (H. PYLORI).....	9
3.3.1	<i>Epidemiologija in patogeneza.....</i>	10
3.3.2	<i>Diagnoza.....</i>	11
3.3.3	<i>Zdravljenje.....</i>	12
3.4	AMOKSICILIN.....	13
3.4.1	<i>Razgradnja amoksicilina.....</i>	15
3.5	POLIMERI, UPORABLJENI PRI IZDELAVI TABLET S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM.....	16
3.5.1	<i>KSANTAN (ang. xanthan gum).....</i>	16
3.5.2	<i>SEMENSKA SLUZ ROŽIČEVCA (ang. locust bean gum, carob bean gum).....</i>	19
3.5.3	<i>HIDROKSIPROPILMETILCELULOZA (HPMC).....</i>	20
3.5.4	<i>MALTODEKSTRIN.....</i>	21
4	NAMEN DELA.....	22
5	EKSPERIMENTALNO DELO.....	23
5.1	MATERIALI IN NAPRAVE.....	23
5.1.1	<i>Pomožne snovi za izdelavo tablet.....</i>	23
5.1.2	<i>Reagenti za pripravo medijev za sproščanje in mobilne faze za HPLC analitiko amoksicilina.....</i>	23
5.1.3	<i>Naprave.....</i>	24
5.2	PRIPRAVA VZORCEV.....	24
5.2.1	<i>Izdelava tablet.....</i>	24
5.2.2	<i>Priprava medijev za sproščanje.....</i>	27
5.3	METODE.....	29
5.3.1	<i>DOLOČANJE FARMACEVTSKO – TEHNOLOŠKIH PARAMETROV TABLET.....</i>	29
5.3.2	<i>IZDELAVA UMERITVENIH PREMICE.....</i>	30
5.3.3	<i>POSKUSI SPROŠČANJA IN DOLOČANJE HITROSTI SPLAVANJA TABLET NA NAPRAVI 2 PO USP.....</i>	31
5.3.4	<i>HPLC ANALIZA SPROŠČENE UČINKOVINE.....</i>	33
5.3.5	<i>ANALIZA RAZPADNIH PRODUKTOV.....</i>	35

6	REZULTATI	36
6.1	FARMACEVTSKO-TEHNOLOŠKO VREDNOTENJE OGRODNIH TABLET	36
6.1.1	<i>Enakomernost mase.....</i>	36
6.1.2	<i>Enakomernost vsebnosti enoodmernih farmacevtskih oblik.....</i>	37
6.1.3	<i>Trdnost tablet.....</i>	37
6.2	DOLOČITEV ENAČB UMERITVENIH PREMICE.....	38
6.3	PRELIMINARNI TESTI SPROŠČANJA AMOKSICILINA IN PLAVANJA TABLET.....	39
6.3.1	<i>REZULTATI RAZTAPLJANJA AMOKSICILINA OB PRISOTNOSTI ZMESI PRAHOV RAZLIČNIH SERIJ TABLET.....</i>	41
6.3.2	<i>REZULTATI RAZTAPLJANJA SAME UČINKOVINE TER UČINKOVINE V PRISOTNOSTI POMOŽNIH SNOVI.....</i>	42
6.4	REZULTATI PLAVANJA IN SPROŠČANJA AMOKSICILINA IZ IZBRANIH SERIJ TABLET	44
7	RAZPRAVA.....	47
7.1	PRELIMINARNI TESTI.....	48
7.1.1	<i>SPROŠČANJE AMOKSICILINA IZ TABLET SERIJ 34 IN 35.....</i>	48
7.1.2	<i>PLAVANJE TABLET SERIJ 34 IN 35.....</i>	51
7.1.3	<i>VPLIV POTOPITVE TABLET SERIJE 35 NA SPROŠČANJE AMOKSICILINA</i>	52
7.1.4	<i>VPLIV VGRADNJE VODOTOPNIH POMOŽNIH SNOVI V KSANTANSKO OGRODJE NA SPROŠČANJE AMOKSICILINA.....</i>	53
7.1.5	<i>DOLOČANJE OSTANKA UČINKOVINE V TABLETI PO SPROŠČANJU</i>	56
7.1.6	<i>VPLIV POMOŽNIH SNOVI NA RAZTAPLJANJE AMOKSICILINA IN NJEGOVO STABILNOST.....</i>	57
7.1.7	<i>STABILNOST AMOKSICILINA V RAZLIČNIH MEDIJAH</i>	61
7.2	PROUČEVANJE SPROŠČANJA AMOKSICILINA IN PLAVANJE IZBRANIH SERIJ TABLET	63
7.2.1	<i>VPLIV HITROSTI VRTENJA MEŠAL (rpm) NA SPROŠČANJE AMOKSICILINA IZ TABLET SERIJ 7, 8, 9.....</i>	64
7.2.2	<i>VPLIV MEDIJA NA PLOVNE LASTNOSTI TABLET.....</i>	65
7.2.3	<i>VPLIV SPREMEMBE pH IN IONSKE MOČI NA SPROŠČANJE AMOKSICILINA</i>	68
7.2.4	<i>ANALIZA RAZPADNIH PRODUKTOV AMOKSICILINA.....</i>	73
7.2.5	<i>OBLIKA IN VELIKOST TABLET PO KONČANEM 24-URNEM SPROŠČANJU</i>	75
8	SKLEP.....	77
9	LITERATURA	79

1 POVZETEK

Okužba z bakterijo *Helicobacter pylori* je najpogostejša okužba pri ljudeh, saj je z njo okužena več kot polovica človeštva. Gre za okužbo želodca, kjer je za uspešno zdravljenje potrebna kombinacija velikega števila zdravil. V diplomskem delu smo načrtovali tako farmacevtsko obliko s podaljšanim sproščanjem amoksicilina, ki bi bila primerna za zdravljenje okužb z bakterijo *Helicobacter pylori*.

Izdelali in optimirali smo dvoplastne plavajoče tablete na osnovi ksantana z vgrajeno učinkovino amoksicilin trihidrat. Z dvoplastnimi tabletami dosežemo, da se del amoksicilina hitro sprosti, kar se kaže v takojšnjem dvigu koncentracije učinkovine v mediju, medtem ko se preostanek amoksicilina enakomerno sprošča skozi daljši čas. S plavanjem pa zagotovimo, da tableta ostane v želodcu dalj časa, kar podaljša čas zadrževanja amoksicilina na mestu delovanja.

Poskuse sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih plavajočih tablet na osnovi ksantana in hitrost splavanja tablet smo izvajali na napravi 2 po USP v različnih medijih. Delež sproščenega amoksicilina smo analizirali na HPLC sistemu.

Tekom eksperimentalnega dela smo ugotovili, da amoksicilin v medijih za sproščanje, zlasti pri nizkem pH, razpada, zato smo proučevali vpliv pomožnih snovi na hitrost raztapljanja amoksicilina ter na stabilnost oziroma razpad amoksicilina. Ugotovili smo, da prisotnost pomožnih snovi ni pospešila ali povečala razpada amoksicilina, prav tako ni vplivala na hitrost raztapljanja amoksicilina.

Z zmanjšanjem deleža ksantana v dvoplastnih plavajočih tabletah in vgradnjo različnih vodotopnih substanc smo spremenili profile sproščanja amoksicilina in dosegli bistveno hitrejše splavanje tablet. Kot uspešna se je izkazala vgradnja semenske sluzi rožičevca, hidroksipropilmetilceluloze in maltodekstrina, saj smo tako dosegli večjo hitrost sproščanja amoksicilina. Za vse tri serije tablet velja, da je hitrost sproščanja amoksicilina večja tako pri pH 3,0 kot pri pH 4,5 pri nižji ionski moči. Pri višji ionski moči se sproščanje amoksicilina upočasni, vendar tablete hitreje splavajo na površje medija. V medijih s pH vrednostmi 1,2 ter 6,8 amoksicilin hitro razpada. Prisotnost pomožnih snovi ni pospešila ali povečala razpada amoksicilina.

Za nadaljnje preskuse plavanja in sproščanja amoksicilina so se kot najbolj optimalne izkazale dvoplastne plavajoče tablete z maltodekstrinom in semensko sluzjo

rožičevca, vendar je potrebno njihovo sestavo še optimizirati. Za te tablete je značilno, da plavajo vsaj 24 ur in pri tem ohranijo čvrsto in nabreklo obliko. Plavanje ter zadostna velikost in čvrstost tablet skozi daljši čas predstavljajo eno od možnosti za podaljšan čas zadrževanja farmacevtske oblike v želodcu, torej na mestu delovanja.

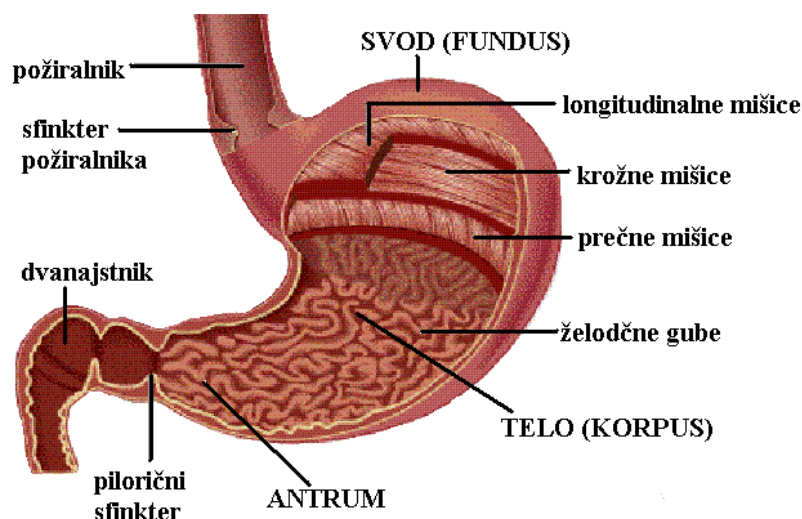
2 SEZNAM OKRAJŠAV

AMX	amoksicilin
FO	farmacevtska oblika
HBS	hydrodynamically balanced system = hidrodinamično uravnotežen sistem
HPLC	high performance liquid chromatography = tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
HPMC	hidroksipropilmetilceluloza
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
(I)MMC	(interdigestivni) migrirajoči mioelektrični kompleks
IPČ	inhibitor protonske črpalke
LBG	locust bean gum=semenska sluz rožičevca
MCC	mikrokristalna celuloza
medij 1 (M1)	fosfatni pufer s pH 3,0 in ionsko močjo $\mu=0,04M$
medij 2 (M2)	fosfatni pufer s pH 4,5 in ionsko močjo $\mu=0,05M$
medij 3 (M3)	fosfatni pufer s pH 6,8 in ionsko močjo $\mu=0,71M$
medij 4 (M4)	fosfatni pufer s pH 3,0 in ionsko močjo $\mu=0,24M$ (dodatek $CaCl_2 \times 2H_2O$)
medij 5 (M5)	fosfatni pufer s pH 4,5 in ionsko močjo $\mu=0,25M$ (dodatek $CaCl_2 \times 2H_2O$)
medij 6 (M6)	raztopina HCl s pH 1,2
Mg-stearat	magnezijev stearat
MIC ₉₀	minimalna inhibitorna koncentracija, ki uniči 90% mikroorganizmov
naprava 2 po USP	naprava za sproščanje z vesli
PPK	površina pod krivuljo
R ²	Pearsonov koeficient determinacije
RP	razpadni produkt
rpm	število vrtljajev vesla na minuto
RSD	relativna standardna deviacija
SD	standardna deviacija
t _r	retencijski čas
XAN	ksantan
μ	ionska moč

3 UVOD

3.1 ŽELODEC

Želodec je razširjeni del prebavne cevi v zgornjem delu trebušne votline med požiralnikom in dvanajstnikom (1,2,3). Anatomsko se deli na 3 glavne dele: fundus (svod), telo želodca (korpus) in antrum, ki se konča s pilorusom ali želodčnim vratarjem (slika 1) (3,4). Proksimalni del želodca (fundus in telo) predstavlja rezervoar za neprebavljeno hrano. Distalni del (antrum) je predel, kjer prihaja do mešanja želodčne vsebine in deluje kot črpalka, ki opravlja želodčno praznjenje (4).

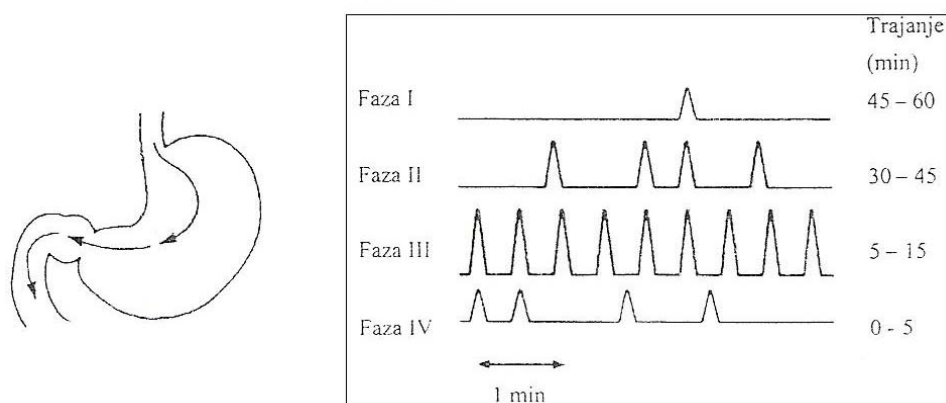


Slika 1: Shematski prikaz glavnih delov želodca (3).

V želodčni sluznici so žleze, ki v lumen želodca izločajo vodno, izotonično raztopino, ki vsebuje H^+ , Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^- , mukus, intrinzični faktor, pepsinogen in želodčno lipazo. V lumnu želodca se vrednosti pH približujejo 2, medtem ko je pH tik ob epitelijski membrani skoraj nevtralen (pH 7). Ta gradient vrednosti pH pomaga ščititi želodčno sluznico pred od pH odvisnim pepsinom in je vzpostavljen s sekrecijo HCO_3^- in mukusa. Mukus je približno 5 % vodna raztopina glikoproteinov z molekulsko maso nad 10^6 Da in debelino od 100 do 200 μm . Mukus predstavlja gelsko plast, ki omogoča zadrževanje vode in HCO_3^- blizu epitelijskega površja, hkrati pa deluje kot mazivo, saj preprečuje trdnim delcem, da bi mehansko poškodovali želodčno sluznico (5).

Gladke mišice želodca so organizirane v tri plasti (slika 1). Na zunanji strani je longitudinalna plast, na notranji strani pa prečna plast. Med njima se nahajajo krožne mišice, ki so za delovanje najpomembnejše, saj omogočajo krčenje želodca (1,3).

Za želodec in tanko črevo sta značilni dve vrsti gibanja: na tešče in po hranjenju (fasted, fed state). Na tešče zgornji del prebavnega trakta več kot polovico časa miruje. V ciklikih se pojavljajo izbruhi intenzivno razširjajoče se motorične aktivnosti, ki se začne v želodcu in se širi proti ileocekalni zaklopki. Ta intenzivna motorična aktivnost omogoči premik neprebavljene vsebine iz zgornjega dela prebavnega trakta (6). Način krčenja želodca in tankega črevesja na tešče se imenuje (interdigestivni) migrirajoči mioelektrični kompleks – (I)MMC. Motorična aktivnost (I)MMC se pojavlja ciklično, vsak cikel traja od 90 do 120 minut. Cikel (I)MMC je razdeljen v tri oziroma štiri faze (slika 2) (6,7).



Slika 2: Potek in trajanje posameznih faz ciklov (I)MMC v zgornjem delu prebavnega trakta (6).

Faza I je obdobje počivanja, ki traja od 45 do 60 minut. Krčenja se pojavijo redko. Faza II traja od 30 do 45 minut. Zanje so značilni občasni pojavi električne aktivnosti v steni prebavnega trakta, ki povzročijo krčenja, ta so običajno vse močnejša in pogostejša proti koncu druge faze. Faza III traja le 5 do 15 minut. Zanje so značilna močna in pogosta krčenja s frekvenco 3 krčenja na minuto. Ob koncu faze III, ko krčenja dosežejo spodnji del želodca (distalni antrum), ostaja pilorični sfinkter odprt in močna krčenja potisnejo vse neprebavljene snovi iz želodca v tanko črevo in naprej. Premer piloričnega sfinktra je pri večini ljudi med 0,9 do 1,9 cm. Včasih to fazo imenujemo čistilna faza. Faza IV je kratka, prehodna faza, ki poteče med III. in I. fazo dveh zaporednih ciklov (I)MMC (6,7).

Po hranjenju se način gibanja prebavnega trakta na tešče prekine, saj aktivnost (I)MMC v želodcu pojenja. Začeti cikel se nadaljuje v tankem črevesu. Novi cikli (I)MMC ne nastajajo. Motorična aktivnost želodca je v tem obdobju podobna fazi II (I)MMC, le da je manj akcijskih potencialov, ki povzročajo krčenja. Njihova frekvenca je 1 do 2 na minuto. Nastala krčenja omogočajo pripravo hrane na absorpcijo. Pojavi se gibanje, ki olajša mešanje in potovanje želodčne (in črevesne) kaše skozi prebavni trakt (6).

3.2 MEHANIZMI ZA PODALJŠANO ZADRŽEVANJE FARMACEVTSKIH OBLIK V ŽELODCU

Čas potovanja FO skozi prebavni trakt je lahko zelo različen in nepredvidljiv. Zaželeno je, da ga podaljšamo v zgornjem delu in tako omogočimo maksimalno absorpcijo učinkovine ter s tem povečamo njeno biološko uporabnost. Najzanesljivejši način podaljšanja razpoložljivega časa za absorpcijo učinkovine je zadrževanje FO v želodcu oziroma upočasnitev njegovega praznjenja, kajti transport tekočin in trdnih delcev skozi tanko črevo je relativno konstanten (3,5 do 5 ur) (6). Le s podaljšanjem časa zadrževanja FO v želodcu lahko podaljšamo tudi celokupen čas prehoda skozi prebavni trakt (6,7). Prednost FO s podaljšanim sproščanjem je tudi v tem, da zmanjšamo pogostost aplikacije, kar poveča sprejemljivost pri bolnikih (komplianco) (7).

Faktorji, ki vplivajo na praznjenje želodca ter s tem na čas zadrževanja FO v želodcu, so: (a) biološki faktorji, kot so spol, starost, položaj telesa, spanje, indeks telesne mase, fizična aktivnost in določene bolezni (diabetes, kronova bolezen), (b) sočasna aplikacija učinkovin, ki delujejo kot antiholinergiki (atropin), ter opiat, (c) gostota, velikost in oblika FO, (d) hkratno zaužitje hrane, njena kalorična vrednost in pogostost hranjenja (7). Kadar želimo, da FO ostane dlje časa v želodcu, je dobro, da jo zaužijemo po obroku in vedno z dovolj tekočine (200 do 250 mL) (6).

Podaljšan čas zadrževanja FO v želodcu je še posebej pomemben za učinkovine, ki: (a) lokalno delujejo v želodcu (misoprostol, antacidi, antibiotiki, ki se uporabljajo za zdravljenje okužb s *H. pylori*), (b) imajo absorpcijsko okno v želodcu ali zgornjem delu tankega črevesa (L-DOPA, p-aminobenzojska kislina, furosemid, riboflavin), (c) so nestabilne v črevesni tekočini (kaptopril), (d) imajo slabo topnost pri višjih pH vrednostih (diazepam, klordiazepoksid, verapamil) (7,8,9,10).

Za doseg podaljšanega časa zadrževanja FO v želodcu so znane različne FO, ki vključujejo različne tehnološke pristope. Gre za FO s prirejenim sproščanjem, kjer je sproščanje zdravilne učinkovine podaljšano ali pulzirajoče (6). Med sisteme, ki omogočajo podaljšan čas zadrževanja FO v želodcu, spadajo: sistemi z veliko gostoto, hitro nabrekajoči sistemi, superporozni hidrogeli, sistemi s tvorbo različnih geometrijskih oblik, mukoadhezivni ali bioadhezivni sistemi, magnetni sistemi ter plavajoči sistemi (4,5,6,7,8,11,12,13,14,15). Med njimi ločimo enoenotne (tablete, kapsule) in večnotne sisteme (pelete, mikrosfere, mikrobalozi, mikrokapsule). Slabost enoenotnih sistemov je prehitra izguba učinka zaradi morebitne izgube celotnega odmerka iz želodca. Pri večnotnih sistemih se izognemo učinku »vse ali nič«, poleg tega se ti enakomerno razporedijo v notranjosti želodca (4,5,7,9,11,16). Nekateri avtorji trdijo, da se iz želodca praznijo počasneje, kar vodi v dolgotrajnejše učinke, zmanjšanje medindividualne variabilnosti v absorpciji (7) ter manjše nihanje koncentracij učinkovin v plazmi (11).

3.2.1 SISTEMI Z VELIKO GOSTOTO

Želodčna vsebina ima podobno gostoto kot voda, in sicer približno $1,004 \text{ g/cm}^3$. Izdelali so pelete z visoko gostoto, ki po prihodu v želodec potonejo na dno antruma, kjer se ujamejo v želodčne gube. Na tak način se zoperstavijo peristaltičnim valovom želodčne stene. Raziskave so pokazale, da mora biti gostota takih sistemov za bistveno podaljšanje časa zadrževanja v želodcu okoli $2,5 \text{ g/cm}^3$. Za doseganje povišane gostote v FO vgrajujejo težke, nereaktivne snovi, kot so barijev sulfat, cinkov oksid, železov prah in titanov dioksid. Čeprav so dosegli spodbudne rezultate pri prežvekovalcih, sistemov z veliko gostoto še niso preizkusili na človeku (5).

3.2.2 HITRO NABREKAJOČI SISTEMI

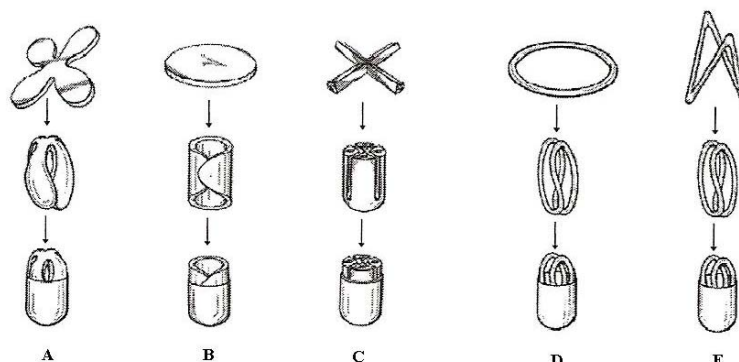
Takšne FO (v obliki tablet ali kapsul) v stiku z želodčno tekočino nabrekajo in se toliko povečajo, da ne morejo skozi pilorus (6), katerega premer v odprtem stanju znaša 12 ± 7 milimetrov (4,5). Če želimo, da takšna FO ne zapusti želodca s III. fazo cikla (I)MMC, mora nabrekniti do svoje največje velikosti že v prvih 20 minutah po zaužitju (6).

3.2.3 SUPERPOROZNI HIDROGELI

Običajni hidrogeli imajo velikost por med 10 nm in 10 μm . Absorpcija vode je počasna in lahko traja celo več ur, da dosežejo končno velikost. Poleg tega lahko pride do predčasne izpraznitve FO iz želodca. Velikost por v superporoznih hidrogelih je večja kot 100 μm (5). Številne pore so med seboj povezane in tvorijo kapilarne kanale. Superporozni hidrogeli ob prisotnosti vode zelo hitro nabrekajo, saj dosežejo končno velikost v manj kot minuti. V tem času se njihova velikost poveča več kot 100-krat. Izkazujejo zadostno mehansko trdnost, da se lahko zoperstavijo želodčnim kontrakcijam. *In vivo* raziskave na psih so pokazale, da superporozni hidrogeli ostanejo v želodcu 2-3 ure na tešče, po hranjenju pa celo več kot 24 ur (5,17).

3.2.4 SISTEMI RAZLIČNIH GEOMETRIJSKIH OBLIK

Pripravili so več sistemov različnih geometrijskih oblik: list deteljice, okroglo ploščico, križ, togi obroček, tetraeder, črko Y, paličico, pelete ter jih napolnili v želatinske kapsule (slika 3) (5,6).



Slika 3: Različne geometrijske oblike sistemov za podaljšano zadrževanje v želodcu:

A) deteljica, B) okrogla ploščica, C) križ, D) obroček, E) tetraeder (5).

Sistem, ki je stisnjen v kapsuli, se v želodcu razvije na ustrezno velikost, tako se podaljša čas zadrževanja v želodcu. Taki sistemi so narejeni iz biorazgradljivih polimerov, da se po sproščanju učinkovine enostavno odstranijo iz želodca (5). V *in vivo* preizkusih na psih so ugotovili, da se v želodcu dovolj dolgo zadržijo le odprti tetraedri in togi obročki, vendar v preizkusih na ljudeh istih rezultatov niso mogli potrditi. Tako so razvili stisnjen sistem, ki se v želodcu razvije v obliko iztegnjenih rok, ki naj bi onemogočila izhod iz želodca (6). Problem teh sistemov je, da v raztegnjenem stanju niso dovolj rigidni in jih peristaltični valovi zaradi tega izplavijo iz želodca (5).

3.2.5 MUKOADHEZIVNI ALI BIOADHEZIVNI SISTEMI

Z mukoadhezivnimi ali bioadhezivnimi sistemi lahko dosežemo lokalizirano dostavo učinkovine v lumen želodca. Osnova slednjih je sposobnost adhezije polimera na glikoproteine mukusa želodčne sluznice. Testi *in vivo* so v večini primerov pokazali, da mukoadhezivni polimeri signifikantno ne upočasnijo prehoda FO skozi prebavni trakt (5,6). Razlog je najverjetneje stalno obnavljanje želodčnega mukusa. Včasih je lahko problematično tudi draženje zaradi tesnega stika s sluznico, zlasti če je učinkovina ulcerogena. Kljub temu nekateri strokovnjaki proučujejo različne bioadhezivne materiale, ki bi jih lahko uspešno uporabili zlasti za zdravljenje infekcij s *Helicobacter pylori* (6).

3.2.6 MAGNETNI SISTEMI

Magnetni sistemi temeljijo na preprostem principu: FO v svoji notranjosti vsebuje majhen magnet, na zunanji strani telesa je nameščen drugi magnet, ki drži celoten sistem v želodcu. Take FO so že preizkusili na ljudeh, kjer so dokazali njihovo učinkovitost. Obstaja pa problem z natančno postavitvijo zunanjega magneta, kar lahko ogrozi bolnikovo sodelovanje (5).

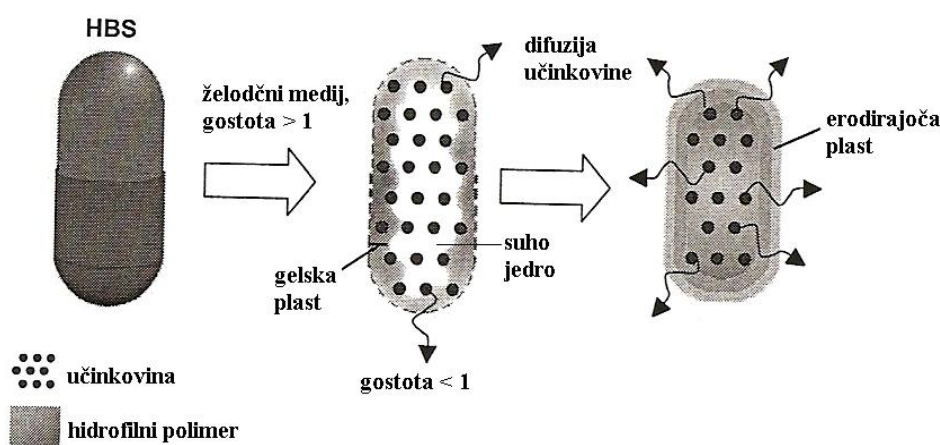
3.2.7 PLAVAJOČI SISTEMI

Plovnost teh sistemov omogoča podaljšano zadrževanje FO v želodcu, ne da bi vplivala na intrinzično praznjenje želodca (6,13,18,). To pomeni tudi večjo varnost pri uporabi takšnih oblik, v primerjavi z nekaterimi, do sedaj omenjenimi (6). Plavajoče sisteme delimo v 2 skupini: sisteme, ki ne tvorijo plina po interakciji z želodčno tekočino, ter sisteme, ki tvorijo plin po interakciji z želodčno tekočino (4).

Sistemi, ki ne tvorijo plina po interakciji z želodčno tekočino

- Hidrodinamično uravnoreženi sistemi (HBS) - plavajoče kapsule ali tablete: to so enoenotne FO, ki vsebujejo enega ali več hidrofilnih polimerov. Najpogosteje uporabljamo hidroksipropilmetilcelulozo (HPMC), poleg nje pa še hidroksietilcelulozo (HEC),

hidroksipropilcelulozo (HPC), natrijevo sol karboksimetilceluloze (NaCMC), agar, karagenane, alginsko kislino (4,5,11). Hidrofilni polimer skupaj z učinkovino vgradimo v želatinsko kapsulo, le-ta se v želodčni tekočini hitro raztopi (slika 4). V stiku z želodčno tekočino polimer nabreka, zato nastane na površini gelska pregrada z relativno gostoto manj kot 1. Na polimerne verige je adsorbiran zrak, ki se po nastanku gela ujame v rešetko v obliki mehurčkov in zniža gostoto gela (4,5,6,11). Suha notranjost teh sistemov deluje kot rezervoar za učinkovino (4,11). Erozijska erozija polimera s površine omogoča penetracijo vode v notranje plasti. Podaljšano sproščanje učinkovine je uravnano s kontrolirano difuzijo učinkovine skozi gelsko plast in erozijo polimera s površine sistema (5,6). Učinkovitost plavajočih HBS so izboljšali z izdelavo dvoplastnih tablet, kjer ena plast skrbi za plovnost, druga pa za kontrolirano sproščanje učinkovine. Na ta način lahko optimizirajo vsako plast tablete posebej (5).



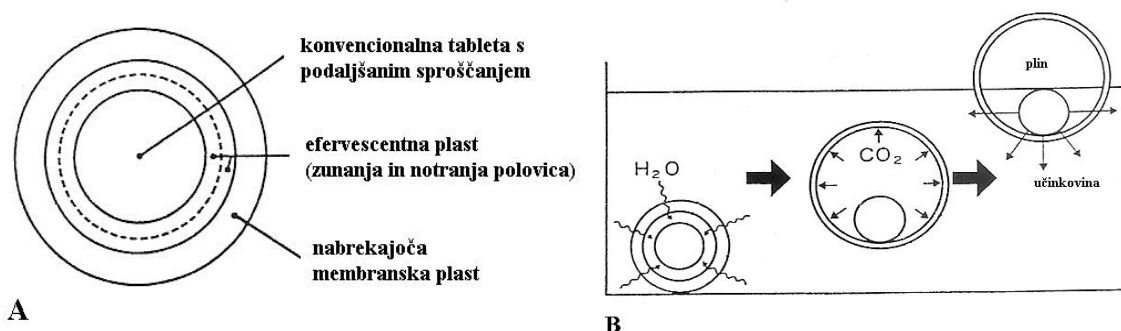
Slika 4: Primer hidrodinamično uravnoveženega sistema (HBS) (5).

- Sistemi z nizko gostoto: njihova gostota je manjša kot 1 g/cm^3 , zato lahko takoj splavajo. Narejeni so iz materialov z nizko gostoto, v notranjosti katerih sta ujeta zrak ali olje. Večinoma gre za večnotne sisteme, ki se imenujejo tudi mikrobalozi zaradi jedra z nizko gostoto. Votle mikrosfere, ki vsebujejo učinkovino v zunanji polimerni plasti, so ene najbolj obetavnih plavajočih sistemov, saj združujejo prednosti večnotnih sistemov in dobro plovnost. Učinkovitost sistemov z nizko gostoto je odvisna od prisotnosti zadostne količine tekočine v želodcu, zato je potrebno pogosto pitje vode. Slednje velja za vse plavajoče sisteme (5,11).

Sistemi, ki tvorijo plin po interakciji z želodčno tekočino

- Sistemi, ki so podobni splavu: v kapsule vgradimo natrijev alginat, ki vsebuje učinkovino in karbonate oziroma bikarbonate. V želodcu alginati nabrekajo in tvorijo viskozen, koheziven gel (5). Gelska plast plava na površini želodčne vsebine, saj se v ta gel ujamejo mehurčki CO₂, ki se sprošča ob kontaktu karbonatnih oziroma bikarbonatnih ionov s kislino želodčno tekočino (4,5). Te farmacevtske oblike običajno vsebujejo antacide, npr. aluminijev hidroksid ali kalcijev karbonat za zmanjšanje kislosti v želodcu (5) ali antibiotike za zdravljenje okužb s *Helicobacter pylori* (16). Takšni sistemi se uporabljajo tudi za zdravljenje gastroezofagalnega refluksa, saj prekrivajo celotno površino želodčne vsebine in s tem preprečujejo iztekanje želodčne vsebine nazaj v požiralnik (5).
- Sistemi, ki tvorijo plin: za tvorbo CO₂ *in situ* so odgovorne efervescentne snovi, npr. natrijev hidrogenkarbonat ali kalcijev karbonat, ki v kislinskih pogojih razpadejo, pri čemer se sprošča plin – ogljikov dioksid. Nekateri sistemi za sproščanje CO₂ izkoriščajo kislino želodčno vsebino, spet drugi pa že v sami FO vsebujejo vgrajene kisline, npr. citrsko ali vinsko kislino (4,5,11). Sproščeni mehurčki CO₂ se ujamejo v gel nabreklih hidrokoloidev, zato se zmanjša gostota dostavnega sistema pod 1 g/cm³ (4,18). Obstajajo tudi sistemi, v katere je vgrajena hlapljiva tekočina (eter, ciklopentan), ki se pri telesni temperaturi spremeni v plin (4,5,11).

Strokovnjaki so razvili različne plavajoče dostavne sisteme. Če je efervescentna snov dodana v ogrodje tablete, ki ga tvori hidrofilni polimer, dobimo enoplastno plavajočo tableto. Pri dvoplastnih plavajočih tabletah je ena plast odgovorna za plavanje (efervescentna plast), druga pa za podaljšano sproščanje učinkovine (nabrekajoči hidrofilni polimer) (4,11,18). Pri teh sistemih je lahko ločena tudi efervescentna plast (slika 5). Na ta način preprečimo direkten kontakt med bikarbonatnimi oz. karbonatnimi ioni in kislino komponento (citrsko oziroma vinska kislina). S tem dosežemo večjo stabilnost takih sistemov. Ko pride tak sistem v kontakt s tekočino, voda penetrira v efervescentno plast skozi nabrekajočo membransko plast. Pri reakciji med dvema efervescentnima snovema se tvori CO₂, gostota dostavnega sistema se zmanjša pod 1 g/cm³ in sistem splava (4).

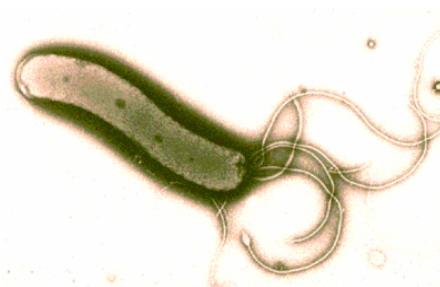


Slika 5: A) Sestava večplastne v želodcu napihljive tablete. B) Mehanizem plavanja v želodčnem mediju (5,6,11).

Za zdravljenje okužb s *H. pylori* in peptičnega ulkusa so razvili plavajočo triplastno tableto. Prva plast tablete se takoj ob stiku s kislno želodčno tekočino loči (vsebuje bizmutove soli), iz druge plasti se enakomerno sproščata tetraciklin in metronidazol. Tretjo plast predstavljata polimer (HPMC) in efervescentna snov, ki je odgovorna za sproščanje CO₂ in s tem za plavanje tablete (4).

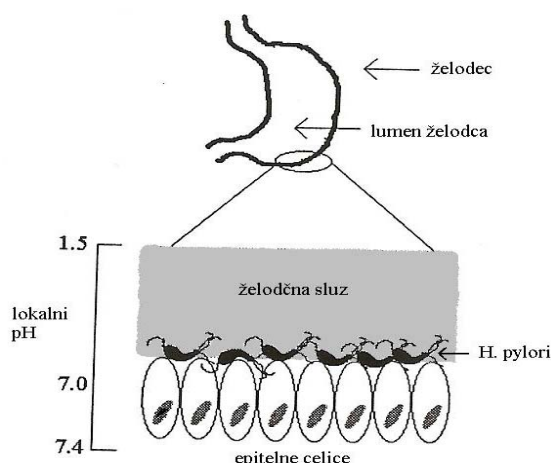
3.3 HELICOBACTER PYLORI (*H. PYLORI*)

H. pylori je Gram-negativna, mikroaerofilna, neinvazivna, spiralna bakterija, ki se lahko svedrasto giblje s pomočjo 4 do 6 bičkov. V širino meri 0,5 µm do 1,0 µm in v dolžino 2,5 µm do 4,0 µm (slika 6) (19,20,21).



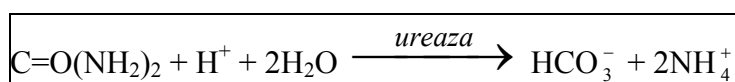
Slika 6: Posnetek bakterije *H. pylori* z elektronskim mikroskopom (22).

H. pylori kolonizira želodčno sluznico. Njena gibljivost ji omogoča umestitev v sloj med sluzjo in epitelijem. Nahaja se predvsem v globokih plasteh sluzi, tik ob površini epiteljskih celic, in ne prodira v sluznico. Želodčni mukus varuje *H. pylori* pred nizkim pH v želodcu (slika 7) (20,21,23,24).



Slika 7: Shematični prikaz lokacije *H. pylori* v želodcu (19).

Obstajajo različni sevi *H. pylori*. *H. pylori* proizvaja številne beljakovine, ki povzročajo okvaro sluznice zgornjih prebavil. Proizvaja adhezivne snovi, ki ji omogočajo pritrditev na epiteljske celice sluznice; fosfolipaze in proteaze, ki razdiralno delujejo na zaščitno sluz (23). *H. pylori* je bakterija, ki proizvaja velike količine ureaze in ta ji omogoča, da preživi v izrazito kisli sredini želodčnega soka. Ureaza je prisotna v citoplazmi bakterijske celice z namenom, da oskrbuje celico z amoniakom in dušikom, ki sta nujna gradnika aminokislin. Druga naloga ureaze je nevtralizacija želodčne kisline (21). Ureaza katalizira hidrolizo sečnine do bikarbonata in amoniaka. Nastali amoniak okvarja sluznico in zagotavlja lokalno visok pH za preživetje *H. pylori* (19,23,25) (enačba 1).



/enačba 1/

3.3.1 Epidemiologija in patogeneza

Začetna okužba s *H. pylori* se navadno zgodi že v otroštvu in sproži močan imunski odziv. Kljub temu je bakterija razvila mehanizme, s katerimi se izogne imunskemu odzivu gostitelja. Tako se *H. pylori* lahko obdrži v želodcu celotno življenje gostitelja, če vmes ne izvajamo učinkovitega zdravljenja (20,26).

Okužba s *H. pylori* je najpogostejša okužba pri ljudeh, saj je z njo okužena več kot polovica človeštva (21,27). Pri približno petini okuženih se pojavijo različne težave oziroma bolezni (21). Samo 15 % ljudi, okuženih s *H. pylori*, zbolijo za ulkusno boleznijo (20). Okužba je potreben, ne pa tudi zadosten pogoj za nastanek peptične razjede.

Pomembni so še patogenetski dejavniki, tako dedni kot iz okolja (nesteroidne protivnetne učinkovine (NSAID), kajenje, alkohol) (23). Dolga kolonizacija lahko poleg peptičnega ulkusa povzroči še številne druge bolezni, kot so dispepsija, gastritis, želodčni rak ter nastanek limforetikularnega tkiva v sluznici želodca (19,20,26,27,28,29,30). Podatki kažejo, da je kar 95 % primerov gastritisa in 65 % primerov peptičnih razjed posledica okužbe s *H. pylori* (19).

Razširjenost okužbe z bakterijo *H. pylori* je glede na razvitost držav različna. Prevalenca okužbe s *H. pylori* najbolje korelira s socialno-ekonomskim položajem. V nerazvitem svetu z nizkim standardom (ekonomskim in higienskim) se večina prebivalstva okuži že v otroštvu, medtem ko se v razvitem svetu odstotek okuženosti poveča po 50. letu starosti, prekuženost pa je večja pri revnejšem sloju. Višja prekuženost z bakterijo v razvitem svetu pri starejših prebivalcih je po vsej verjetnosti posledica slabih higienskih navad in slabših ekonomskih razmer (21). Okužbe s *H. pylori* se pojavljajo pri okoli 40 % odraslih v razvitih državah, medtem ko je prevalenca okužb v državah v razvoju več kot 80 % (20,26). Strokovnjaki predvidevajo, da se okužba širi s človeškim kontaktom (20).

3.3.2 Diagnoza

Za odkrivanje okužb s *H. pylori* so razvili vrsto invazivnih in neinvazivnih testov. Invazivni testi temeljijo na endoskopskih vzorcih iz želodca. Prisotnost bakterije dokažejo na osnovi ureaznega testa, histologije ali testa z bakterijsko kulturo. Invazivne teste izvajajo pri bolnikih z gastrointestinalnim krvavenjem, nerazložljivo izgubo teže, anemijo in pri bolnikih, starejših od 50 let, pri katerih se je na novo razvila dispepsija. Pri bolnikih, pri katerih se ne pojavijo predhodno navedeni rizični faktorji, se odločijo za neinvazivne teste, ki ne vključujejo endoskopije. Prisotnost patogena ugotavljajo z neinvazivnimi testi na vzorcih krvi, izdihanega zraka, urina ali sline. Te vzorce preiskujejo s serološkimi testiranjem, ki vključujejo detekcijo IgG protiteles proti *H. pylori* (3,20,26). Test, ki je široko dostopen in je občutljiv, specifičen in neinvaziven, je dihalni test s sečnino za detekcijo okužbe s *H. pylori*. Slednji temelji na ureazni aktivnosti *H. pylori*. Ko okužena oseba pogoltne odmerek sečnine, ki je označena z izotopom ogljika (^{13}C ali ^{14}C), *H. pylori* v želodčni mukozni cepi sečnino na amoniak in CO_2 , ki ima v tem primeru tudi izotop (^{13}C ali ^{14}C). Označen CO_2 lahko zaznamo v izdihanem zraku (20,21,26).

3.3.3 Zdravljenje

Terapija okužb s *H. pylori* s samo eno učinkovino v praksi ni učinkovita (24,26,27). Čeprav je *H. pylori* občutljiva na večino antibiotikov v *in vitro* testih, se le nekaj antibiotikov uporablja *in vivo* za zdravljenje okužb s *H. pylori* (26). Bakterija se nahaja pod želodčnim mukusom, zato le majhna količina antibiotika doseže *H. pylori*. Vzrok je v razpadu učinkovin v kislem želodčnem mediju in kratkem času zadrževanja v želodcu (26,27,28). Strokovnjaki predvidevajo, da je absorpcija antibiotika direktno skozi mukusno plast iz lumna želodca boljši način zdravljenja okužb s *H. pylori* kot pa absorpcija skozi bazolateralno membrano (27).

Uspešno zdravljenje okužb s *H. pylori* zahteva kombinacijo več učinkovin. Poleg enega ali več antibiotikov se uporabljajo še učinkovine, ki zmanjšajo izločanje želodčne kisline; uporabljajo se inhibitorji protonske črpalke (IPČ) ali selektivni antagonisti na histaminskih-2 (H₂) receptorjih ter bizmutove soli (26,28). Za zdravljenje okužb s *H. pylori* so uvedli stalne režime zdravljenja. Prvi režim zdravljenja je 7-14 dnevna terapija s kombinacijo IPČ in dveh antibiotikov (klaritromicina in amoksicilina ali metronidazola). Omenjena terapija je uspešna pri 80-90 % vseh okužb. Ob ponovitvi okužbe s *H. pylori* sledi sekundarna terapija s štirimi učinkovinami (preglednica I) (20,26,32,33).

Preglednica I: Trenutne smernice za zdravljenje okužb s *H. pylori* (20,26,31,32,33).

Učinkovine	Odmerek (št. odmerkov na dan)	Trajanje (dnevi)
Terapija s tremi učinkovinami		
ranitidinijev-bizmut citrat, klaritromicin, AMX	400mg, 500mg, 1000mg (vsi 2/dan)	7-14
IPČ, klaritromicin, AMX*	20-40mg, 500mg, 1000mg (vsi 2/dan)	7-14
IPČ, klaritromicin, metronidazol	20-40mg, 500mg, 500mg (vsi 2/dan)	7-14
IPČ, metronidazol, AMX	20-40mg, 500mg, 1000mg (vsi 2/dan)	7-14
Terapija s štirimi učinkovinami		
IPČ, bizmutov subcitrat, metronidazol, tetraciklin	20-40mg (2), 120mg (4), 500mg (3), 500mg (4)	7-10**

* - terapija je odobrena s strani FDA

** - antibiotiki se dajejo 4-7 dni, IPČ se začne dajati tri dni prej

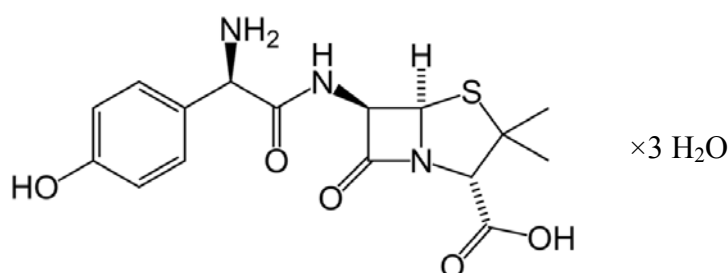
Zaradi velikega števila zdravil, ki se jemljejo v različnih časovnih intervalih, so opisane terapije zelo zapletene. To zmanjša sodelovanje bolnikov in vodi do slabšega

uspeha terapije. Za izboljšanje compliance bolnikov skušajo v eno farmacevtsko obliko vgraditi več različnih učinkovin (19). Veliko sevov *H. pylori* je že razvilo rezistenco na nekatere antibiotike, predvsem na klaritromicin in metronidazol. Za zdaj je rezistenca na tretji najbolj pogosto uporabljeni antibiotik amoksisicilin še razmeroma nizka in znaša do 30 % (26).

3.4 AMOKSICILIN

Amoksisicilin trihidrat je bel ali skoraj bel kristaliničen prašek, težko topen v vodi in etanolu, praktično netopen v maščobnih kislinah (34,35). Njegova topnost v vodi je 4,0 mg/mL (36). Ker je spojina amfoterna, se topnost v vodi spreminja s pH. Pri 37°C je najnižja topnost pri pH od 4 do 6 in sicer 0,013 mol/L, kar ustreza 5,45 mg/mL (37). Razpada v razredčenih kislinah in razredčenih raztopinah alkalijevih hidroksidov. 0,2% vodna raztopina ima pH med 3,5 in 5,5 (34,35).

Kemijsko je amoksisicilin (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-(4-hidroksifenil)acetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboksilna kislina (slika 8) (34,36). Njegova empirična formula je $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ (34,36,38). Molekulska masa amoksisicilin trihidrata je 419,45 g/mol, molekulska masa brezvodnega amoksisicilina pa 365,41 g/mol (35,38).



Slika 8: Strukturna formula amoksisicilin trihidrata (39)

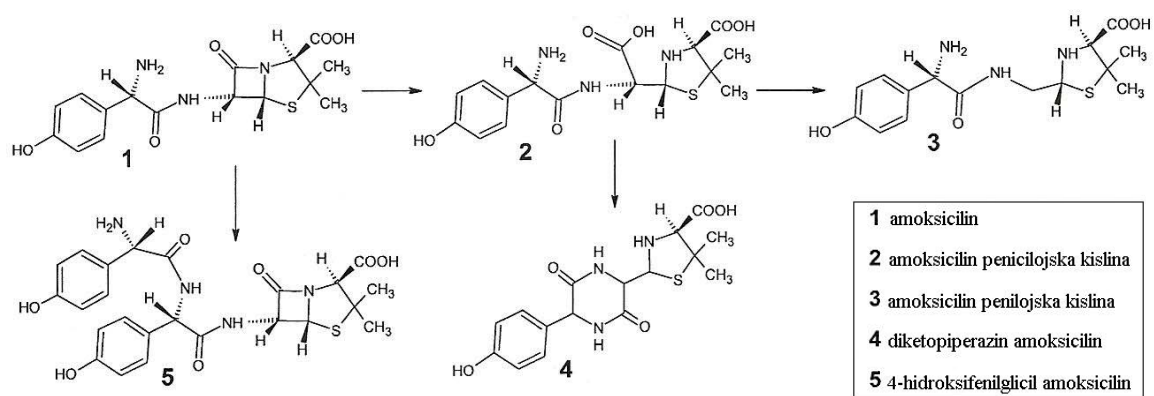
Amoksisicilin (AMX) je polsintezni β -laktamski antibiotik, ki spada v skupino penicilinov (27,40,41). Osnovni obroč pri penicilinih predstavlja penam (4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-7-on), ki nastane s povezavo dveh obročev: azetidinona in

absorpcija AMX manjša kot 90% danega odmerka, kar je meja med visoko in nizko permeabilnimi učinkovinami, ga uvrščamo med učinkovine z nizko permeabilnostjo po biofarmacevtski klasifikaciji. Poleg tega je absorpcija AMX pri zdravih ljudeh odvisna tudi od odmerka učinkovine, saj se pri večjih odmerkih absorpcija AMX zmanjša (51).

V pripravkih se AMX pogosto uporablja skupaj s klavulansko kislino zaradi zelo podobnih farmakokinetičnih lastnosti obeh snovi (12,52,53,54,55). Klavulanska kislina je inhibitor β -laktamaz, encimov, ki jih proizvajajo bakterije (12,52). β -laktamaze cepijo β -laktamski obroč in tako deaktivirajo peniciline (42). Klavulanska kislina ima β -laktamski obroč, ki je strukturno podoben penicilinom in cefalosporinom. Klavulanska kislina učinkuje šibko protibakterijsko in ne vpliva na mehanizem delovanja AMX. Ireverzibilno se veže z določenimi β -laktamazami in jim onemogoča, da bi inaktivirale AMX. Pri vezavi β -laktamaz na klavulansko kislino nastanejo stabilni neaktivni kompleksi. Tako se zveča baktericidno delovanje AMX na odporne organizme, ki tvorijo β -laktamaze (12,53).

3.4.1 Razgradnja amoksicilina

Najbolj nestabilna vez v molekuli AMX je izredno napeta in reaktivna β -laktamska amidna vez v β -laktamskem obroču (42). Razpad AMX (slika 10) (spojina 1) v kislem mediju se začne z odpiranjem 4-členskega β -laktamskega obroča.



Slika 10: Razgradnja amoksicilina (56).

Kot produkt nastane amoksicilin penicilojska kislina (spojina 2), ki vsebuje prosto karboksilno skupino, kar poveča polarnost molekule. Kadar detektiramo AMX po

sproščanju iz tablet s HPLC, ta lastnost privede do zmanjšanja retencijskega časa molekule v reverznofazni tekočinski kromatografiji. Amoksicilin penicilojska kislina (spojina 2) razpada po dveh poteh. V prvem primeru pride do dekarboksilacije in nastane amoksicilin penilojska kislina (spojina 3) (56). Penilojska kislina hidrolizira do nastanka peniloaldehida in penicilamina. Noben nastali razgradni produkt nima antibakterijske aktivnosti (42). V drugem primeru se iz amoksicilin penicilojske kisline tvori stabilen 6-členski obroč, kar vodi do nastanka diketopiperazin amoksicilina (spojina 4). V kislem mediju pride tudi do intermolekularne reakcije dveh molekul AMX. Prosta amino skupina ene molekule AMX nukleofilno napade benzilno karbonilno skupino druge molekule AMX. Produkt reakcije je 4-hidroksifenilglicil amoksicilin (spojina 5) (56).

β -laktamska amidna vez se izredno hitro cepi tudi v alkalnih raztopinah. Pri tem nastane amoksicilin penicilojska kislina, ki se po takojšnji dekarboksilaciji pretvori v amoksicilin penilojsko kislino. Nastanek amoksicilin penicilojske kisline je ireverzibilen pri fizioloških pogojih, saj spojina nima težnje po zaprtju β -laktamskega obroča. Ker je β -laktamski obroč bistven del farmakofora, cepitev le-tega inaktivira delovanje antibiotika. Bakterijske β -laktamaze prav tako katalizirajo cepitev β -laktamskega obroča, kar je glavni razlog za rezistenco. Cepitev β -laktamske vezi povzročajo tudi alkoholi in amini, kar privede do nastanka ustreznih estrov in amidov (42). Razgradnjo penicilinov povzročajo tudi kovinski ioni (živo srebro, cink, baker) (42,57,57,59).

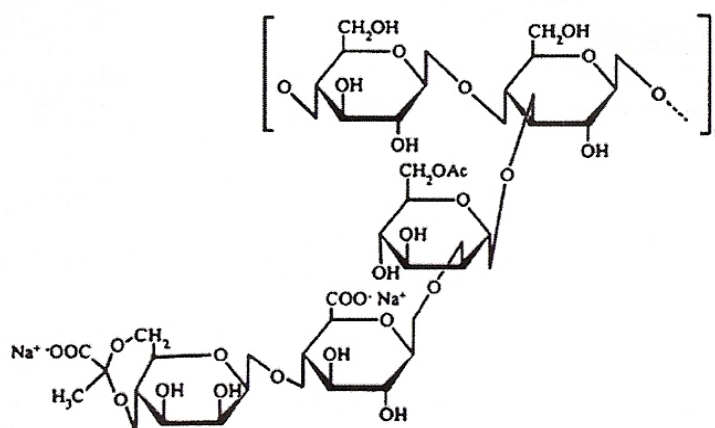
3.5 POLIMERI, UPORABLJENI PRI IZDELAVI TABLET S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM

3.5.1 KSANTAN (ang. xanthan gum)

Ksantan je naravni mikrobn eksopolisaharid. Pridobivajo ga v bioreaktorjih z aerobno fermentacijo z bakterijo *Xanthomonas campestris*. Ta bakterija je povzročitelj številnih bolezni pri rastlinah, za človeka pa ni patogena. *Xanthomonas* ne tvori spor, vendar je zaradi ksantana, ki jo obdaja v obliki kapsule, zelo odporna na visoke temperature, vplive svetlobe, bakteriofage in izsušitev (60). Po končani fermentaciji

fermentacijsko brozgo segrejejo, da ubijejo bakterije, ksantan pa izolirajo z obarjanjem z izopropilnim alkoholom. Nato polimer posušijo in zmeljejo (61-66).

Ksantan je heteropolisaharid z molekulsko maso približno 2×10^6 g/mol. Osnovni skelet ksantana tvorijo β -D-glukozne enote, povezane z β -1,4 vezmi, kar je enako kot pri celulozi. Na vsaki drugi glukozni enoti je na mestu C3 pripeta trisaharidna stranska veriga, ki je sestavljena iz α -D-manoze, β -D-glukuronske kisline in terminalne β -D-manoze. Manoja, pripeta na osnovno verigo, je lahko na mestu 6 acetilirana, na terminalni manozi je lahko na mestu 4 in 6 pripet piruvat (slika 11) (61,62,70). Stopnja acetilacije in količina piruvične kisline sta odvisni od pogojev fermentacije ter seva bakterije, iz katere je ksantan izoliran (60,70,71). Navadno je 60-70% manoz, pripetih na osnovno verigo, acetiliranih na mestu C6, 30-40% terminalnih manoz pa ima pripete piruvatne ostanke. Glukuronska in piruvična kislina dajeta ksantanu anionski značaj (63-71).



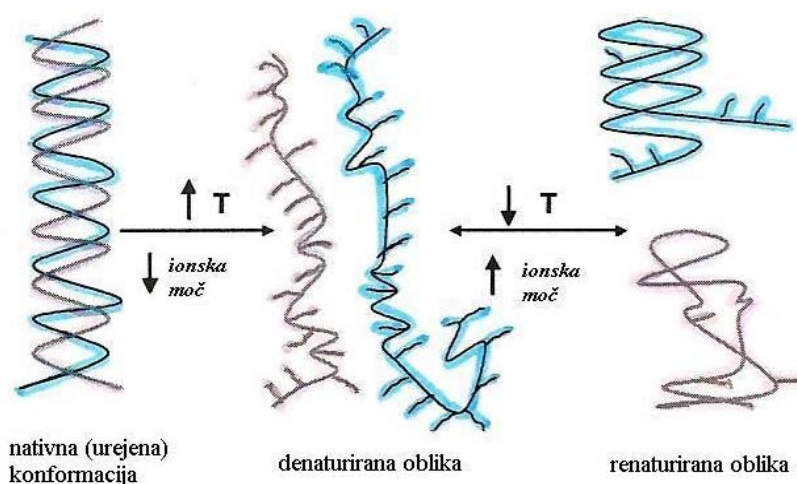
Slika 11: Primarna struktura ksantana (70).

V vodnih sistemih je ksantan kemijsko stabilen v širokem temperaturnem intervalu (10-90°C) in pH območju (pH 3-12). Pri višjih pH vrednostih poteče delna deacetilacija stranskih verig. Prisotnost encimov in soli ne zmanjša njegove stabilnosti. Ksantan je anionski polimer, zato praviloma ni združljiv s kationskimi površinsko aktivnimi snovmi, polimeri ali konzervansi (61).

Viskoznost ksantana v vodnem mediju je odvisna od temperature, koncentracije biopolimera, koncentracije soli in pH. Viskoznost raztopine ksantana močno narašča z naraščajočo koncentracijo polimera (71). Raztopina ksantana je zelo viskozna tudi pri nizki koncentraciji polimera, zato se uporablja v prehrabeni in kozmetični industriji kot zgoščevalo in stabilizator suspenzij in emulzij. Ker je ksantan netoksičen in kompatibilen z

večino farmacevtskih pomožnih snovi, se v farmaciji veliko uporablja v peroralnih in dermalnih farmacevtskih oblikah ter pri izdelavi tablet s prirejenim sproščanjem (60,61,70).

Molekula ksantana se pri sobni temperaturi v trdnem stanju in v mediju z visoko ionsko močjo praviloma nahaja v nativni oz. urejeni konformaciji (slika 12). Naboji na stranskih verigah so nevtralizirani, zato ni prisotnih elektrostatskih odbojnih sil med stranskimi verigami. Posledično se stranske verige tesno prilegajo osnovni verigi. Študije strukture z mikroskopijo na atomsko silo so pokazale, da se med seboj z nekovalentnimi vezmi (vodikove vezi, elektrostatske interakcije in sterični vplivi) povezujejo deli verig, ki imajo stranske verige močno substituirane s piruvično kislino. Povišanje temperature ali znižanje ionske moči privede do denaturacije molekule. Prevladajo odbojne elektrostatske sile med negativno nabitimi stranskimi skupinami. Stranske verige se ne prilegajo več na osnovno verigo, ampak segajo z nje. Dvojna vijačnica se začne razpirati in pri določeni temperaturi povsem razpade. Ob ohlajanju oziroma višanju ionske moči poteče ponovna tvorba dvojne vijačnice, vendar jo tokrat tvori ena sama molekula ksantana. Ta struktura je v primerjavi z nativno konformacijo bistveno manj popolna, saj ostane veliko zavojev ali delov verig, ki prosto segajo z osnovne strukture. Taki obliki pravimo renaturirana konformacija. Prehod iz nativnega v denaturirano stanje je ireverzibilen, prehod iz denaturiranega v renaturirano obliko pa reverzibilen (60,63,64,65,66).

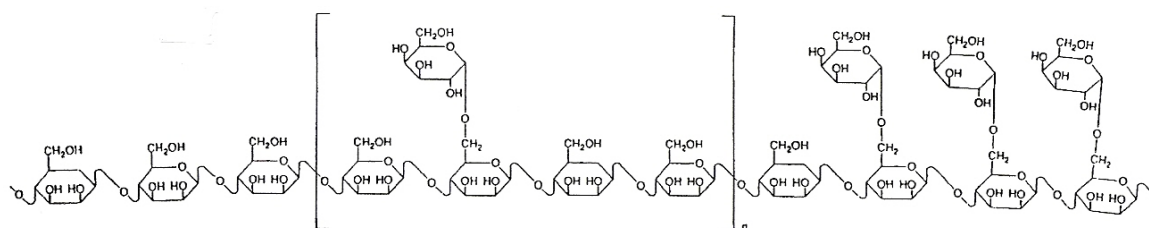


Slika 12: Sekundarna struktura ksantana. Shematski prikaz vpliva ionske moči in temperature na strukturne spremembe ksantana v raztopini (60).

3.5.2 SEMENSKA SLUZ ROŽIČEVCA (ang. locust bean gum, carob bean gum)

Semensko sluz rožičevca (LBG) pridobivajo iz endosperma zrelih semen zimzelenega sredozemskega drevesa rožičevca (*Ceratonia siliqua*). Predstavlja rezervno hrano, ki jo seme porablja med kalitvijo. Druga biološka vloga LBG je zadrževanje vode v semenu, s čimer preprečuje izsušitev semena, hkrati pa ustvarja ustrezno okolje za kalitev (60,66).

Kemijsko gledano je LBG galaktomanan. Kot pove že ime, so galaktomanani polisaharidi, zgrajeni iz manoze in galaktoze. Osnovno verigo LBG tvorijo β -1,4-manopiranoze, na katero so brez pravega reda pripete α -1,6-D-galaktopiranoze (slika 13). Na posameznih odsekih manozne verige so lahko galaktoze pravilno razporejene na vsaki drugi manozni, blokovno razporejene, možna je tudi naključna razporeditev (60,61,66). Tako v trdnem stanju kot v raztopini se nahajajo v obliki togih, trakovom podobnih struktur (60). Molekulska masa LBG je približno 310.000 g/mol (61).



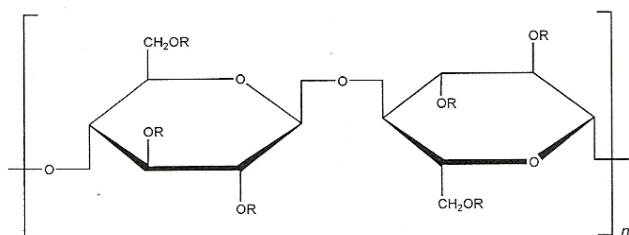
Slika 13: Primarna struktura semenske sluzi rožičevca (60).

LBG se v terapiji uporablja v farmacevtskih oblikah s prirejenim sproščanjem ter peroralno pri uravnavanju črevesne flore pri otrocih in odraslih. Pri izdelavi tablet se LBG uporablja kot vezivo, njegovi ekstrakti pa delujejo emolientno (61). Novejše raziskave kažejo, da tvori s XAN čvrste gele, ki so primerni za izdelavo tablet s prirejenim sproščanjem (66).

Ugotovljeno je bilo, da XAN in LBG v suhi snovi med seboj ne reagirata. V vodnem mediju nabrekata in tvorita sinergistično gelski sloj okoli tablete, ki predstavlja mehansko bariero za sproščanje učinkovine. XAN tvori v vodnih raztopinah šibke gele, LBG koloidne polimerne raztopine, njuna kombinacija pa deluje sinergistično, saj dobimo čvrste termoreverzibilne gele (66).

3.5.3 HIDROKSIPROPILMETILCELULOZA (HPMC)

Kemijsko je HPMC delno O-metilirana in O-(2-hidroksipropilirana) celuloza (slika 14). Na tržišču je prisotnih več vrst, ki se med seboj razlikujejo po stopnji substitucije (DS) in viskoznosti 2% vodne raztopine polimera pri 20°C. Molekulska masa HPMC se giblje med 10.000 in 1.500.000 g/mol (61). Pri izdelavi tablet s podaljšanim sproščanjem smo uporabljali HPMC z nižjo viskoznostjo in nižjo molekulsko maso (K100LV), ki hitreje erodira in omogoča hitrejše sproščanje učinkovine. HPMC z višjo molekulsko maso (npr. K4M, K15M, K100M) lahko privzame več vode in bolj nabreka (64,72). HPMC je neionski polimer, zato je nabrekanje relativno neodvisno od ionske moči ali pH vrednosti medija. Ionska moč sicer bolj vpliva na HPMC z nižjo molekulsko maso, dodatek ionov pa se kaže v manjšem nabrekanju in manjši eroziji polimera, saj anorganski ioni odtegnejo vodo za hidratacijo polimernih verig. Pri HPMC z višjo molekulsko maso je vpliv ionske moči minimalen (64).



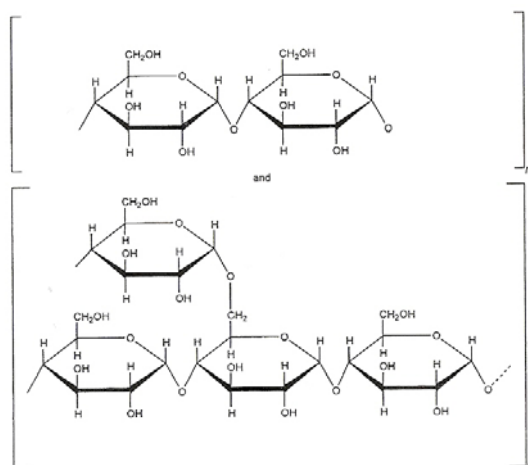
Slika 14: Strukturna formula HPMC; R je lahko H, CH₃ ali CH₃CH(OH)CH₂ (61).

HPMC pridobivajo iz prečiščene celuloze tako, da jo najprej izpostavijo raztopini NaOH in tako pripravijo kemično bolj reaktivno celulozo. V naslednji fazi dodajo klorometan ter propilen oksid in tako dobijo metilni hidroksipropilni eter celuloze. Ta material potem prečistijo in zmeljejo na ustrezno velikost delcev (61).

HPMC je široko uporabna pomožna snov, ki se uporablja v peroralnih in dermalnih farmacevtskih oblikah. V peroralnih farmacevtskih oblikah se uporablja kot vezivo v tabletah, za filmsko oblaganje tablet ter za izdelavo ogrodnih tablet s podaljšanim sproščanjem. V dermalnih farmacevtskih oblikah in v kapljicah za oči se uporablja kot zgoščevalo. V dermalnih gelih in mazilih ima tudi vlogo steričnega stabilizatorja, saj ščiti kapljice in delce pred koalescenco in aglomeracijo. Uporaba HPMC je razširjena tudi v kozmetičnih in prehranskih izdelkih (61).

3.5.4 MALTODEKSTRIN

Maltodekstrin je nesladka in hranljiva saharidna mešanica polimerov, ki so sestavljeni iz D-glukočnih enot z dekstroznim ekvivalentom (DE) pod 20. Dekstrozni ekvivalent je merilo obsega hidrolize škroba. D-glukočne enote so primarno povezane z α -1,4 vezmi. Na osnovno verigo so z α -1,6 vezmi pripeti različno dolgi segmenti (slika 15). Maltodekstrin pridobivajo z delno hidrolizo škroba. Molekulska masa maltodekstrina se giblje med 900 in 9000 g/mol (61).



Slika 15: Strukturna formula maltodekstrina (61).

Na tržišču je prisotnih več vrst maltodekstrina, ki se med seboj ločijo po različnih fizikalnih lastnostih. Slednje so posledica različnih vrednosti dekstroznega ekvivalenta (DE). Z večanjem vrednosti DE se povečujeta topnost in higroskopsnost, medtem ko se viskoznost raztopin zmanjšuje. Pridobivajo ga s segrevanjem ob prisotnosti kisline in encimov, kjer prihaja do delne hidrolize škroba. Tako dobijo raztopino različno dolgih glukočnih enot. Raztopino nato filtrirajo, koncentrirajo in posušijo (61). Maltodekstrin je lahko prebavljiv in se tako hitro absorbira kot glukoza (73).

Maltodekstrin se uporablja pri izdelavi tablet kot vezivo pri direktnem tabletiranju in v obliki raztopine pri vlažnem granuliranju. Uporablja se tudi pri filmskem oblaganju tablet in ne vpliva na hitrost sproščanja učinkovine iz tablet in kapsul. V farmacevtskih oblikah se uporablja za povečanje viskoznosti raztopin, poleg tega prepreči kristalizacijo sirupov. Maltodekstrin z večjimi DE vrednostmi se uporablja pri žvečljivih tabletah. Njegova uporaba je razširjena tudi v slaščičarstvu in prehrambeni industriji ter v izdelkih za osebno nego (61).

4 NAMEN DELA

V diplomski nalogi bomo izdelali dvoplastne plavajoče tablete na osnovi ksantana z vgrajeno učinkovino amoksicilin trihidrat. Izdelali bomo farmacevtsko obliko s podaljšanim sproščanjem učinkovine, ki bi bila primerna za zdravljenje okužb z bakterijo *Helicobacter pylori* v želodcu.

Poskuse sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet in plavanja teh tablet bomo izvajali na napravi 2 po USP, kot osnovni medij bomo uporabili fosfatni pufer s pH 3,0. Delež sproščenega amoksicilina bomo analizirali na HPLC sistemu. Izdelane dvoplastne plavajoče tablete bomo ovrednotili po Ph. Eur. 6th Ed.

Izdelali bomo dve seriji tablet: enoplastne in dvoplastne tablete ter primerjali sproščanje amoksicilina in čas splavanja pri pH 3,0 pri različni ionski moči.

Nato bomo tablete na osnovi ksantana optimirali predvsem glede na sproščanje zdravilne učinkovine. V tablete bomo vgradili različne vodotopne substance: glukozo, saharozo, trehalozo, maltodekstrin, semensko sluz rožičevca in hidroksipropilmetilcelulozo ter proučili njihov vpliv na hitrost sproščanja amoksicilina in hitrost splavanja dvoplastnih tablet.

Ker vemo, da amoksicilin v kislem razpada, bomo proučili tudi vpliv prisotnosti ene pomožne snovi ter vseh pomožnih snovi v obliki prahov na hitrost raztapljanja in stabilnost učinkovine.

Stabilnost oziroma razpad amoksicilina bomo spremljali v 48-urnem poskusu ob prisotnosti pomožnih snovi v obliki prahov ter brez njihove prisotnosti. Prav tako bomo preverili stabilnost amoksicilina v medijih z različnimi pH vrednostmi ter različno ionsko močjo. Nastanek razpadnih produktov bomo dokazali z UV spektrometrijo.

V zadnjem delu naloge bomo izbrane tri serije dvoplastnih plavajočih tablet primerjali glede na hitrost splavanja in sproščanja učinkovine. Ugotavljali bomo:

- vpliv različne hitrosti vrtenja mešal,
- vpliv različnih pH vrednosti medijev (pri pH 1,2; 3,0; 4,5; 6,8),
- vpliv različne ionske moči, saj bomo osnovnima medijema s pH 3,0 in 4,5 povečali ionsko moč z dodatkom $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$,
- obliko in velikost tablet po končanem 24-urnem poskusu sproščanja.

5 EKSPERIMENTALNO DELO

5.1 MATERIALI IN NAPRAVE

5.1.1 Pomožne snovi za izdelavo tablet

- amoksicilin trihidrat, Lek, Ljubljana, Slovenija
- ksantan (xanthan gum), Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Nemčija
- natrijev hidrogenfosfat (99,7-100,3%), Merck KGa A, Darmstadt, Nemčija
- kalcijev klorid dihidrat, Ph. Eur. 6th Ed., Merck KGa A, Darmstadt, Nemčija
- mikrokristalna celuloza (MCC), Lek, Ljubljana, Slovenija
- magnezijev stearat, Ph. Eur. 6th Ed., Merck KGa A, Darmstadt, Nemčija
- glukoza (D(+)-glukoza), Kemika, Zagreb, Hrvaška
- saharoza, Kemika, Zagreb, Hrvaška
- trehaloza (α - α -trehaloza dihidrat), Quadrant, Trumpington, Cambridge, Anglija
- maltodekstrin, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Nemčija
- hidroksipropilmetilceluloza (HPMC K100 Premium LV), Krka, Novo mesto, Slovenija
- semenska sluz rožičevca (locust bean gum from Ceratonia siliqua seeds), Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Nemčija

5.1.2 Reagenti za pripravo medijev za sproščanje in mobilne faze za HPLC analitiko amoksicilina

- kalijev dihidrogenfosfat (99,5-100,5%), Merck KGa A, Darmstadt, Nemčija
- dikalijev hidrogenfosfat (min. 98,0%), Kemika, Zagreb, Hrvaška
- fosforna kislina (85%), Merck KGa A, Darmstadt, Nemčija
- klorovodikova kislina, Titrisol[®] za pripravo $c_{(\text{HCl})} = 1 \text{ mol/L}$, Merck KGa A, Darmstadt, Nemčija
- acetonitril (>99,9%), Merck KGa A, Darmstadt, Nemčija

5.1.3 Naprave

- precizna tehtnica, Mettler Toledo AG 245, Schwerzenbach, Švica
- digitalna tehtnica, Exacta 2200 EB, Tehtnica, Železniki, Slovenija
- pH meter, MA 234, Mettler Toledo, pH/Ion Analyzer, Schwerzenbach, Švica
- sušilnik za steklovino, SE 02, Elektromedicina, Zagreb, Hrvaška
- merilec vlage, B-302, Büchi, Flawil, Švica
- ultrazvočna kadička, Sonis 4, Iskra, Kranj, Slovenija
- magnetno mešalo, RH basic 2, IKA[®] Werke GmbH & Co., KG, Staufen, Nemčija
- filtri Full Flow[™], velikost por 10 µm, Varian, ZDA
- celulozni acetatni filtri, velikost por 0,45 µm, Sartorius Stedium Biotech GmbH, Nemčija
- hidravlična tabletirka, SP 300, Kilian & co., Cologne, Nemčija
- naprava za merjenje trdnosti tablet, Vanderkamp[®], VK 200 Tablet hardness tester, Varian, ZDA
- sistem za visokotlačno tekočinsko kromatografijo (HPLC), K-501, Knauer, Berlin, Nemčija; UV detektor, 2151 variable wavelength monitor, LKB, Bromma, Švedska; kolona, Phenomenex, Luna C18 (2) 100 A, 250×4,60 mm, 5 micron; programska oprema, Barspec Data System, Version No. 1.26, Barspec Systems, Izrael
- sistem za visokotlačno tekočinsko kromatografijo (HPLC), Agilent 1100 Series, Agilent Technologies, Nemčija
- sistem za preskušanje sproščanja z vesli (USP 2), VK 7000, VanKel, New Jersey, ZDA; avtomatski vzorčevalnik, VK 8000, VanKel, New Jersey, ZDA

5.2 PRIPRAVA VZORCEV

5.2.1 Izdelava tablet

Z metodo direktnega tabletiranja smo izdelali različne serije dvoplastnih tablet z učinkovino amoksicilin trihidrat. Vsaka tableta je vsebovala 100 mg amoksicilina (AMX), kar predstavlja 20% celotne mase tablete (500 mg). Kot polimerni nosilni sistem smo

uporabili ksantan (XAN), dodajali smo tudi druge pomožne snovi: natrijev hidrogenkarbonat, mikrokristalno celulozo (MCC), magnezijev stearat, hidroksipropilmetil celulozo (HPMC K100LV), semensko sluz rožičevca (LBG), maltodekstrin ter različne saharide (glukoza, saharoza, trehaloza). Sestava izdelanih serij tablet je prikazana v preglednici II.

Preglednica II: Sestava dvoplastnih 500 mg ogrodnih tablet, sestavljenih iz 2 različnih plasti. V tabeli je navedena masa za amoksicilin trihidrat, ki je za faktor 1,148 večja od mase amoksicilina (aktivna komponenta). Vse vrednosti so v miligramih (mg).

Serija		AMX×3H ₂ O	KSANTAN	NaHCO ₃	MCC	Mg-STEARAT	SAHAROZA	TREHALOZA	MALTO-DEKSTRIN	GLUKOZA	LBG	HPMC K100LV
34		114,8	180,2	100,0	100,0	5,0						
35	1. plast	34,4		57,8	57,8							
	2. plast	80,4	126,1	70,0	70,0	3,5						
	vsota	114,8	126,1	127,8	127,8	3,5						
1	1. plast	34,4		57,8	57,8							
	2. plast	80,4	63,05	70,0	70,0	3,5	63,05					
	vsota	114,8	63,05	127,8	127,8	3,5	63,05					
2	1. plast	34,4		57,8	57,8							
	2. plast	80,4	63,05	70,0	70,0	3,5		63,05				
	vsota	114,8	63,05	127,8	127,8	3,5		63,05				
3	1. plast	34,4		57,8	57,8							
	2. plast	80,4	63,05	70,0	70,0	3,5			63,05			
	vsota	114,8	63,05	127,8	127,8	3,5			63,05			
4	1. plast	34,4		57,8	57,8							
	2. plast	80,4	63,05	70,0	70,0	3,5				63,05		
	vsota	114,8	63,05	127,8	127,8	3,5				63,05		
5	1. plast	34,4		57,8	57,8							
	2. plast	80,4	63,05	70,0	70,0	3,5					63,05	
	vsota	114,8	63,05	127,8	127,8	3,5					63,05	
6	1. plast	34,4		57,8	57,8							
	2. plast	80,4	63,05	70,0	70,0	3,5						63,05
	vsota	114,8	63,05	127,8	127,8	3,5						63,05
7	1. plast	34,4		57,8	57,8							
	2. plast	80,4	94,58	70,0	70,0	3,5			31,53			
	vsota	114,8	94,58	127,8	127,8	3,5			31,53			
8	1. plast	34,4		57,8	57,8							
	2. plast	80,4	50,44	70,0	70,0	3,5					75,66	
	vsota	114,8	50,44	127,8	127,8	3,5					75,66	

9	1. plast	34,4		57,8	57,8							
	2. plast	80,4	50,44	70,0	70,0	3,5						75,66
	vsota	114,8	50,44	127,8	127,8	3,5						75,66
10	1. plast	34,4			115,6							
	2. plast	80,4			269,6							
	vsota	114,8			385,2							

Vsaka 500 mg tableta je bila sestavljena iz 2 različnih plasti, kjer 1. plast ni vsebovala ksantana, 2. plast pa je vsebovala ksantan. Običajno smo stisnili 30 tablet za vsako serijo.

Vsakokrat smo pripravili 15 g mase za tabletiranje: 10,5 g prve zmesi prahov, ki je vsebovala ksantan, in 4,5 g druge zmesi prahov. Učinkovino in pomožne snovi smo za vsako plast tablete posebej homogenizirali v pateni po pravilu rastočih mas. Nato smo ločeno natehtali 350 mg mase, ki je vsebovala ksantan (2. plast), ter 150 mg mase, ki ksantana ni vsebovala (1. plast).

Tablete smo stisnili ročno na hidravlični tabletirki Kilian SP 300. 350 mg mase 2. plasti smo stresli v matrično vdolbino. Kolo tabletirke smo zavrteli le toliko, da je zgornji pečat poravnal površino mase v matrični vdolbini. Nato smo kolo tabletirke zavrteli v drugo smer, tako da smo dvignili zgornji pečat, prva plast tablete pa je ostala v matrični vdolbini. Na prvo plast smo nasuli še 150 mg homogenizirane mešanice 1. plasti in stisnili dvoplastne tablete z ustrezno trdnostjo.

Pri stiskanju tablet smo uporabljali okrogel pečat z ravnimi površinami s premerom 12 mm. Pri vsaki seriji tablet smo želeli doseči trdnost med 50 in 70 N, kar smo dosegli s spreminjanjem položaja pečatov. Vedno smo spreminjali samo položaj zgornjega pečata. Z višanjem ali nižanjem položaja zgornjega pečata smo spreminjali razdaljo med pečatoma in tako dosegli ustrezno trdnost tablet pri različnih silah stiskanja in različnih sestavah tablet.

V preliminarnih testih (31) so ugotovili, da ima vsebnost vode v ksantanu velik vpliv na izdelavo tablet, zato smo pred vsakim tabletiranjem preverjali vsebnost vode v ksantanu. Če je bilo v ksantanu preveč vode, smo ga sušili v sušilniku. Pri tabletiranju smo uporabljali ksantan z vsebnostjo vlage približno 8%.

Izdelanim serijam tablet smo določili trdnost in enakomernost mase. Vsebnost amoksicilina smo določili le nekaterim serijam tablet. Ker je ta diploma nadaljevanje predhodnega diplomskega dela (31), smo ponovili izdelavo njihovih najoptimalnejših serij

tablet, to sta seriji 34 in 35. Tako smo vsebnost amoksicilina določili izhodiščnima serijama 34 in 35 ter našim izbranim serijam 7, 8, 9. Iz vseh izdelanih serij smo spremljali sproščanje amoksicilina.

5.2.2 Priprava medijev za sproščanje

- Izdelava medija s pH=3,0 (medij 1)

Gre za fosfatni pufer po Ph. Eur. 6th Ed. z nekoliko višjo ionsko močjo. Na elektronski tehtnici smo tako natehtali 5,444 g KH_2PO_4 in ga kvantitativno prenesli v litrsko bučo. Dodali smo približno 900 mL prečiščene vode. Bučo smo dobro pretresli, tako da se je raztopil ves KH_2PO_4 . Tako pripravljene raztopine smo z 1 M raztopino H_3PO_4 uravnali vrednost pH na $3,0 \pm 0,05$. Po uravnavi pH smo bučo s prečiščeno vodo dopolnili do oznake in vsebino dobro premešali. Pripravljene medij je imel ionsko moč $\mu=0,04$ M.

- Izdelava medija s pH=4,5 po Ph. Eur. 6th Ed. (medij 2)

Na elektronski tehtnici smo natehtali 6,80 g KH_2PO_4 in ga kvantitativno prenesli v litrsko bučo. Dodali smo približno 900 mL prečiščene vode. Bučo smo dobro pretresli, tako da se je raztopil ves KH_2PO_4 . Tako pripravljene raztopine smo z 1 M raztopino H_3PO_4 uravnali vrednost pH na $4,5 \pm 0,05$. Po uravnavi pH smo bučo s prečiščeno vodo dopolnili do oznake in vsebino dobro premešali. Pripravljene medij je imel ionsko moč $\mu=0,05$ M.

- Izdelava medija s pH=6,8 po Ph. Eur. 6th Ed. (medij 3)

Najprej smo si pripravili raztopino A, tako da smo na elektronski tehtnici natehtali 27,2 g KH_2PO_4 , ga kvantitativno prenesli v litrsko bučo ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. Nato smo pripravili raztopino B, tako da smo na elektronski tehtnici natehtali 71,6 g K_2HPO_4 , ga kvantitativno prenesli v litrsko bučo ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. 510 mL raztopine A smo dodali 490 mL raztopine B. Tako pripravljene raztopine smo z 1 M raztopino H_3PO_4 uravnali vrednost pH na $6,8 \pm 0,05$. Medij smo shranjevali pri temperaturi od 2 do 8°C. Pripravljene medij je imel ionsko moč $\mu=0,71$ M.

- Izdelava medija s pH=3,0 z višjo ionsko močjo (medij 4)

Na elektronski tehtnici smo natehtali 5,444 g KH_2PO_4 in 9,799 g $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ter ju kvantitativno prenesli v litrsko bučo. Dodali smo približno 900 mL prečiščene vode. Bučo smo dobro pretresli, tako da so se soli povsem raztopile. Tako pripravljene raztopine smo z 1 M raztopino H_3PO_4 uravnali vrednost pH na $3,0 \pm 0,05$. Po uravnavi pH smo bučo s prečiščeno vodo dopolnili do oznake in vsebino dobro premešali. Pripravljene medij je imel ionsko moč $\mu=0,24$ M.

- Izdelava medija s pH=4,5 po Ph. Eur. 6th Ed. (medij 5)

Na elektronski tehtnici smo natehtali 6,80 g KH_2PO_4 in 9,799 g $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ter ju kvantitativno prenesli v litrsko bučo. Dodali smo približno 900 mL prečiščene vode. Bučo smo dobro pretresli, tako da so se soli povsem raztopile. Tako pripravljene raztopine smo z 1 M raztopino H_3PO_4 uravnali vrednost pH na $4,5 \pm 0,05$. Po uravnavi pH smo bučo s prečiščeno vodo dopolnili do oznake in vsebino dobro premešali. Pripravljene medij je imel ionsko moč $\mu=0,25$ M.

- Izdelava medija s pH=1,2 (medij 6)

Gre za medij po predpisu Ph. Eur. 6th Ed., vendar našemu mediju nismo dodali NaCl, ki ga farmakopeja predpisuje. S prečiščeno vodo smo približno do polovice napolnili litrsko bučo. Z merilnim valjem smo odmerili 80 mL 1 M HCl in jo prelili v bučo. Vsebinsko smo dopolnili do volumna približno 900 mL. Tako pripravljene raztopine smo z 0,1 M raztopino HCl uravnali vrednost pH na $1,2 \pm 0,05$. Po uravnavi pH smo bučo s prečiščeno vodo dopolnili do oznake in vsebino dobro premešali.

Preglednica III: Oznaka, sestava, pH in ionska moč medijev, ki smo jih uporabili pri poskusih, preračunano za volumen 1 L. Vsem medijem smo pH uravnali z dodatkom kisline.

oznaka medija	sestava medija	pH medija	ionska moč (M)
medij 1 (M1)	prečiščena voda + 5,444 g KH_2PO_4	3,0	0,04
medij 2 (M2)	prečiščena voda + 6,80 g KH_2PO_4	4,5	0,05
medij 3 (M3)	prečiščena voda + 510 mL raztopine KH_2PO_4 s koncentracijo 27,2 g/L + 490 ml raztopine K_2HPO_4 s koncentracijo 71,6 g/L	6,8	0,71
medij 4 (M4)	prečiščena voda + 5,444 g KH_2PO_4 + 9,799 g $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	3,0	0,24
medij 5 (M5)	prečiščena voda + 6,80 g KH_2PO_4 + 9,799 g $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	4,5	0,25
medij 6 (M6)	prečiščena voda + 80 ml 1M HCl	1,2	

5.3 METODE

5.3.1 DOLOČANJE FARMACEVTSKO – TEHNOLOŠKIH PARAMETROV TABLET

5.3.1.1 Enakomernost mase

Preskus enakomernosti mase smo izvajali po predpisu, kot ga določa 6. Evropska farmakopeja (Ph. Eur. 6th Ed.) v poglavju 2.9.5. Uniformity of mass of single dose preparation. Stehtali smo 20 tablet. Pri tabletah, težjih od 250 mg, lahko največ dve masi tablet odstopata od povprečja za več kot 5%, nobena masa tablete pa ne sme odstopati od povprečja več kot 10%. Kot rezultat smo podali povprečno maso tablet, minimalno in maksimalno maso ter standardno deviacijo.

5.3.1.2 Enakomernost vsebnosti enodmernih farmacevtskih oblik

Preskus enakomernost vsebnosti enodmernih farmacevtskih oblik smo izvedli po predpisu, navedem v Ph. Eur. 6th Ed., v poglavju 2.9.6. Uniformity of content of single dose preparation. Predpis zahteva določanje vsebnosti učinkovine v 10 tabletah. Naše serije tablet so bile številčno omejene, zato smo vsebnost določili le 3 tabletam iz izbranih serij.

Postopek: Tablete smo razdrobili v terilnici in jih kvantitativno prenesli v 500 ml bučko ter dopolnili do oznake z medijem 1 (fosfatni pufer s pH 3,0). Preskus smo izvedli v mediju 1, saj je AMX v organskih topilih zelo slabo topen. Bučko z raztopino smo za nekaj minut položili v ultrazvočno kadičko, tako da se je ves AMX raztopil. Na brizgo smo natakneli 10 µm filter in odvzeli 5 mL vzorce ter jih injicirali v HPLC sistem. Iz površin pod krivuljo (PPK) smo določili koncentracije AMX v vzorcu ter izračunali maso AMX v tabletah. Pričakovana vsebnost AMX je bila 100 mg na tableto. Kot rezultat smo podali povprečno vsebnost učinkovine v tableti, minimalno in maksimalno vsebnost ter standardno deviacijo. Rezultate smo uporabili za normalizacijo rezultatov preskusa sproščanja (faktor F v enačbi 5).

5.3.1.3 Trdnost tablet

Preskus trdnosti tablet smo izvedli po predpisu, navedenem v Ph. Eur. 6th Ed., v poglavju 2.9.8. Resistance to crushing of tablets.

Postopek: Trdnost tablet smo določili na napravi za merjenje trdnosti (Vanderkamp[®], VK 200, ZDA). Tableto smo položili med mirujoči in gibljivi del v vodoravni položaj. Gibljivi del potiska tableto ob mirujoči del, dokler tableta ne počí. Trdnost tablete pomeni najmanjšo silo, izraženo v Newton-ih, ki je potrebna, da tableta počí ali se poškoduje. Iz vsake serije smo vzeli 10 tablet in jim izmerili trdnost. Zaradi omejenega števila tablet smo določili trdnost samo 10 tabletam iz vsake serije in ne 20 tabletam, kot predpisuje farmakopeja. Kot rezultat smo podali povprečno vrednost trdnosti, minimalno in maksimalno vrednost trdnosti ter standardno deviacijo.

5.3.2 IZDELAVA UMERITVENIH PREMICE

Količino sproščene učinkovine smo določali v šestih različnih medijih, zato smo pripravili umeritvene premice za vsak medij posebej. Za posamezni medij smo pripravili dve osnovni raztopini AMX s približno enako koncentracijo 0,20 mg/mL. Natančno smo natehtali 23-24 mg amoksicilin trihidrata, kar ustreza 20-21 mg amoksicilina. Natehte smo kvantitativno prenesli v 100 mL bučko ter dopolnili do oznake z ustreznim medijem. Bučko smo za nekaj minut položili v ultrazvočno kadičko, da se je ves AMX raztopil. Iz vsake osnovne raztopine smo z ustreznim redčenjem pripravili nove raztopine s koncentracijami od približno 0,0020 mg/mL do 0,20 mg/mL. Tem raztopinam smo s HPLC določili površino pod krivuljo (PPK). S pomočjo linearne regresije smo izračunali umeritveno premico ter kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2).

Tako pripravljene raztopine smo shranili pri sobni temperaturi. Po 24 urah smo raztopinam s HPLC ponovno določili novo površino pod krivuljo in izračunali novo umeritveno premico. Ugotovili smo, da je naklon premice po 24 urah pri vseh šestih medijih manjši od naklona umeritvene premice sveže pripravljenih raztopin. Zmanjšanje koncentracije AMX po 24 urah smo predstavili grafično za vsak posamezni medij.

5.3.3 POSKUSI SPROŠČANJA IN DOLOČANJE HITROSTI SPLAVANJA TABLET NA NAPRAVI 2 PO USP

Poskuse sproščanja smo izvajali na napravi 2 po USP. Gre za napravo z veslastim mešalom (Paddle Apparatus) (slika 16). Volumen medija za sproščanje je bil vedno 800 mL, kar je zadostovalo za vzdrževanje sink pogojev. Sproščanje smo izvajali pri konstantni temperaturi (37°C) in konstantni hitrosti vrtenja mešal (rpm=50). V nekaterih primerih smo uporabili višjo hitrost vrtenja mešal (rpm=100). Hitrost splavanja tablet smo določali tako, da smo opazovali, kdaj so se tablete pojavile na površini medija (čas splavanja).



Slika 16: Naprava za sproščanje 2 po USP. Na kontrolni plošči je vidno število vrtljajev vesla (rpm=50) in temperatura vodne kopeli (37,2°C).

Skozi 10 μm filtre Full Flow smo odvzemali 5 mL vzorce z avtomatskim vzorčevalnikom. Časovne točke jemanja vzorcev so bile naslednje: 30 minut, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16 in 24 ur. Odvzetega medija nismo nadomeščali, kljub temu so se ves čas poskusa ohranjali sink pogoji. Ugotovili smo, da je med poskusom prišlo tudi do izhlapevanja medija, kar smo preverjali z meritvami volumna medija po končanem poskusu. Predpostavili smo enakomerno hitrost izhlapevanja medija, ki je znašala 2 mL/h. Pri izračunu koncentracije sproščene učinkovine smo upoštevali zmanjšanje volumna medija tako zaradi odvzetih vzorcev, kot tudi zaradi izhlapevanja medija (enačba 2).

$$V_n = V_0 - (n \times V_{vz}) - (t_n \times v_{izh})$$

/enačba 2/

V_n - dejanski volumen medija po vzorčenju

V_0 - začetni volumen medija (800 mL)

n - število vzorcev

V_{vz} - volumen odvzetega vzorca (5 mL)

t_n - čas ob odvzemu n-tega vzorca

v_{izh} - hitrost izhlapevanja medija (2 mL/h)

Iz umeritvenih premic smo izračunali koncentracije sproščenega amoksicilina ob določenem času. Z upoštevanjem dejanskega volumna medija po vzorčenju ter koncentracije sproščene učinkovine smo izračunali maso sproščenega amoksicilina. Tej masi smo prišteli še maso amoksicilina, ki smo ga odvzeli s posameznimi odvzemi vzorcev (enačba 3).

$$m_n = c_n \times V_n + \sum_{n=1}^n c_n \times V_{vz}$$

/enačba 3/

m_n - masa raztopljenega amoksicilina v mediju ob n-tem vzorcu

c_n - koncentracija amoksicilina v mediju ob n-tem vzorcu

Iz dejanske mase raztopljenega amoksicilina in teoretične mase amoksicilina v tableti smo izračunali delež sproščenega amoksicilina (enačba 4).

$$X_n = \frac{m_n}{m_0} \times 100$$

/enačba 4/

X_n - delež sproščenega amoksicilina ob n-tem jemanju vzorca

m_0 - teoretična masa amoksicilina v tableti (100 mg)

Pri serijah 34 in 35 ter pri serijah 7, 8, 9 smo določili vsebnost amoksicilina v tableti. Iz povprečja vsebnosti učinkovine smo določili delež amoksicilina v tableti, s temi podatki smo izračunali delež sproščenega amoksicilina (enačba 5).

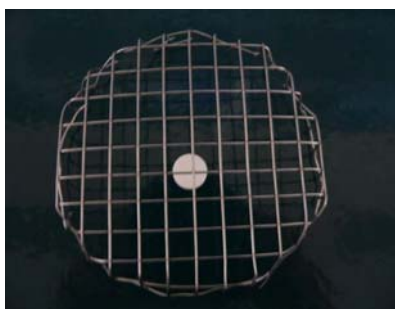
$$X_{nF} = \frac{m_n}{m_0 \times F} \times 100$$

/enačba 5/

X_{nF} - delež sproščene amoksicilina ob n-tem jemanju vzorca

F - delež amoksicilina v tableti glede na teoretično maso, izračunan iz povprečja vsebnosti amoksicilina v izbranih serijah

Pri nekaterih poskusih sproščanja smo uporabljali kovinske mrežice, ki smo jih vstavili v posodo z medijem. Z njimi smo tabletam preprečili, da bi splavale na površje medija. Mrežice imajo ravno ploskev in obliko kroga s premerom približno 10 cm (slika 17). Mrežice so dovolj težke, da ostanejo na dnu posode naprave 2 po USP. Površina okrogle kovinske mrežice je sestavljena iz kvadratnih odprtih s površino 1 cm². Pore v mrežici imajo dovolj veliko površino, da omogočajo neovirano kroženje medija okrog tablete.



Slika 17: Kovinska mrežica, ki je namenjena preprečitvi splavanja tablete na površje medija. Pod mrežico se nahaja tableta s premerom 12 mm.

5.3.4 HPLC ANALIZA SPROŠČENE UČINKOVINE

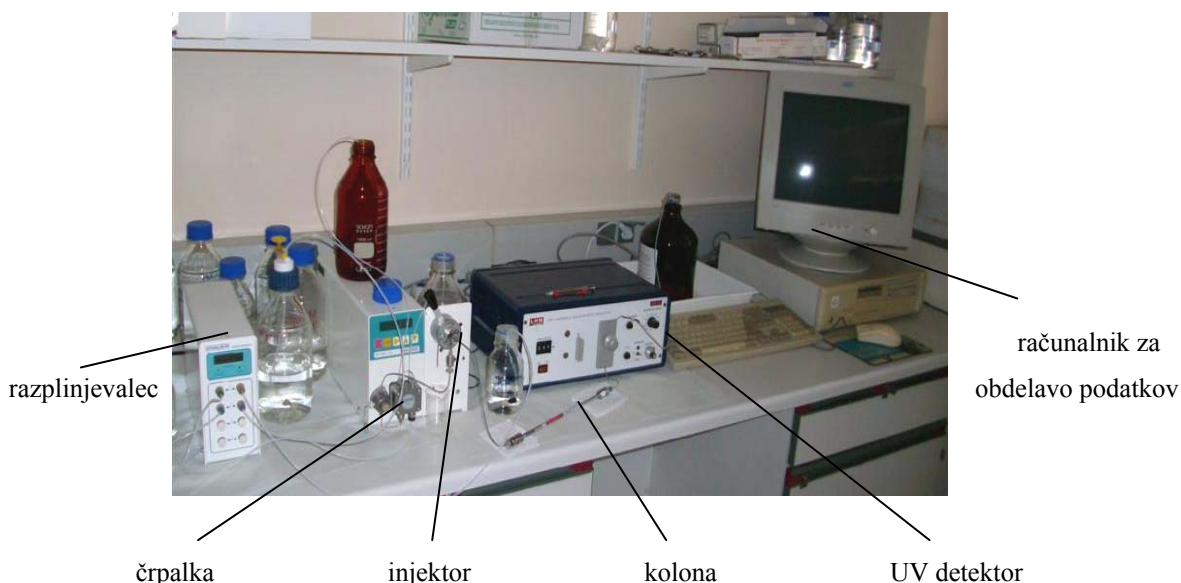
Koncentracije sproščene amoksicilina smo določali s pomočjo HPLC analize (slika 18). Iz površin pod krivuljo (PPK) smo s pomočjo umeritvene premice izračunali koncentracije sproščene učinkovine v vsaki časovni točki. Umeritvene premice smo pripravili za vsak medij posebej.

Iz podatkov v literaturi (38) smo povzeli naslednje parametre HPLC analitike:

- mobilna faza je bila sestavljena iz raztopin A in B v volumskem razmerju 96:4. Raztopina A je bil fosfatni pufer s pH=5,0. Pripravili smo ga tako, da smo 13,6 g KH₂PO₄ raztopili v 2000 mL visoko prečiščene vode in s 45% (w/w) raztopino

kalijevega hidroksida (KOH) uravnali pH na $5,0 \pm 0,1$. Raztopini A smo dodali ustrezno količino raztopine B, ki je bil acetonitril kakovosti za HPLC. Tako pripravljeno raztopino smo dobro premešali in odzračili (5 minut) v ultrazvočni kadički;

- UV detekcija je potekala pri valovni dolžini 230 nm;
- uporabili smo kolono z dolžino 25 cm in notranjim premerom 4,6 mm ter velikostjo delcev 5 μm ;
- pretok mobilne faze je bil 1,5 mL/min;
- volumen ročno injeciranega vzorca je bil 20 μL . Sprva smo ročno injecirali 50 μL vzorca. Zaradi tehničnih okvar smo zamenjali injektor, zaradi tega se je spremenil volumen injeciranega vzorca na 20 μL ;
- retencijski čas amoksicilina je bil 4,1 minute. Vrhovi amoksicilina so bili ozki in se niso prekrivali z nobenim drugim vrhom.



Slika 18: HPLC sistem, na katerem smo opravljali meritve.

Z avtomatskim vzorčevalnikom smo odvzeli vzorce iz medija za sproščanje. Analizirali smo jih na HPLC sistemu takoj po odvzemu. Vzorca po 12 in 16 urah smo zaradi neugodnega časovnega odvzema (ponavadi ponoči) analizirali šele naslednji dan. Pri teh dveh vzorcih smo določili nekoliko nižje koncentracije, kot so bile v mediju za sproščanje v času odvzema. S kasnejšimi analizami smo ugotovili, da je bil vzrok nižjih koncentracij razpad amoksicilina.

5.3.5 ANALIZA RAZPADNIH PRODUKTOV

Z direktnim tabletiranjem smo izdelali 500 mg ogrodne tablete, v katere smo vgradili 100 mg amoksisilina ter 400 mg mikrokristalne celuloze (serija 10). Po končanem 24-urnem poskusu sproščanja na napravi 2 po USP v fosfatnem pufru s pH 3,0 (medij 1) smo na HPLC aparaturi Agilent 1100 Series (Nemčija) posneli kromatogram amoksisilina in njegovih razpadnih produktov. Parametri HPLC analize razpadnih produktov so bili enaki parametrom, postavljenim pri HPLC analizi amoksisilina. Edina razlika je bila v sestavi mobilne faze, saj smo povečali delež acetonitrila na 7%. Mobilna faza je bila tako sestavljena iz fosfatnega pufru s pH 5,0 in acetonitrila, kakovosti za HPLC, v volumskem razmerju 93:7. S povečanjem deleža acetonitrila v mobilni fazi smo zmanjšali retencijski čas tako amoksisilina (2,6 minut) kot tudi razpadnih produktov. S pomočjo HPLC aparature Agilent 1100 Series smo dobili tudi UV spekter amoksisilina in njegovih razpadnih produktov.

6 REZULTATI

6.1 FARMACEVTSKO-TEHNOLOŠKO VREDNOTENJE OGRODNIH TABLET

Ustreznost izdelanih tablet smo preverjali z nekaterimi farmakopejskimi zahtevami. Določili smo enakomernost mase, enakomernost vsebnosti ter trdnost tablet.

6.1.1 Enakomernost mase

Preskus enakomernosti mase po Ph. Eur. 6th Ed. smo izvedli za vse izdelane serije tablet in rezultate predstavili v preglednici IV.

Preglednica IV: Enakomernost mas za posamezno serijo tablet (n=20). Podali smo najmanjšo, največjo in povprečno maso tablet ter vrednost za standardno deviacijo (SD) in relativno standardno deviacijo (RSD). Natančna sestava tablet je prikazana v preglednici II.

Serijska	Najmanjša masa (mg)	Največja masa (mg)	Povprečna masa (mg)	SD (mg)	RSD (%)
34	497	503	499,5	1,47	0,29
35	498	503	500,2	1,35	0,27
1	496	502	498,9	1,63	0,33
2	496	501	499,1	1,25	0,25
3	497	502	499,7	1,27	0,25
4	498	502	500,0	1,23	0,25
5	499	505	500,7	1,63	0,33
6	498	503	500,8	1,52	0,30
7	498	503	500,6	1,76	0,35
8	497	503	500,5	1,61	0,32
9	498	502	500,1	1,02	0,20
10	499	504	501,8	1,44	0,29

Vse serije tablet ustrezajo preskusu enakomernosti mase, saj masa nobene tablete ne odstopa od povprečja za več kot je predpisano.

6.1.2 Enakomernost vsebnosti enoodmernih farmacevtskih oblik

V Ph. Eur. 6th Ed. je predpisan interval vsebnosti učinkovine za enoodmerne FO med 85% in 115% teoretične mase učinkovine v tableti.

Preglednica V: Enakomernost vsebnosti za nekatere serije tablet (n=3). V vseh serijah tablet je teoretična masa amoksicilina 100 mg. Natančna sestava tablet je prikazana v preglednici II.

Serijska	Najmanjša masa AMX (mg)	Največja masa AMX (mg)	Povprečna masa AMX (mg)	SD (mg)	RSD (%)
34	92,4	98,8	95,6	3,22	3,37
35	95,5	98,8	96,7	1,85	1,91
7	100,3	103,2	101,7	1,46	1,43
8	94,2	101,6	98,7	3,98	4,03
9	98,1	101,4	99,8	1,67	1,67

Iz preglednice V vidimo, da izdelane tablete ustrezajo preskusu enakomernosti vsebnosti po Ph. Eur. 6th Ed. Vendar zaradi majhnega vzorca, na katerem smo izvedli preskus, tega ne moremo z gotovostjo trditi. Dobili pa smo okvirno potrditev, da tablete vsebujejo predpisano količino učinkovine.

6.1.3 Trdnost tablet

Preskus trdnosti smo določili vsem serijam tablet po Ph. Eur. 6th Ed. Naš namen je bil izdelati tablete s trdnostjo med 50 in 70 N, kar nam je tudi uspelo.

Preglednica VI: Trdnost izdelanih serij tablet (n=10). Natančna sestava tablet je prikazana v preglednici II.

Serijska	Najmanjša trdnost (N)	Največja trdnost (N)	Povprečna trdnost (N)	SD (N)	RSD (%)
34	58,0	65,2	63,2	3,02	4,78
35	54,1	59,0	57,1	1,93	3,39
1	52,2	59,3	56,1	3,20	5,71
2	52,4	56,6	53,9	1,74	3,22
3	49,5	54,8	53,1	2,09	3,94
4	52,7	59,6	54,6	2,92	5,35
5	49,5	60,9	54,2	4,15	7,65
6	55,3	58,6	57,3	1,32	2,30
7	51,5	59,9	56,1	2,84	5,06
8	50,5	58,8	54,4	2,47	4,54
9	50,5	58,7	53,7	2,36	4,39
10	55,5	57,7	56,9	0,84	1,47

6.2 DOLOČITEV ENAČB UMERITVENIH PREMICE

Preglednica VII: Površine pod krivuljo (PPK) za znane koncentracije AMX v medijih 1 in 2. C_0 je koncentracija osnovne raztopine (mg/mL).

	MEDIJ 1				MEDIJ 2			
	1. paralelka		2. paralelka		1. paralelka		2. paralelka	
redčenje	c (mg/mL)	PPK	c (mg/mL)	PPK	c (mg/mL)	PPK	c (mg/mL)	PPK
1/100	0,00203	5283	0,00202	5323	0,00209	5259	0,00211	5457
1/50	0,00406	10306	0,00405	10231	0,00418	10342	0,00422	11231
1/20	0,01014	27736	0,01012	26283	0,01045	26277	0,01054	27246
1/10	0,02028	52574	0,02025	51684	0,02091	53606	0,02108	52874
5/20	0,05071	128176	0,05062	126063	0,05228	132747	0,05271	132547
5/10	0,10142	254946	0,10124	254900	0,10455	267270	0,10542	267515
C_0	0,20283	507619	0,20248	501835	0,20910	534907	0,21085	530140

Preglednica VIII: Površine pod krivuljo (PPK) za znane koncentracije AMX v medijih 3 in 4. C_0 je koncentracija osnovne raztopine (mg/mL).

	MEDIJ 3				MEDIJ 4			
	1. paralelka		2. paralelka		1. paralelka		2. paralelka	
redčenje	c (mg/mL)	PPK	c (mg/mL)	PPK	c (mg/mL)	PPK	c (mg/mL)	PPK
1/100	0,00210	5341	0,00206	5138	0,00208	5978	0,00204	5643
1/50	0,00420	10314	0,00413	10064	0,00416	10817	0,00407	10351
1/20	0,01049	25037	0,01032	24396	0,01039	27359	0,01018	25812
1/10	0,02099	52471	0,02065	49394	0,02078	53271	0,02036	52012
5/20	0,05247	127640	0,05162	126008	0,05195	131444	0,05090	127637
5/10	0,10494	257318	0,10325	249597	0,10390	262208	0,10181	258524
C_0	0,20999	510014	0,20649	497203	0,20780	521702	0,20361	511840

Preglednica IX: Površine pod krivuljo (PPK) za znane koncentracije AMX v medijih 5 in 6. C_0 je koncentracija osnovne raztopine (mg/mL).

	MEDIJ 5				MEDIJ 6			
	1. paralelka		2. paralelka		1. paralelka		2. paralelka	
redčenje	c (mg/mL)	PPK	c (mg/mL)	PPK	c (mg/mL)	PPK	c (mg/mL)	PPK
1/100	0,00210	5003	0,00210	5221	0,00204	4651	0,00225	5341
1/50	0,00420	10298	0,00421	10252	0,00408	9196	0,00449	11376
1/20	0,01050	25812	0,01052	25986	0,01020	24772	0,01123	26704
1/10	0,02101	49039	0,02103	50210	0,02040	48668	0,02245	53025
5/20	0,05252	125512	0,05258	125505	0,05099	122873	0,05613	128844
5/10	0,10503	255242	0,10516	256238	0,10198	240853	0,11226	255331
C_0	0,21006	500381	0,21032	502778	0,20396	476120	0,22453	504720

Preglednica X: Enačba umeritvenih premic za AMX v različnih medijih. Podana je tudi enačba za izračun koncentracije AMX po 24 urah v mg/mL.

	Enačba umeritvene premice	Koncentracija AMX po 24 urah
medij 1	$PPK = 2488959,45 \times c + 1136,94$ $c = (PPK - 1136,94) / 2488959,45$ $R^2 = 0,9999$	$PPK = 2187715,88 \times c + 746,12$ $c = (PPK - 746,12) / 2187715,88$ $R^2 = 0,9999$
medij 2	$PPK = 2537151,96 \times c + 74,16$ $c = (PPK - 74,16) / 2537151,96$ $R^2 = 0,9999$	$PPK = 2496217,64 \times c - 120,12$ $c = (PPK + 120,12) / 2496217,64$ $R^2 = 0,9999$
medij 3	$PPK = 2420765,01 \times c + 326,59$ $c = (PPK - 326,59) / 2420765,01$ $R^2 = 0,9999$	$PPK = 1746514,34 \times c - 566,86$ $c = (PPK + 566,86) / 1746514,34$ $R^2 = 0,9999$
medij 4	$PPK = 2511299,99 \times c + 753,73$ $c = (PPK - 753,73) / 2511299,99$ $R^2 = 1,0000$	$PPK = 2256561,26 \times c + 709,61$ $c = (PPK - 709,61) / 2256561,26$ $R^2 = 0,9999$
medij 5	$PPK = 2391840,79 \times c + 489,81$ $c = (PPK - 489,81) / 2391840,79$ $R^2 = 0,9999$	$PPK = 2337570,28 \times c - 259,31$ $c = (PPK + 259,31) / 2337570$ $R^2 = 0,9999$
medij 6	$PPK = 2284589,70 \times c + 1653,22$ $c = (PPK - 1653,22) / 2284589,70$ $R^2 = 0,9993$	$PPK = 1096142,24 \times c - 197,15$ $c = (PPK + 197,15) / 1096142,24$ $R^2 = 0,9928$

6.3 PRELIMINARNI TESTI SPROŠČANJA AMOKSICILINA IN PLAVANJA TABLET

Preglednica XI: Delež sproščenega amoksicilina v odvisnosti od časa in hitrost splavanja tablet v mediju 1 (fosfatni pufer, pH=3,0, $\mu=0,04$ M). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M1	SERIJA 34		SERIJA 35		SERIJA 35 (mrežica)	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	5,37	0,32	32,15	0,30	35,39	0,31
1	8,87	0,58	35,03	0,23	39,25	0,37
2	14,53	0,54	39,96	0,49	46,17	1,19
4	24,64	1,33	51,31	2,04	56,40	0,69
6	32,61	1,38	61,03	3,53	62,12	1,02
8	39,73	1,63	65,26	3,07	67,54	1,05
12	51,29	2,02	75,69	2,60	75,50	2,05
16	61,08	2,33	79,88	1,37	80,88	1,41
24	70,53	2,94	81,93	2,52	86,74	2,14
M1	Povprečen čas splavanja (min)	SD (min)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (min)	Tablete so zaradi mrežic potopljene ves čas poskusa (24 ur).	
	13,3 minut	0,82	6,2 minut	0,29		
	Vse tablete plavajo ves čas poskusa (24 ur).		Vse tablete plavajo ves čas poskusa (24 ur).			

Preglednica XII: Delež sproščene amoksicilina v odvisnosti od časa in hitrost splavanja tablet v mediju 4 (fosfatni pufer, pH=3,0, μ =0,24 M). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M4	SERIJA 34		SERIJA 35		SERIJA 35 (mrežica)	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	2,84	0,30	22,48	0,35	34,02	0,95
1	4,60	0,18	24,42	0,56	36,43	1,01
2	7,88	0,75	26,53	0,32	40,63	0,81
4	13,52	3,40	30,51	0,14	45,29	1,59
6	18,32	3,38	32,19	0,70	47,80	2,12
8	26,88	2,67	35,47	2,42	52,88	3,01
12	45,08	2,43	45,41	4,66	62,46	4,06
16	57,53	2,23	53,88	3,58	69,42	3,76
24	65,64	1,09	56,06	0,93	77,67	4,12
M4	Povprečen čas splavanja (min)	SD (min)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (min)	Tablete so zaradi mrežic potopljene ves čas poskusa (24 ur).	
	2,6 minut	0,14	< 1 minuta	0		
	Vse tablete plavajo ves čas poskusa (24 ur).		Vse tablete plavajo ves čas poskusa (24 ur).			

Preglednica XIII: Delež sproščene amoksicilina v odvisnosti od časa in hitrost splavanja tablet v mediju 1 (fosfatni pufer, pH=3,0, μ =0,04 M). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M1	SERIJA 1		SERIJA 2		SERIJA 3	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	36,57	2,20	32,79	1,12	84,47	7,09
1	40,89	2,57	37,88	0,28	88,60	4,20
2	47,39	2,88	43,40	0,20	91,34	3,42
4	56,66	2,48	53,48	1,34	91,52	2,47
6	63,66	4,97	61,84	1,34	90,74	1,66
8	66,18	5,63	67,89	1,68	87,71	2,03
12	71,18	5,82	69,01	2,35	78,96	1,77
16	71,21	5,63	68,66	1,95	77,53	1,91
24	70,82	5,45	64,72	1,86	69,07	1,09
M1	Povprečen čas splavanja (s)	SD (s)	Povprečen čas splavanja (s)	SD (s)	Povprečen čas splavanja (s)	SD (s)
	11,3 sekund	1,5	< 10 sekund	0	< 10 sekund	0
	Vse tablete plavajo ves čas poskusa (24 ur).		Vse tablete plavajo ves čas poskusa (24 ur).		Tablete popolnoma razpadejo po 24 urah.	

Preglednica XIV: Delež sproščene amoksicilina v odvisnosti od časa in hitrost splavanja tablet v mediju 1 (fosfatni pufer, pH=3,0, $\mu=0,04$ M). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M1	SERIJA 4		SERIJA 5		SERIJA 6	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	33,85	1,74	35,16	2,19	32,04	2,54
1	38,41	1,84	37,71	2,11	36,19	3,06
2	45,21	2,42	42,03	1,78	44,83	3,36
4	54,64	2,41	48,67	1,71	59,09	3,47
6	60,98	2,66	55,09	1,76	65,20	3,48
8	65,12	2,49	59,78	2,60	71,93	3,95
12	67,30	2,97	63,99	3,70	75,75	1,23
16	67,72	3,43	67,19	3,52	79,35	3,67
24	67,08	3,01	75,39	4,68	81,16	5,57
M1	Povprečen čas splavanja (s)	SD (s)	Povprečen čas splavanja (s)	SD (s)	Povprečen čas splavanja (s)	SD (s)
	16,7 sekund	2,9	15 sekund	1,0	13,3 sekund	2,9
	Vse tablete plavajo ves čas poskusa (24 ur).		Vse tablete plavajo ves čas poskusa (24 ur).		Vse tablete plavajo ves čas poskusa (24 ur).	

6.3.1 REZULTATI RAZTAPLJANJA AMOKSICILINA OB PRISOTNOSTI ZMESI PRAHOV RAZLIČNIH SERIJ TABLET

Preskus smo izvedli tako, da smo v 800 mL medija 1 dali sestavine različnih serij tablet v obliki zmesi prahov. Količina vseh natehtanih sestavin je bila enaka količini učinkovine in pomožnih snovi v tabletah iz serij 7, 8, 9.

Preglednica XV: Delež raztopljenega amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 1 (fosfatni pufer, pH=3,0, $\mu=0,04$ M). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M1	SESTAVINE SERIJE 7		SESTAVINE SERIJE 8		SESTAVINE SERIJE 9	
Čas (h)	Delež raztopljene učinkovine (%)	SD (%)	Delež raztopljene učinkovine (%)	SD (%)	Delež raztopljene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	75,74	4,68	75,17	2,91	95,26	7,08
1	77,70	6,44	77,40	4,10	94,43	5,44
2	77,26	6,18	81,30	5,52	93,62	4,08
4	75,28	6,38	82,29	5,12	89,99	3,79
6	74,18	5,48	81,28	3,88	86,71	3,67
8	72,32	5,33	78,27	3,60	83,93	2,68
12	66,82	3,88	71,23	3,17	74,87	0,71
16	64,67	2,87	68,03	2,24	70,51	1,03
24	58,20	2,51	59,95	1,90	63,20	1,10

Preglednica XVI: Delež raztopljenega amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 2 (fosfatni pufer, pH=4,5, $\mu=0,05$ M). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M2	SESTAVINE SERIJE 7		SESTAVINE SERIJE 8		SESTAVINE SERIJE 9	
Čas (h)	Delež raztopljene učinkovine (%)	SD (%)	Delež raztopljene učinkovine (%)	SD (%)	Delež raztopljene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	77,05	7,04	83,09	2,47	94,58	1,65
1	84,49	12,04	86,37	2,56	95,97	0,37
2	88,74	13,94	88,85	3,43	96,08	0,73
4	91,27	12,54	92,89	3,64	96,18	1,61
6	92,20	10,49	96,74	2,99	95,11	1,74
8	91,35	8,98	95,69	2,42	94,28	1,19
12	91,24	6,37	94,52	1,92	93,06	1,14
16	90,60	4,99	93,65	2,00	92,67	0,44
24	88,72	4,05	91,25	1,17	88,98	0,69

6.3.2 REZULTATI RAZTAPLJANJA SAME UČINKOVINE TER UČINKOVINE V PRISOTNOSTI POMOŽNIH SNOVI

Preskus smo izvedli tako, da smo v 800 mL medija 1 natehtali 100 mg AMX ter merili količino raztopljenega AMX v odvisnosti od časa pri različni hitrosti vrtenja mešal.

Preglednica XVII: Masa raztopljenega amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 1 (fosfatni pufer, pH=3,0, $\mu=0,04$ M). Preskus smo izvajali pri 50 rpm, 100 rpm ter pri 100 rpm, kjer smo AMX predhodno popolnoma raztopili s pomočjo ultrazvoka.

AMOKSICILIN (rpm=50)			AMOKSICILIN (rpm=100)			AMOKSICILIN (rpm=100; ultrazvok)		
Čas (h)	Masa raztopljene učinkovine (mg)	SD (mg)	Čas (h)	Masa raztopljene učinkovine (mg)	SD (mg)	Čas (h)	Masa raztopljene učinkovine (mg)	SD (mg)
0,5	51,77	7,44	0,5	76,22	7,87	0,5	101,58	1,08
1	68,47	7,48	1	98,66	3,58	1	100,60	0,69
2	85,00	7,04	2	98,40	0,03	2	97,86	0,02
4	90,60	0,23	3	97,18	0,02	3	95,46	0,67
6	87,77	0,88	4	93,74	0,16	4	93,62	0,67
			5	93,14	0,09	5	92,72	0,30
			6	90,26	0,46	6	88,83	0,68

Naslednji preskus smo izvedli tako, da smo v 800 mL medija 1 natehtali 100 mg AMX in eno pomožno snov. Količina vsake pomožne snovi je bila enaka količini le-te v tabletah serije 35. Merili smo količino raztopljenega AMX v odvisnosti od časa.

Preglednica XVIII: Masa raztopljenega amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 1 (fosfatni pufer, pH=3,0, $\mu=0,04$ M). Prikazane so različne kombinacije učinkovine ter ene od pomožnih snovi.

Čas (h)	AMOKSICILIN in KSANTAN		AMOKSICILIN in NaHCO ₃		AMOKSICILIN in MCC		AMOKSICILIN in Mg-STEARAT	
	Masa raztopljene učinkovine (mg)	SD (mg)	Masa raztopljene učinkovine (mg)	SD (mg)	Masa raztopljene učinkovine (mg)	SD (mg)	Masa raztopljene učinkovine (mg)	SD (mg)
0,5	50,48	2,30	81,61	9,46	55,11	0,73	50,22	1,12
1	62,64	2,20	91,49	6,23	70,27	1,46	64,04	3,66
2	76,58	1,15	97,85	1,70	85,75	4,78	82,00	4,90
4	87,59	0,22	94,25	0,08	87,29	3,66	92,40	0,11
6	88,31	0,01	90,34	0,15	85,44	2,81	89,94	0,11

Naslednji preskus smo izvedli tako, da smo v 800 mL medija 1 pri konstantni hitrosti vrtenja mešal (rpm=50) raztapljali 100 mg AMX. V prvem primeru smo raztapljali sam amoksicilin, v drugem pa amoksicilin v prisotnosti pomožnih snovi serije 35. Količina vseh pomožnih snovi je enaka količini le-teh v seriji 35.

Preglednica XIX: Masa raztopljenega amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 1 (fosfatni pufer, pH=3,0, $\mu=0,04$ M). V prvem primeru smo raztapljali sam amoksicilin, v drugem pa amoksicilin v prisotnosti pomožnih snovi serije 35.

Čas (h)	AMOKSICILIN		AMOKSICILIN IN POMOŽNE SNOVI SERIJE 35	
	Masa raztopljene učinkovine (mg)	SD (mg)	Masa raztopljene učinkovine (mg)	SD (mg)
0	100,65	1,05	98,74	0,25
1	99,32	0,01	96,79	0,02
2	96,71	0,01	95,53	0,26
4	92,12	0,49	92,92	0,08
6	87,76	0,15	90,30	0,19
24	65,96	0,50	73,76	0,32
27	61,77	0,57	71,12	1,56
30	58,06	0,04	68,18	0,72
48	44,44	0,79	53,55	2,16

6.4 REZULTATI PLAVANJA IN SPROŠČANJA AMOKSICILINA IZ IZBRANIH SERIJ TABLET

Preglednica XX: Hitrost splavanja izbranih serij tablet v različnih medijih. Natančna sestava medijev je prikazana v preglednici III.

	SERIJA 7		SERIJA 8		SERIJA 9	
	Povprečen čas splavanja (min)	SD (min)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (min)	Povprečen čas splavanja (s)	SD (s)
M1 (rpm=50)	0,25	0	3,5	0,28	< 10	0
M1 (rpm=100)	5,4	0,12	4,9	0,06	< 10 *	0
M2	7,4	0,10	6,5	0,60	< 15	0
M3	0,25	0	4,1	0,48	< 15 **	0
M4	0,25	0	0,25	0	< 15	0
M5	0,25	0	0,25	0	< 15	0
M6	0,25	0	0,96	0,04	< 20 ***	0

* Tablete popolnoma razpadejo po 24 urah.

** Tablete na začetku plavajo na površju medija, vendar po 1,5 ure popolnoma razpadejo.

*** Po približno 4,5 ure so se tablete potopile. Po 24 urah so popolnoma razpadle.

Vse ostale tablete plavajo ves čas poskusa (24 ur). Ogrodje ostalih tablet je po 24 urah še vedno vidno.

Preglednica XXI: Delež sproščenega amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 1 (fosfatni pufer, pH=3,0, $\mu=0,04$ M). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M1	SERIJA 7		SERIJA 8		SERIJA 9	
	Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)
0,5	27,732	0,932	34,980	0,770	32,989	1,103
1	30,766	0,930	37,515	0,495	36,824	1,494
2	35,943	1,171	41,935	0,593	45,005	2,286
4	44,476	2,374	49,684	0,868	58,066	3,515
6	51,139	2,790	55,158	1,477	65,286	3,989
8	55,549	2,714	58,123	1,426	69,231	4,170
12	58,252	2,763	60,829	2,036	73,547	2,026
16	61,204	1,861	65,198	3,092	74,647	1,036
24	62,580	4,198	68,860	3,154	73,705	1,566

Preglednica XXII: Delež sproščene amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 1 (fosfatni pufer, pH=3,0, $\mu=0,04$ M). Povečana hitrost vrtenja mešal (rpm=100).

M1	SERIJA 7 (rpm=100)		SERIJA 8 (rpm=100)		SERIJA 9 (rpm=100)	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	34,123	0,556	35,250	0,164	33,722	0,934
1	38,005	1,246	37,982	0,021	39,401	1,125
2	44,259	1,381	42,468	0,219	47,982	1,077
4	52,791	0,737	48,223	0,556	58,089	1,435
6	61,296	0,137	55,305	1,956	64,771	1,670
8	66,795	0,964	62,978	0,932	70,512	1,522
12	69,669	1,263	68,655	0,052	74,060	0,548
16	71,703	1,923	72,662	0,799	73,531	1,158
24	70,532	5,408	72,967	0,490	72,791	0,535

Preglednica XXIII: Delež sproščene amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 2 (fosfatni pufer, pH=4,5, $\mu=0,05$ M). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M2	SERIJA 7		SERIJA 8		SERIJA 9	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	32,454	0,759	35,055	0,706	33,311	1,720
1	35,431	1,096	38,228	0,333	37,131	1,468
2	40,405	0,992	42,312	0,374	44,146	1,383
4	48,201	1,458	49,855	0,488	58,012	1,882
6	54,945	1,857	56,175	0,735	68,411	3,350
8	60,681	2,187	61,014	0,242	74,670	3,026
12	67,814	0,588	70,085	0,412	77,890	2,632
16	74,006	0,496	73,666	1,588	78,597	1,965
24	77,638	1,925	80,436	2,967	78,585	1,737

Preglednica XXIV: Delež sproščene amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 3 (fosfatni pufer, pH=6,8, $\mu=0,71$ M). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M3	SERIJA 7		SERIJA 8		SERIJA 9	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	27,837	1,422	31,389	2,661	84,196	6,561
1	29,209	1,833	31,978	2,751	92,578	2,253
2	30,708	1,673	33,611	2,545	86,976	2,542
4	34,448	1,605	36,267	1,998	78,152	3,162
6	36,285	1,886	37,809	1,978	70,213	2,346
8	36,677	1,420	37,861	1,750	64,103	2,640
12	28,007	0,227	29,022	1,530	39,888	1,145
16	26,735	0,588	29,236	2,573	33,637	1,133
24	23,657	0,499	27,960	1,878	26,795	0,739

Preglednica XXV: Delež sproščene amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 4 (fosfatni pufer, pH=3,0, $\mu=0,24$ M). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M4	SERIJA 7		SERIJA 8		SERIJA 9	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	22,059	0,406	25,506	1,559	23,218	2,353
1	23,663	0,463	26,558	1,658	25,916	1,842
2	25,157	0,439	28,253	1,315	28,754	1,969
4	26,594	0,868	29,848	1,136	33,290	3,479
6	31,597	0,113	34,586	0,730	34,989	0,228
8	36,464	0,300	39,505	0,310	38,681	0,649
12	42,864	0,135	46,239	1,391	45,893	0,548
16	46,952	1,230	51,894	0,070	54,525	1,550
24	47,738	1,979	53,763	0,390	61,100	1,124

Preglednica XXVI: Delež sproščene amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 5 (fosfatni pufer, pH=4,5, $\mu=0,25$ M). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M5	SERIJA 7		SERIJA 8		SERIJA 9	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	24,678	0,544	27,052	0,721	23,545	1,409
1	26,573	0,562	28,372	0,891	26,105	1,483
2	28,621	0,899	30,181	0,829	29,653	2,092
4	30,919	0,694	31,796	1,006	35,759	3,261
6	31,837	1,135	33,316	0,231	38,877	2,452
8	32,729	2,220	34,499	0,794	43,178	0,987
12	33,515	2,020	32,916	1,203	53,375	1,033
16	35,922	4,862	33,093	0,874	62,259	3,289
24	37,536	6,475	32,921	2,423	74,284	2,177

Preglednica XXVII: Delež sproščene amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju 6 (raztopina HCl, pH=1,2). Konstantna hitrost vrtenja mešal (rpm=50).

M6	SERIJA 7		SERIJA 8		SERIJA 9	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	30,639	0,230	33,600	0,382	25,494	0,409
1	29,864	0,611	33,829	0,430	27,939	0,560
2	30,115	0,795	34,663	0,441	33,178	0,625
4	32,663	0,500	37,730	0,966	44,186	1,442
6	33,579	0,899	38,878	0,440	48,275	1,788
8	34,026	0,968	36,530	1,066	50,404	0,704
12	15,555	1,032	17,353	0,898	18,145	0,365
16	12,336	0,465	13,926	0,418	13,399	0,548
24	7,625	0,196	7,816	0,592	8,339	0,603

7 RAZPRAVA

Za zdravljenje okužb z bakterijo *H. pylori* se uporabljajo različni antibiotiki: klaritromicin, metronidazol, amoksicilin (AMX). Za vgradnjo AMX v dvoplastne plavajoče tablete smo se odločili, ker je rezistenca *H. pylori* na AMX manjša kot pri drugih antibiotikih (26). AMX je učinkovita zdravilna učinkovina, saj je njegova minimalna inhibitorna koncentracija, ki uniči 90% vseh sevov *H. pylori* (MIC₉₀), razmeroma nizka in znaša 0,12 mg/L (29,74). Strokovnjaki predvidevajo, da je absorpcija antibiotika direktno skozi mukusno plast iz lumna želodca boljši način zdravljenja okužb s *H. pylori*, kot pa absorpcija skozi bazolateralno membrano (27). S podaljšanim časom zadrževanja FO v želodcu lahko kljub manjšemu odmerku AMX ohranimo zadostno koncentracijo učinkovine v želodcu, poleg tega pa zmanjšamo možnost pojava neželenih učinkov. V tablete smo vedno vgradili 100 mg AMX, čeprav je trenutni režim zdravljenja okužb s *H. pylori* z dosti večjimi odmerki antibiotikov (preglednica I).

Poskuse sproščanja AMX in plavanja tablet smo izvajali na napravi 2 po USP (naprava z vesli). Običajno se testi sproščanja zdravilne učinkovine v želodcu opravljajo v umetnem želodčnem soku s pH 1,2 (10,74). Mi smo preskuse raztapljanja izvajali v fosfatnem pufru s pH 3,0. Za manj kisle pogoje smo se odločili iz več razlogov. Pri okužbi s *H. pylori* se vrednosti pH v želodcu povečajo in lahko narastejo celo do vrednosti pH 6 (5,31). Poleg antibiotikov se pri zdravljenju okužb s *H. pylori* uporabljajo tudi inhibitorji protonske črpalke (IPČ), ki zavirajo izločanje želodčne kisline, ter antacidi, kar še dodatno poviša pH vrednosti v želodcu. Znano je tudi, da AMX pri ekstremno nizkem pH-ju ni stabilen in pri pH 1,2 močno razpada (49). Kot rečeno, pri okužbah s *H. pylori* ni pričakovati zelo nizkih pH vrednosti, zato smo preskuse sproščanja opravljali pri pH 3,0.

Za izhodiščno točko proučevanja sproščanja AMX smo izbrali rezultate predhodne diplomske naloge (31). V njej so ugotovili, katere pomožne snovi morajo biti prisotne v tabletah, da le-te hitro splavajo (prej kot v 15 minutah), ostanejo koherentne vsaj 8 ur in v tem času upočasnjeno sproščajo zdravilno učinkovino. Rezultati preliminarnih študij so privedli do dveh serij tablet, ki sta izkazovali najboljše lastnosti glede plavanja in sproščanja zdravilne učinkovine: serija 34 in serija 35 (preglednica II). Ti dve vrsti tablet smo izdelali tudi v pričujočem diplomskem delu in tako potrdili ponovljivost njihove

priprave ter poskuse plavanja in sproščanja AMX. V preliminarnih testih smo ugotavljali vpliv pomožnih snovi na raztapljanje AMX in njegovo stabilnost v različnih medijih. Nato smo nameravali proučiti sproščanje AMX in plavanje različnih serij tablet in optimirati sestavo glede na te rezultate.

Preliminarne poskuse sproščanja smo izvajali v fosfatnem pufru s pH 3,0 pri različni ionski moči. Izbrane serije tablet smo nato raztapljali pri različnih pH vrednostih (pri pH 1,2; 3,0; 4,5 in 6,8), prav tako pri različni ionski moči. Ionsko moč osnovnih medijev (pH 3,0 in pH 4,5) smo povečali za 0,2 M z dodatkom $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ in tako dobili medije z višjo ionsko močjo pri pH 3,0 in pH 4,5. Ionsko moč medijev smo izračunali po enačbi 6 (75):

$$\mu = \frac{1}{2} \times \sum_{i=1}^i c_i \times z_i^2$$

/enačba 6/

c_i -koncentracija posameznih ionov (mol/L)

z_i -naboj posameznih ionov

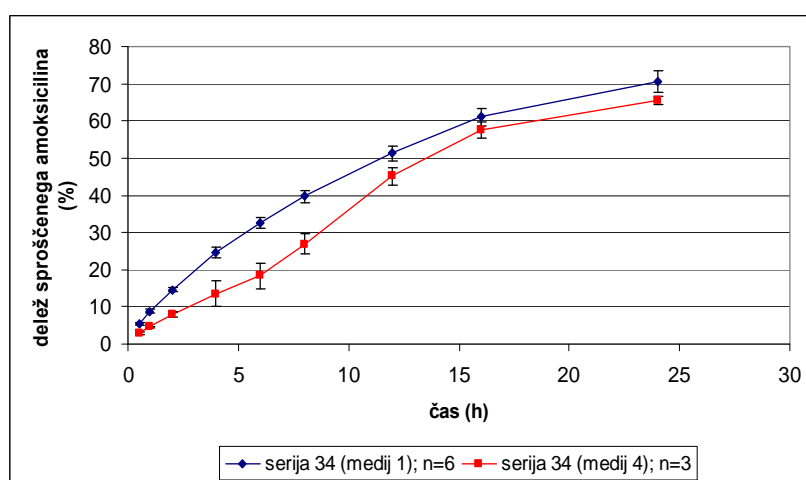
Za nižjo oziroma višjo ionsko moč medijev za sproščanje z enakimi pH vrednostmi smo se odločili, ker se v želodcu ionska moč spreminja. V literaturi smo našli podatke, da znaša ionska moč v želodcu med 0,010 in 0,166 M, po obroku pa se poveča in je bolj podobna ionski moči zaužite hrane (31,76). Tem vrednostim ionskih moči smo se poskusili približati z našimi mediji za sproščanje.

7.1 PRELIMINARNI TESTI

7.1.1 SPROŠČANJE AMOKSICILINA IZ TABLET SERIJ 34 IN 35

Serija 34 predstavlja enoplastne tablete s podaljšanim sproščanjem učinkovine z naslednjo sestavo: 114,8 mg amoksicilin trihidrata (ustreza 100 mg amoksicilina), ksantan, NaHCO_3 , MCC ter Mg-stearat. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

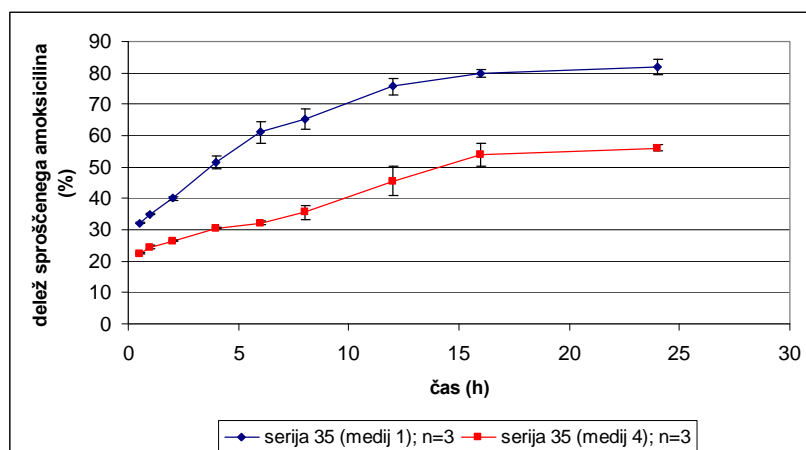
Tablete iz serije 34 smo raztapljali v fosfatnem pufru s pH 3,0 in ionsko močjo $\mu=0,04$ M (medij 1). Nato smo preverili, kakšen vpliv ima povišana ionska moč na sproščanje AMX, in tablete raztapljali še v fosfatnem pufru s pH 3,0 in večjo ionsko močjo $\mu=0,24$ M (medij 4). Rezultati sproščanja AMX so prikazani na sliki 19. Ugotovili smo, da je sproščanje AMX iz enoplastnih tablet hitrejše pri nižji ionski moči (medij 1). Razlogov za to je lahko več. Najverjetnejši je ta, da je pri nižji ionski moči manj molekul vode vezanih na ione v samem mediju. Ker je na voljo več molekul vode, le-ta lažje prodre v ogrodje tablete in AMX se hitreje sprošča.



Slika 19: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina iz enoplastnih tablet (serija 34) pri pH 3,0 (medij 1) in pri pH 3,0 pri višji ionski moči (medij 4). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

Serija 35 predstavlja dvoplastne tablete s podaljšanim sproščanjem učinkovine. Prva plast je bila sestavljena iz 34,4 mg amoksicilin trihidrata (ustreza 30,0 mg amoksicilina), NaHCO_3 in MCC, drugo plast tablete je sestavljalo 80,4 mg amoksicilin trihidrata (ustreza 70,0 mg amoksicilina), ksantan, NaHCO_3 , MCC in Mg-stearat. Prva plast tablete vsebuje 30% celokupne mase AMX, ki bi se sprostil takoj ob vstopu tablete v želodec. Druga plast tablete bi bila zadolžena za vzdrževanje koncentracije AMX, saj bi se AMX enakomerno sproščal.

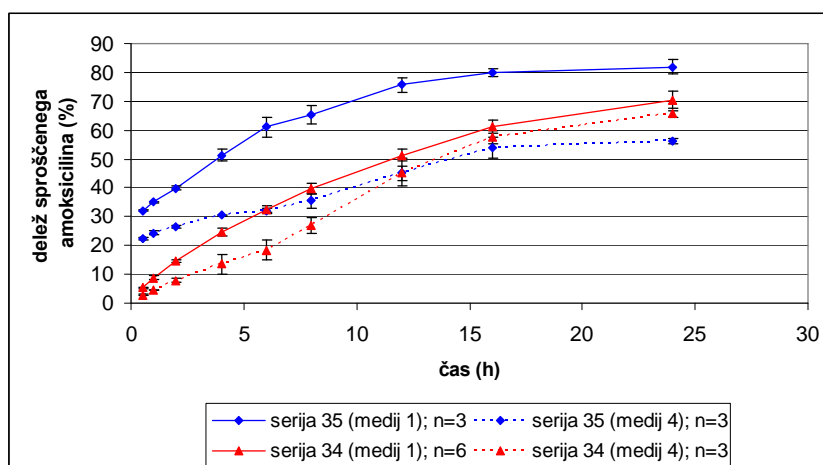
Tablete iz serije 35 smo raztapljali v fosfatnem pufru s pH 3,0 in ionsko močjo $\mu=0,04$ M (medij 1). Znova smo preverili, kakšen vpliv ima povišana ionska moč na sproščanje AMX, in izvedli sproščanje še pri višji ionski moči (medij 4). Rezultati sproščanja AMX iz dvoplastnih tablet serije 35 so prikazani na sliki 20.



Slika 20: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet (serija 35) pri pH 3,0 (medij 1) in pri pH 3,0 pri višji ionski moči (medij 4). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

Ugotovili smo, da je tudi pri dvoplastnih tabletah sproščanje AMX hitrejše pri nižji ionski moči (medij 1). V prvih 30 minutah se je sprostil ves AMX iz prve plasti in del AMX iz druge plasti, ki je odgovorna za vzdrževanje odmerka. Takoj po stiku tablete z medijem je prva plast tablete razpadla in AMX se je raztopil. Nato se je AMX sproščal samo iz druge plasti, zato se je sproščanje upočasnilo. V mediju z višjo ionsko močjo (medij 4) se je sicer sprostil ves AMX iz prve plasti, vendar se v prvih 30 minutah še ni povsem raztopil. Razlogi so najverjetneje podobni kot pri tabletah serije 34.

Primerjali smo sproščanje AMX iz enoplastnih tablet (serija 34) in dvoplastnih tablet (serija 35) (slika 21).

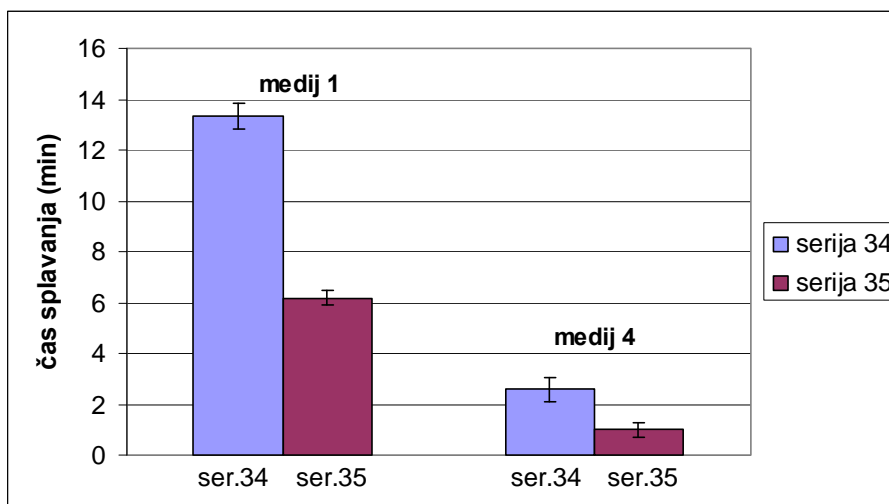


Slika 21: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina iz enoplastnih tablet (serija 34) in iz dvoplastnih tablet (serija 35) v medijih 1 in 4. V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

Iz grafa na sliki 21 je razvidno, da je sproščanje AMX večje pri dvoplastnih tabletah v fosfatnem pufru s pH 3,0 in nižjo ionsko močjo (medij 1). Pri isti pH vrednosti in višji ionski moči (medij 4) je na začetku hitrost sproščanja AMX večja pri dvoplastnih tabletah, kjer je prva plast tablete takoj po stiku z medijem razpadla in AMX se je raztopil. Po približno 12 urah se je hitrost sproščanja AMX iz dvoplastnih tablet celo upočasnila v primerjavi z enoplastnimi tabletami.

7.1.2 PLAVANJE TABLET SERIJ 34 IN 35

Pri serijah 34 in 35 smo primerjali tudi hitrost splavanja tablet. Zanimalo nas je, ali obstaja razlika v času splavanja med enoplastnimi in dvoplastnimi tabletami (slika 22). Hitrost splavanja smo preverjali v mediju s pH 3,0 z nižano in zvišano ionsko močjo.



Slika 22: Primerjava hitrosti splavanja enoplastnih tablet (serija 34) in dvoplastnih tablet (serija 35) v mediju z nižano (medij 1) in zvišano (medij 4) ionsko močjo pri pH=3,0.

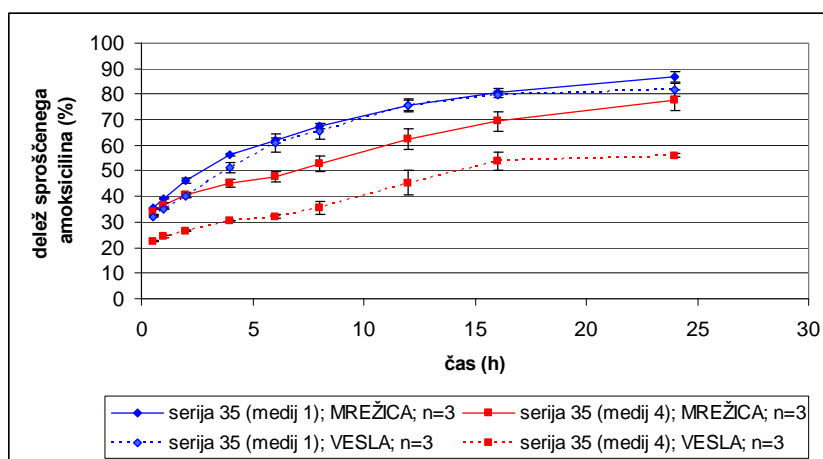
Enoplastne tablete (serija 34) potrebujejo približno 13 minut, da splavajo na površje medija 1. Dvoplastne tablete (serija 35) splavajo hitreje, saj potrebujejo približno polovico manj časa za splavanje. Pri dvoplastnih tabletah se prva plast, ki vsebuje AMX, MCC in NaHCO_3 , takoj ob stiku z medijem loči od preostalega dela tablete. Mehurčki CO_2 , ki se pri tem tvorijo, pomagajo pri razpadu plasti, hkrati pa potiskajo navzgor tudi drugo plast, ki s počasnim sproščanjem vzdržuje koncentracijo AMX. Ob ločitvi obeh delov tableta postane tanjša, medij lažje prodre v notranjost preostanka tablete in pride v stik z NaHCO_3 . Le-ta zato razpada v večji meri, kar omogoči hitrejšo splavanje tablet. V mediju z višjo

ionsko močjo (medij 4) dvoplastne tablete prav tako splavajo hitreje. Enoplastne tablete splavajo prej kot v 3 minutah, dvoplastne za splavanje potrebujejo manj kot minuto.

Če primerjamo čas splavanja iste serije tablet v različnih medijih, ugotovimo, da višja ionska moč skrajša čas splavanja oziroma poveča hitrost splavanja tablet. Razlog za tovrstno obnašanje smo poskusili poiskati v tem, da je osnovni polimer, ki upočasni sproščanje, polianionski ksantan. Le-ta ob stiku s Ca^{2+} ioni tvori čvrstejši gel, kar so dokazali z reološkimi študijami (70). Čvrstejši gel upočasni prodiranje vode in hkrati upočasni izhajanje CO_2 . Tako omogoči večje ujetje CO_2 v nastalo rešetko.

7.1.3 VPLIV POTOPITVE TABLET SERIJE 35 NA SPROŠČANJE AMOKSICILINA

Pri vseh dotedanjih preskusih smo ugotovili, da tako pri plavajočih enoplastnih (serija 34) kot dvoplastnih tabletah (serija 35) niti po 24-urnem sproščanju nismo dosegli, da bi se iz tablet sprostil 100% AMX. Predpostavili smo, da se bo iz tablet sprostil več učinkovine, če bodo tablete potopljene ves čas poskusa (slika 23). Uporabili smo posebno kovinsko mrežico, ki je tableti preprečevala, da bi splavala na površje medija. Pore v mrežici so imele dovolj veliko površino (1 cm^2), da niso motile mešanja medija okrog tablete. Poleg tega pore niso delovale kot dodatna prepreka za sproščanje AMX, v katere bi se sicer lahko ujel erodirani del ksantana.



Slika 23: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet (serija 35) z uporabo mrežic (tablete so potopljene) v mediju 1 in 4. Za primerjavo je podano še sproščanje amoksicilina iz iste serije tablet z uporabo vesel (tablete plavajo na površju) v mediju 1 in 4. V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

Iz grafa na sliki 23 vidimo, da je sproščanje AMX iz dvoplastnih tablet (serija 35) v mediju 1 neodvisno od tega, ali so tablete potopljene ali plavajo na površju medija. Pri večji ionski moči (medij 4) pa se sprosti večji delež AMX iz tistih dvoplastnih tablet, ki so bile potopljene ves čas poskusa (uporaba mrežic). Plavajoče tablete plavajo na površini medija, zato zgornja ploskev tablete ni vedno v neposrednem stiku z medijem. Pri potopljenih tabletah pa medij obdaja tableto z vseh strani. Površina, iz katere se AMX sprošča, je v tem primeru večja, zato dosežemo večje sproščanje učinkovine. Z uporabo mrežic žal nismo dosegli 100% sproščanja AMX po 24 urah. Odločili smo se, da pri nadaljnjih preskusih mrežic ne bomo uporabljali, pač pa bomo poskusili poiskati tako kombinacijo učinkovine in pomožnih snovi, da bi po 24 urah dosegli 100% delež sproščenega AMX.

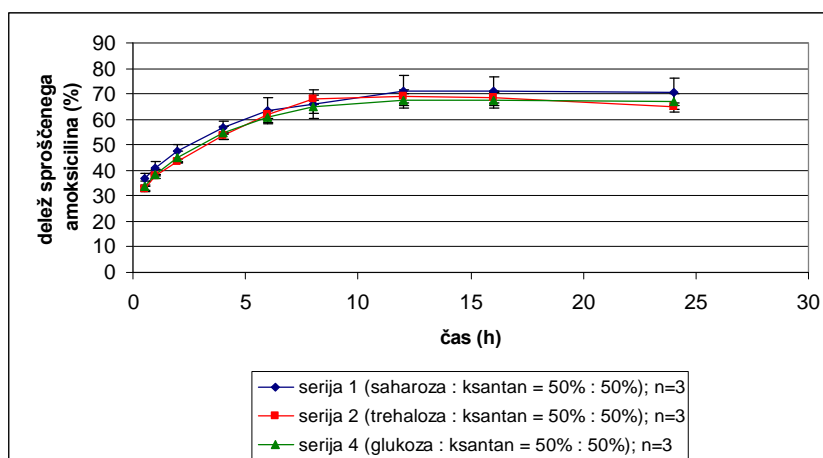
7.1.4 VPLIV VGRADNJE VODOTOPNIH POMOŽNIH SNOVI V KSANTANSKO OGRODJE NA SPROŠČANJE AMOKSICILINA

Delež sproščenega AMX smo poskušali povečati tako, da smo zmanjšali delež ksantana v tabletah in vanje vgradili različne vodotopne substance: glukozo, saharozo, trehalozo, maltodekstrin, semensko sluz rožičevca (LBG) ter hidroksipropilmetilcelulozo (HPMC K100LV). Predpostavili smo, da se bo vodotopna substanca v medijih za sproščanje hitro raztopila. Tako bi v gelski strukturi ksantana nastale pore, skozi katere bi se učinkovina sproščala hitreje.

Izdelali smo 6 različnih serij tablet. V vsaki seriji tablet je bilo razmerje med ksantanom in vodotopno substanco 1:1. Izhajali smo iz osnovnih dvoplastnih tablet (serija 35), kjer ksantan vsebuje samo tista plast tablete, ki je odgovorna za vzdrževanje koncentracije AMX. Masa ksantana v osnovnih dvoplastnih tabletah (serija 35) je bila 126,1 mg. Novo pripravljene tablete so vsebovale polovico manj polimera ksantana, torej 63,05 mg ksantana in 63,05 mg ustrezne vodotopne substance. Količino učinkovine in ostalih pomožnih snovi nismo spremenili. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

Iz osnovnih dvoplastnih tablet (serija 35) se je v 24 urah v fosfatnem pufru s pH 3,0 (medij 1) sprostil okoli 82% AMX. Z zmanjšanjem količine ksantana in vgradnjo vodotopne substance v tableto smo spremenili profil sproščanja učinkovine. Pri serijah 1,

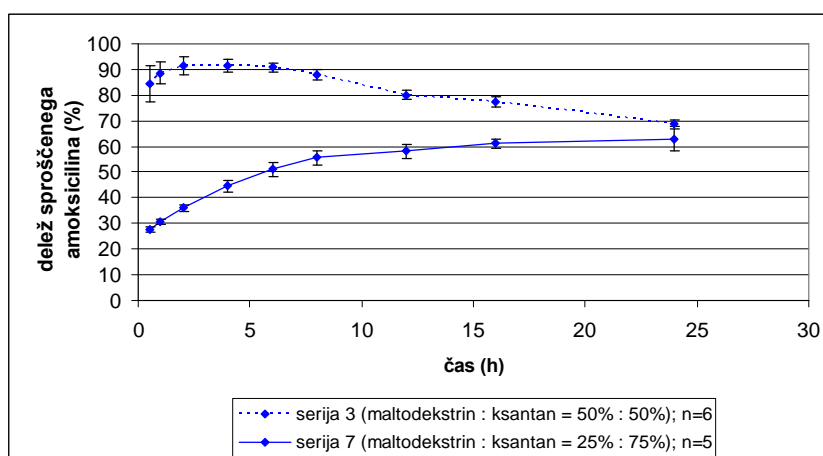
2, in 4 se je iz dvoplastnih tablet sprostil celo manj AMX kot iz referenčnih tablet iz serije 35 (slika 24).



Slika 24: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina v mediju 1 iz različnih dvoplastnih tablet (serije 1, 2 in 4). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

Iz rezultatov sproščanja AMX na sliki 24 je razvidno, da so profili sproščanja učinkovine zelo podobni za serije 1, 2 in 4. Po 24 urah se je sprostil okoli 70% učinkovine, kar je bilo manj od pričakovanih rezultatov. V nadaljnjih poskusih saharoze, trehaloze in glukoze nismo več uporabljali, saj s temi vodotopnimi substancami nismo dosegli želenega profila sproščanja učinkovine.

Pri tabletah iz serije 3, pri katerih je bilo razmerje med maltodekstrinom in ksantanom 1:1, smo opazili spremenjen profil sproščanja AMX (slika 25).

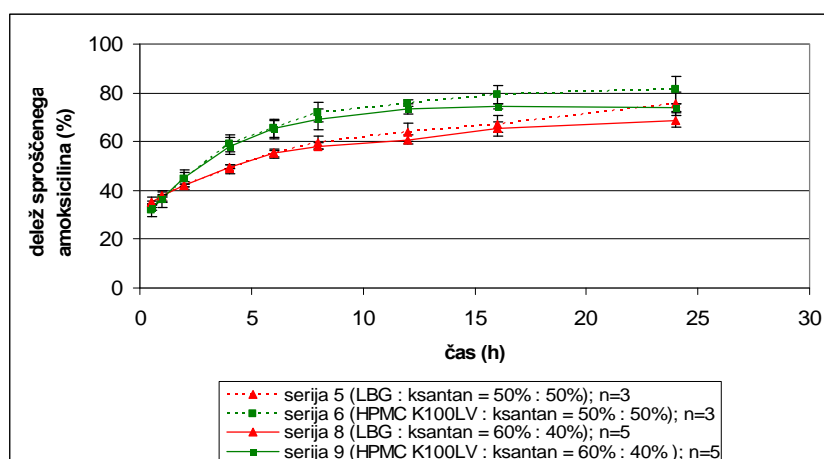


Slika 25: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina v mediju 1 iz različnih dvoplastnih tablet (seriji 3 in 7). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

Ugotovili smo, da večji delež maltodekstrina v tableti občutno pospeši hitrost sproščanja AMX (serija 3). Že na začetku se je raztopil ves sproščeni AMX iz prve plasti (30% celotne mase učinkovine) ter precejšnji del AMX iz druge plasti. Po 30 minutah je delež sproščenega AMX znašal kar 85%, po dveh urah se je sprostil že več kot 90% učinkovine. Sklepamo lahko, da je vzrok tako hitrega sproščanja AMX razpad tablet serije 3, saj so tablete hitro razpadale in po 24 urah popolnoma razpadle. Ne glede na to smo še naprej spremljali, kaj se bo dogajalo z AMX pri pH 3,0 (medij 1). Opazili smo, da je koncentracija AMX po 6-ih urah začela padati. To je bil prvi pokazatelj, da AMX v danem mediju ni stabilen, čeprav po literaturnih podatkih velja za enega bolj stabilnih β -laktamskih antibiotikov.

Da bi upočasnili hitrost sproščanja AMX v začetni fazi poskusa ter dosegli podaljšano sproščanje učinkovine tekom celotnih 24 ur, smo zmanjšali količino maltodekstrina v tableti. Izdelali smo novo serijo tablet z novim razmerjem maltodekstrina in ksantana (25%:75%) (serija 7). Pri seriji 7 smo z zmanjšanjem deleža vgrajenega maltodekstrina upočasnili hitrost sproščanja učinkovine (slika 25). Najprej se je sprostil ves AMX iz prve plasti (30% celotne mase učinkovine), nato se je AMX upočasnjeno sproščal iz preostalega dela tablete.

V tablete smo vgradili tudi semensko sluz rožičevca (LBG) v razmerju LBG:ksantan=1:1 (serija 5). V enakem razmerju vodotopne substance in ksantana smo naredili tudi tablete s hidroksipropilmetilcelulozo (HPMC K100LV) (serija 6) (slika 26).



Slika 26: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina v mediju 1 iz različnih dvoplastnih tablet (serije 5, 6, 8 in 9). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

Iz rezultatov na sliki 26 je razvidno, da smo povečali delež sproščene AMX pri serijah 5 in 6 (sprostilo se je 75% oziroma 81% učinkovine) v primerjavi s tabletami, pri katerih smo uporabili druge vodotopne substance v istem razmerju (serije 1, 2, 4) (slika 24). Nato smo povečali delež LBG in HPMC K100LV v tableti. Novo razmerje med LBG oziroma HPMC K100LV in ksantanom je bilo 60%:40%. Primerjali smo seriji 5 in 8 (tablete vsebujejo LBG) ter seriji 6 in 9 (tablete vsebujejo HPMC K100LV). Ugotovili smo, da se je iz tablet, ki so vsebovale HPMC K100LV, hitreje sprostilo več učinkovine kot iz tablet z LBG. Če primerjamo seriji 6 in 9, opazimo, da v prvih 6 urah ni bilo razlik v sproščanju AMX. Kasneje se je malenkost povečalo sproščanje učinkovine iz tablet, ki so vsebovale manj HPMC K100LV (HPMC K100LV:ksantan=50%:50%). Do enakih ugotovitev smo prišli tudi, ko smo HPMC K100LV zamenjali z LBG. Večje sproščanje AMX smo dosegli pri seriji 5 (LBG:ksantan=50%:50%). Ocenili smo, da med serijama 5 in 8 ter med serijama 6 in 9 ni bilo velike razlike pri sproščanju AMX. Odločili smo se, da bomo v nadaljnjih poskusih testirali seriji 8 in 9, saj smo pričakovali, da bomo večje sproščanje AMX v medijih z različnimi pH vrednostmi dosegli pri tistih serijah tablet, ki vsebujejo manj ksantana.

7.1.5 DOLOČANJE OSTANKA UČINKOVINE V TABLETI PO SPROŠČANJU

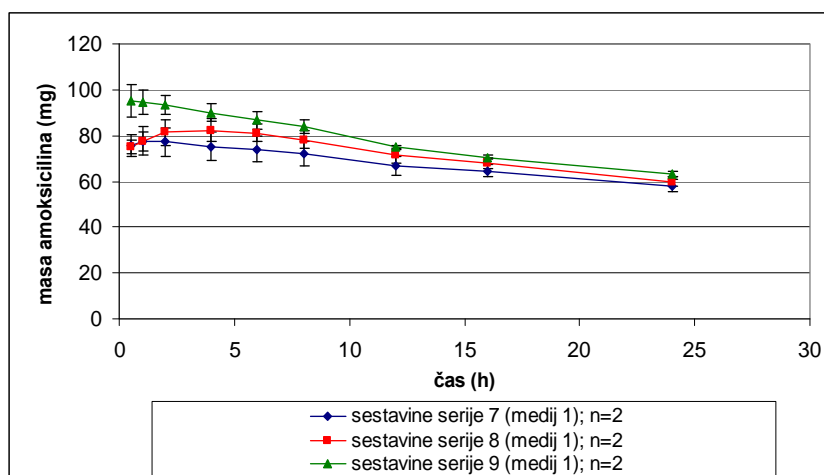
S preliminarnimi testi smo sicer dosegli hiter porast koncentracije AMX v prvih 30 minutah ter nato upočasnjeno sproščanje AMX, vendar pri nobeni seriji tablet po 24 urah nismo dosegli 100% delež sproščene učinkovine. Po 24 urah se je sprostilo le okoli 60 do 80% učinkovine. Ker so bila ogrodja večine tablet (razen tablet z HPMC K100LV – serija 9) po 24 urah še vedno precej čvrsta, smo posumili, da je preostanek AMX še vedno v ogrodju.

Iz medija za sproščanje (medij 1) smo po končanem 24-urnem poskusu kvantitativno prenesli nabreklo tableto serij 7, 8, 9 v bučko, v kateri je bilo 500 mL svežega medija za sproščanje (medij 1). Bučko smo postavili v ultrazvočno kadičko. Ko je tableta popolnoma razpadla, smo na HPLC sistemu analizirali raztopino AMX in tako določili količino v ogrodju preostalega AMX. Ugotovili smo, da je v čvrstem notranjem

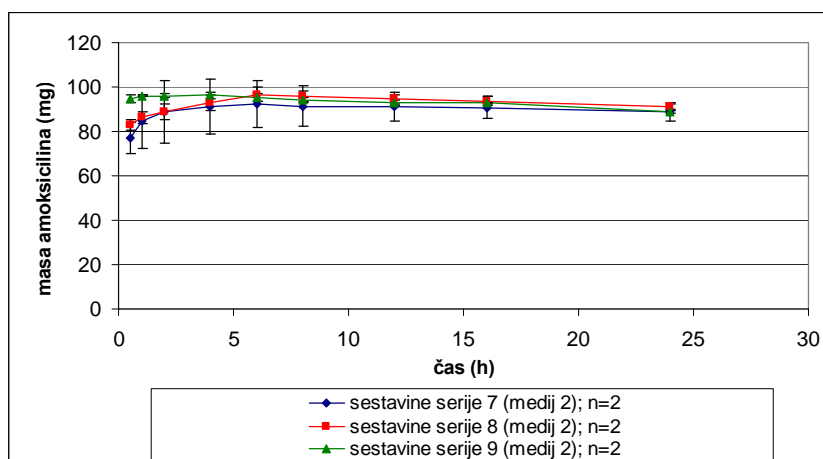
delu tablete ostalo le okoli 1 do 2 mg AMX (1 do 2% celotne mase učinkovine). Prišli smo do zaključka, da se je iz vseh tablet sprostil ves AMX. Od tega poskusa dalje nismo več iskali optimalne sestave tablet, ampak smo se lotili iskanja vzrokov, ki so bili odgovorni za manjši delež sproščene učinkovine.

7.1.6 VPLIV POMOŽNIH SNOVI NA RAZTAPLJANJE AMOKSICILINA IN NJEGOVO STABILNOST

Z naslednjim poskusom smo želeli preveriti, ali je vzrok za manjši delež sproščene učinkovine v vezavi le-te na pomožne snovi oziroma ali pomožne snovi motijo raztapljanje AMX, če učinkovina ni vgrajena v ogrodno tableto. V medij za sproščanje smo stresli vse sestavine tablet iz serij 7, 8, 9 v obliki prahov. Količina vseh natehtanih sestavin je bila enaka količini učinkovine in pomožnih snovi v tabletah iz serij 7, 8, 9. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II. Poskus smo izvedli v fosfatnih pufrih s pH 3,0 (medij 1) in pH 4,5 (medij 2) (sliki 27 in 28).



Slika 27: Primerjava profila raztapljanja amoksicilina v fosfatnem pufru s pH 3,0 (medij 1) na napravi za sproščanje pri hitrosti vrtenja mešal rpm=50 ob prisotnosti pomožnih snovi iz različnih serij tablet (serije 7, 8 in 9) v obliki prahov. V legendi je podano še število paralelek.



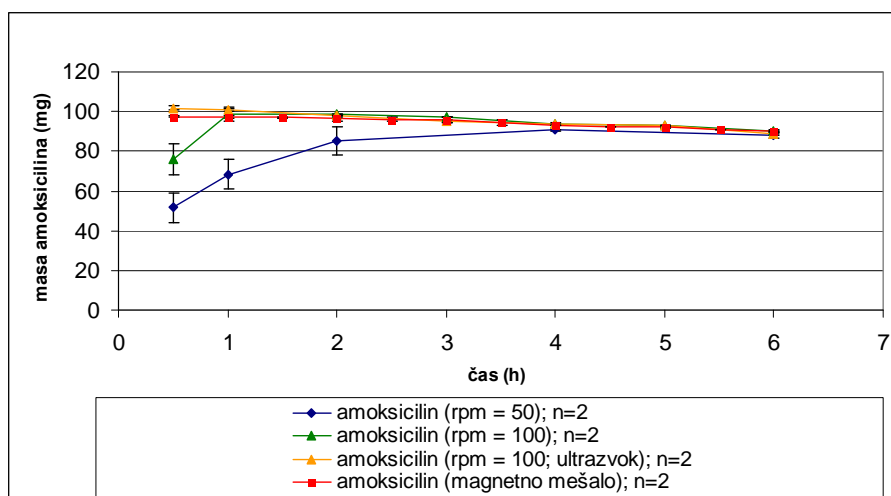
Slika 28: Primerjava profila raztapljanja amoksicilina v fosfatnem pufru s pH 4,5 (medij 2) na napravi za sproščanje pri hitrosti vrtenja mešal rpm=50 ob prisotnosti pomožnih snovi iz različnih serij tablet (serije 7, 8 in 9) v obliki prahov. V legendi je podano še število paralelk.

Razlika v hitrosti raztapljanja AMX se pokaže v prvih nekaj urah (sliki 27 in 28). Delci AMX so različno veliki, zato se raztapljajo z različno hitrostjo. Pri sestavinah serije 9 opazimo, da prisotnost HPMC K100LV pospeši raztapljanje AMX v primerjavi z LBG in maltodekstrinom. Ker smo v prvih urah določili med 95 in 100 % raztopljene učinkovine, smo zaključili, da med učinkovino in pomožnimi snovmi ni interakcij, ki bi motile določevanje AMX s HPLC analitiko. Koncentracija učinkovine pa je s časom pri pH 3,0 padala. Razlog za to smo pripisali razpadu AMX. Iz slik 27 in 28 je razvidno, da je AMX bolj stabilen pri pH 4,5, saj se njegova koncentracija zmanjšuje počasneje kot pri pH 3,0, kjer je razpad AMX bolj izrazit.

Iz rezultatov sproščanja AMX iz dvoplastnih plavajočih tablet in raztapljanja AMX ob prisotnosti vseh pomožnih snovi je postalo jasno, da učinkovina razpada v uporabljenih medijih za sproščanje. Preverili smo, če pomožne snovi pospešijo razpad učinkovine, oziroma ali je razpad učinkovine neodvisen od uporabljenih pomožnih snovi.

Najprej smo določili raztapljanje samega AMX v fosfatnem pufru s pH 3,0 (medij 1) (slika 29). V vseh poskusih smo natehtali enako količino AMX, kot je prisotna v tabletah (100 mg). V prvem primeru smo natehtano količino AMX raztapljali na napravi 2 po USP pri hitrosti vrtenja mešal rpm=50. Ker smo opazili počasno raztapljanje učinkovine, smo hitrost vrtenja mešal dvignili na rpm=100. Podoben poskus pri rpm=100 smo izvedli tako, da smo 100 mg AMX najprej popolnoma raztopili s pomočjo ultrazvočne

kadičke in ga nato prenesli v medij za sproščanje. Raztapljanje AMX na napravi za sproščanje smo primerjali z raztapljanjem AMX na magnetnem mešalu v mediju 1 pri 37°C.

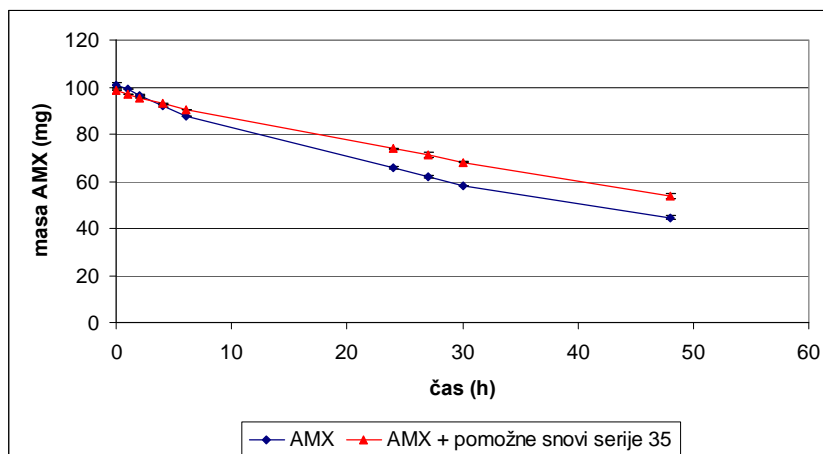


Slika 29: Primerjava profilov raztapljanja amoksicilina v fosfatnem pufru s pH 3,0 (medij 1) na napravi za sproščanje pri rpm=50, pri rpm=100 ter pri rpm=100, kjer smo AMX predhodno popolnoma raztopili s pomočjo ultrazvoka. Za primerjavo je podano še raztapljanje AMX na magnetnem mešalu v mediju 1 pri 37°C. V legendi je podano še število paralelk.

Ugotovili smo, da je hitrost raztapljanja AMX odvisna od hitrosti vrtenja mešal. Pri manjši hitrosti vrtenja mešal (rpm=50) se je AMX raztapljal najpočasneje. Hitreje je potekalo raztapljanje učinkovine pri večji hitrosti vrtenja mešal (rpm=100), saj so večje hidrodinamske sile pospešile raztapljanje učinkovine. Pri poskusu, kjer smo AMX najprej raztopili s pomočjo ultrazvočne kadičke, je bila ob času nič na voljo celotna količina učinkovine, zato smo po 30 minutah določili 100% raztopljenih učinkovine. Pri mešanju na magnetnem mešalu se je učinkovina raztopila že po 15 minutah. Iz grafa na sliki 29 je razvidno, da je kinetika razpada AMX v prvih šestih urah enaka v vseh primerih, razlika je le v hitrosti raztapljanja učinkovine na začetku.

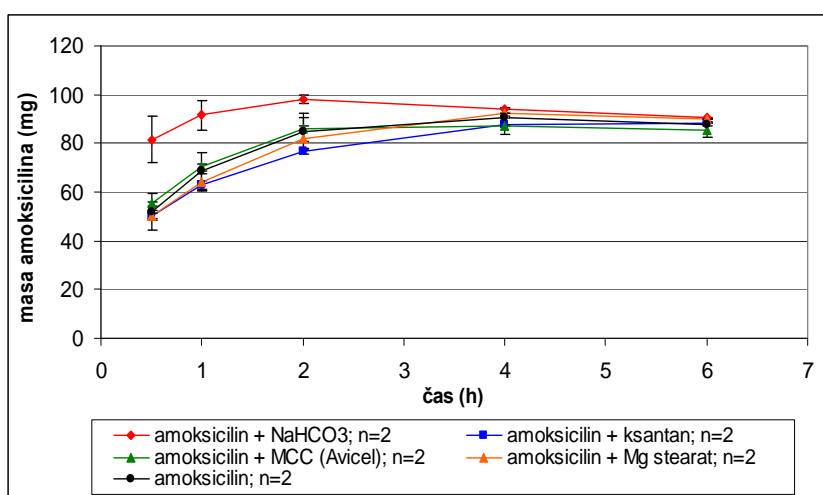
Preučili smo, ali pomožne snovi pospešijo razpad AMX. Izvedli smo 48-urni poskus, kjer smo v mediju 1 pri rpm=50 spremljali spreminjanje koncentracije samega AMX ter v prisotnosti pomožnih snovi serije 35 v obliki prahov (slika 30). Ugotovili smo, da je pri pH 3,0 ob prisotnosti pomožnih snovi serije 35 razpad AMX celo manjši v primerjavi z razpadom samega AMX. Učinkovina je očitno v kislih pogojih precej nestabilna. Ob času nič je bilo v mediju 1 prisotnih 100 mg AMX. Masa raztopljenega

AMX se je po 24-ih urah zmanjšala na 66 mg, po 48-ih urah celo na 44 mg AMX. Ob prisotnosti pomožnih snovi serije 35 je bilo v mediju 1 po 24-ih urah 74 mg AMX, po 48-ih urah pa 54 mg AMX.



Slika 30: Primerjava profilov razpada amoksicilina v fosfatnem pufru s pH 3,0 (medij 1) v prisotnosti in odsotnosti pomožnih snovi. Število paralelek n=2.

Nato smo preverili, kako posamezne pomožne snovi vplivajo na hitrost raztapljanja amoksicilina. Na napravi za sproščanje smo pri konstantni hitrosti vrtenja mešal (rpm=50) izvedli kombinacijo poskusov, kjer smo raztapljali AMX in eno pomožno snov v fosfatnem pufru s pH 3,0 (medij 1). Količina vsake pomožne snovi je bila enaka količini le-te v tabletah serije 35. Merili smo količino raztopljenega AMX v odvisnosti od časa (slika 31).



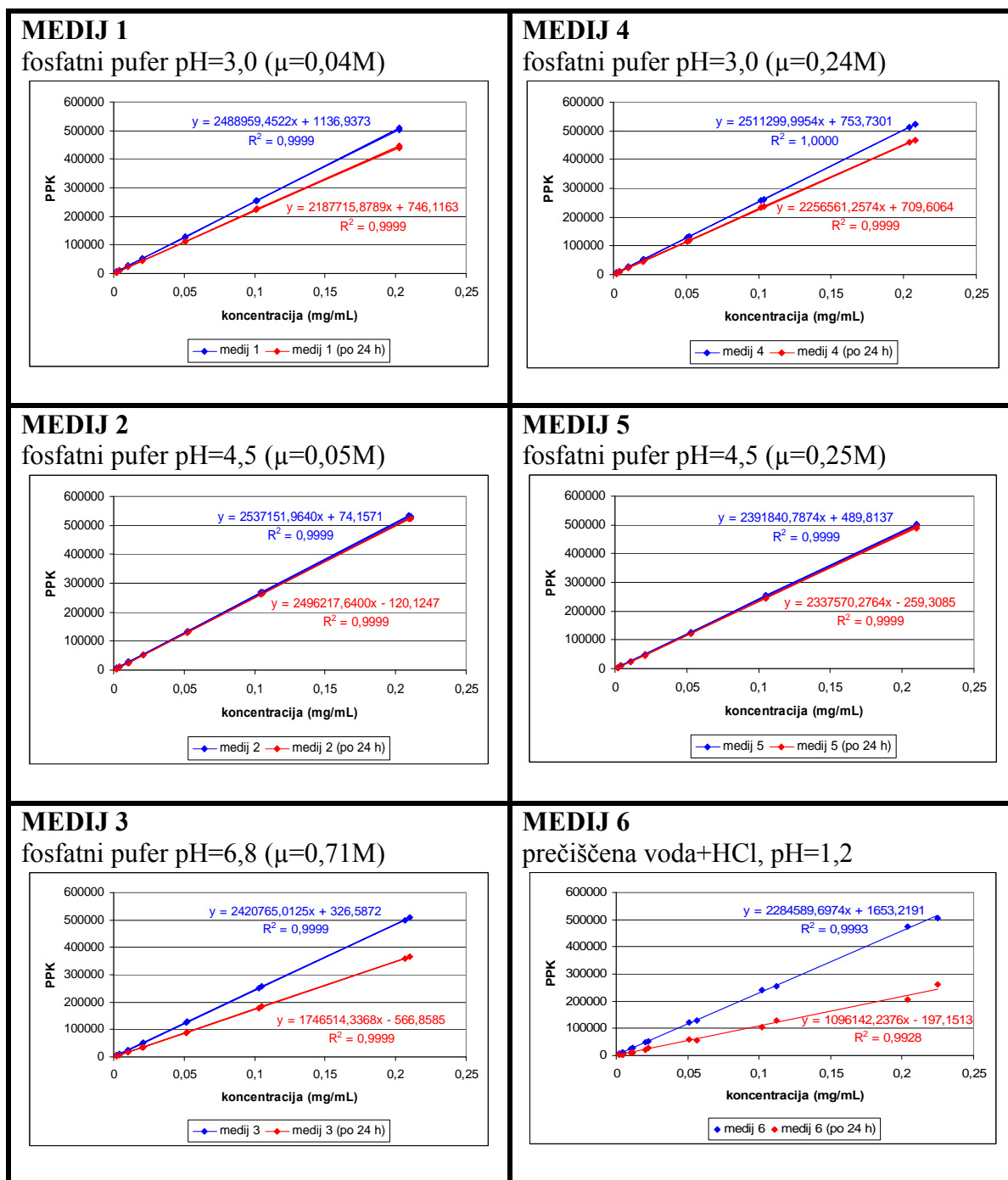
Slika 31: Primerjava profilov raztapljanja amoksicilina v fosfatnem pufru s pH 3,0 (medij 1) v prisotnosti ene pomožne snovi: AMX+NaHCO₃, AMX+ksantan, AMX+MCC, AMX+Mg stearat. Za primerjavo je podano še raztapljanje samega amoksicilina. V legendi je podano še število paralelek.

Iz grafa na sliki 31 je razvidno, da se je ob prisotnosti NaHCO_3 hitrost raztapljanja AMX občutno pospešila, saj se je že po 2 urah raztopila celotna količina učinkovine. AMX se je najpočasneje raztapljal ob prisotnosti ksantana. Na podlagi slike 31 lahko sklepamo, da ni bistvenih razlik v hitrosti raztapljanja same učinkovine ter ob prisotnosti MCC, Mg-stearata ali ksantana. Pomožne snovi prav tako ne vplivajo na stabilnost AMX.

7.1.7 STABILNOST AMOKSICILINA V RAZLIČNIH MEDIJIH

Preverili smo, pri kateri pH vrednosti je AMX najbolj stabilen. Uporabili smo medije, v katerih smo nameravali preskušati sproščanje iz tablet serij 7, 8, 9. Standardne raztopine AMX v vseh preskušanih medijih (M1-M6), ki smo jih uporabili pri izdelavi umeritvenih premic, smo shranili pri sobni temperaturi. Po 24 urah smo tem raztopinam s HPLC določili novo površino pod krivuljo in izračunali novo umeritveno premico. Ugotovili smo, da je naklon premic po 24 urah pri vseh šestih medijih manjši od naklona umeritvenih premic sveže pripravljenih raztopin, kar kaže na to, da AMX razpada v vseh medijih (slika 32).

Izoelektrična točka AMX je pri pH 4,8. Večji kot je odklon pH medija od izoelektrične točke, hitrejši je razpad AMX (49). To se grafično lepo vidi z zmanjšanjem naklona premic po 24 urah (slika 32). Pri pH 4,5 je AMX najbolj stabilen, saj sta umeritveni premici praktično enaki, sledi pH 3,0. Pri pH 6,8 ter pri pH 1,2 se naklon premic po 24 urah izrazito zmanjša. Največji razpad AMX smo zaznali pri pH 1,2. Odklon pH medija od izoelektrične točke AMX je pri pH 1,2 največji, zato je pri pH 1,2 tudi razpad učinkovine največji. Prav tako smo ugotovili, da sprememba ionske moči bistveno ne vpliva na razpad AMX, saj je naklon premic podoben tako pri pH 3,0 (medija 1 in 4) kot pri pH 4,5 (medija 2 in 5).



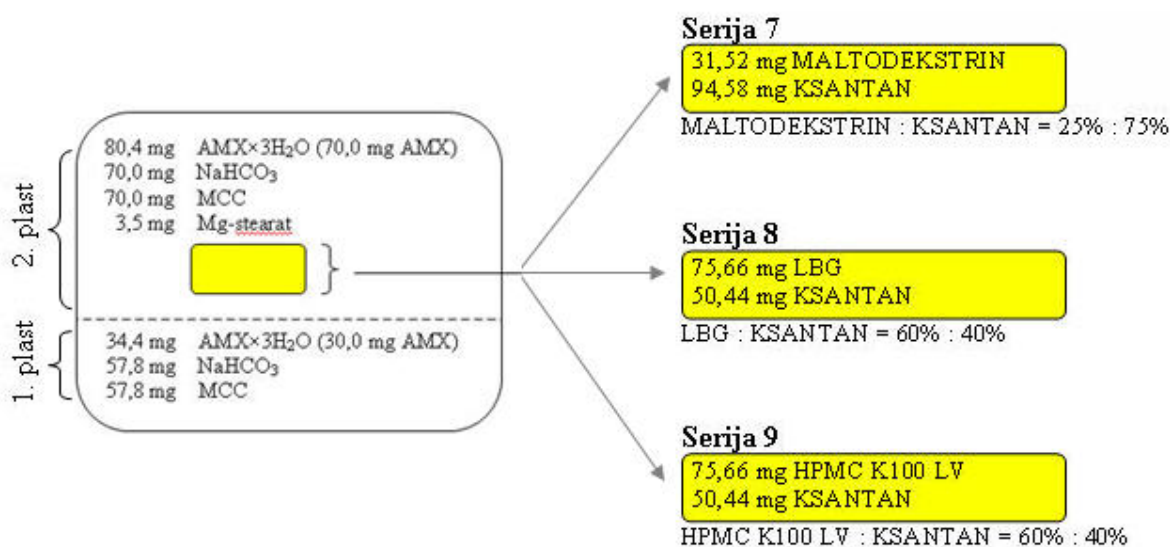
Slika 32: Umeritvene premice sveže pripravljenih raztopin amoksicilina v različnih medijih. Prikazane so tudi umeritvene premice amoksicilina po 24 urah.

V preliminarnih testih smo ugotovili, da je sproščanje AMX hitrejše pri nižji ionski moči (sliki 19 in 20), višja ionska moč pa skrajša čas splavanja oziroma poveča hitrost splavanja tablet (slika 22). Tablete hitro splavajo na površje medija in ostanejo koherentne

vseh 24 ur (izjema je serija 3). Ugotovili smo tudi, da prisotnost pomožnih snovi ne moti raztapljanja AMX (sliki 27 in 28), vendar je le-to hitrejše pri večji hitrosti vrtenja mešal (slika 29). Naši rezultati in literaturni podatki kažejo na to, da je AMX najbolj stabilen pri pH 4,5, sledi pH 3,0, najhitreje pa AMX razpada pri pH vrednostih 6,8 in 1,2 (slika 32). Višja ionska moč v medijih z enakimi pH vrednostmi ne vpliva na razpad AMX (slika 32). Ob prisotnosti pomožnih snovi je razpad učinkovine celo manjši v primerjavi z razpadom same učinkovine (slika 30).

7.2 PROUČEVANJE SPROŠČANJA AMOKSICILINA IN PLAVANJE IZBRANIH SERIJ TABLET

Glede na opravljene preliminarne teste smo se odločili, da so se kot najbolj optimalne izkazale tablete iz serij 7, 8, 9. Sestava tablet je shematsko prikazana na sliki 33.



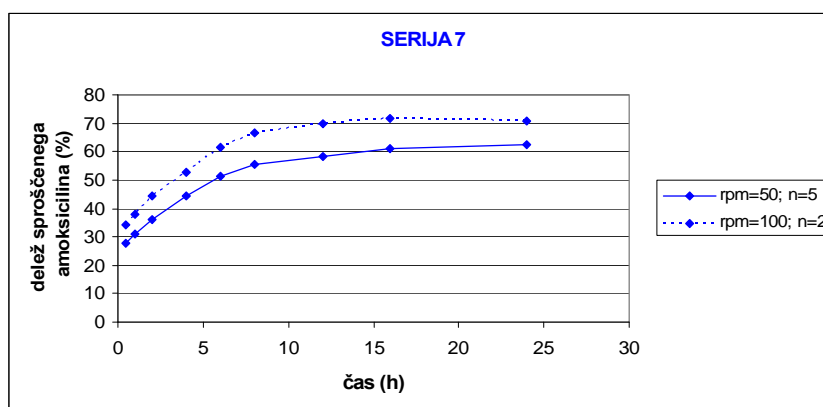
Slika 33: Sestava 500 mg dvoplastnih plavajočih tablet iz serij 7, 8, 9.

Tablete iz teh treh serij so izkazovale najboljše lastnosti pri plavanju in sproščanju učinkovine, saj so vse splavale prej kot v 15 minutah, poleg tega se je iz njih sprostilo 100% AMX, ki pa je v preskušanem mediju razpadal, zato nikjer nismo dosegli 100% deleža sproščene učinkovine. Tablete so imele približno enako trdnost (preglednica VI). Na tabletah iz teh treh serij smo izvajali poskuse splavanja in sproščanja AMX v medijih z

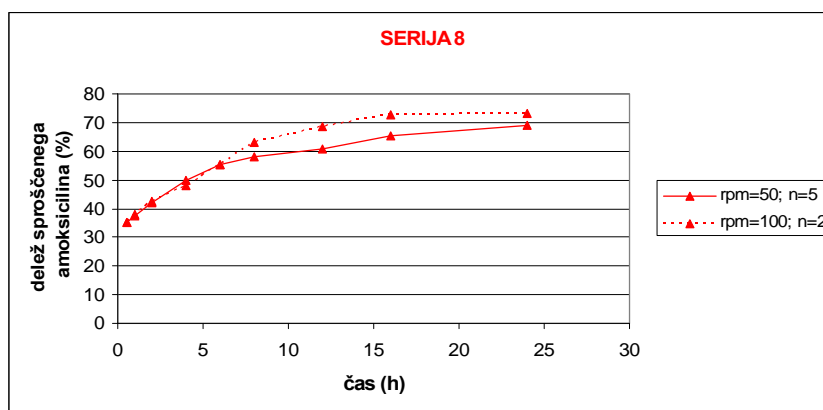
različnimi pH vrednostmi in različno ionsko močjo. Poskušali smo ugotoviti, kako različne pH vrednosti medijev in znižana oziroma zvišana ionska moč vplivajo na hitrost splavanja in sproščanja AMX iz tablet. Poleg tega smo preverili, kako hitrost vrtenja mešal vpliva na hitrost splavanja in sproščanja AMX.

7.2.1 VPLIV HITROSTI VRTENJA MEŠAL (rpm) NA SPROŠČANJE AMOKSICILINA IZ TABLET SERIJ 7, 8, 9

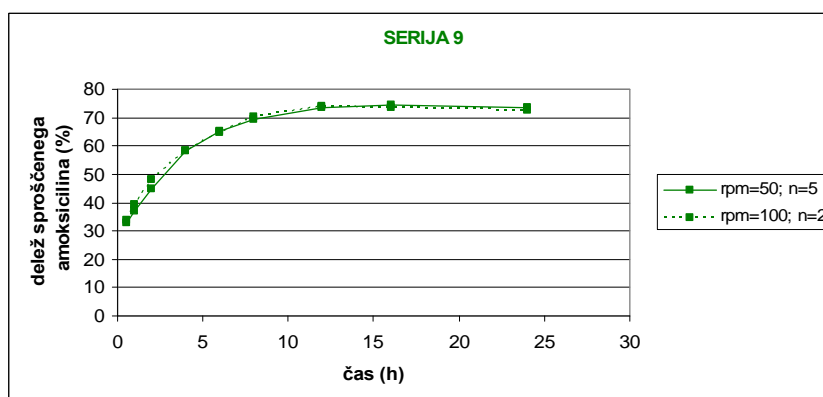
Profile sproščanja AMX iz izbranih serij tablet smo primerjali pri manjši (rpm=50) in večji (rpm=100) hitrosti vrtenja mešal (slike 34, 35, 36). V literaturi smo našli podatke, da se z večanjem hitrosti vrtenja mešal delež sproščenega AMX poveča (18). Te trditve smo potrdili pri seriji 7, saj se je pri rpm=100 sprostil večji delež AMX kot pri rpm=50 (slika 34). Oblika obeh profilov sproščanja pri različnih hitrostih vrtenja mešal je skoraj identična, le da je pri rpm=100 delež sproščenega AMX večji tekom celotnega 24-urnega poskusa sproščanja. Pri seriji 8 v prvih šestih urah poskusa sproščanja različna hitrost vrtenja mešal ni vplivala na delež sproščenega AMX. Po šestih urah pa se je sproščanje AMX pospešilo pri večji hitrosti vrtenja mešal (slika 35). Tablete serij 7 in 8 so po 24-ih urah ohranile obliko in integriteto tako pri rpm=50 kot pri rpm=100. Pri seriji 9 sproščanje AMX ni odvisno od hitrosti vrtenja mešal, čeprav so bile po končanem poskusu sproščanja tablete pri rpm=50 mehke, pri rpm=100 pa so popolnoma razpadle (slika 36).



Slika 34: Vpliv hitrosti vrtenja mešal na profil sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet (serija 7) v mediju 1. V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.



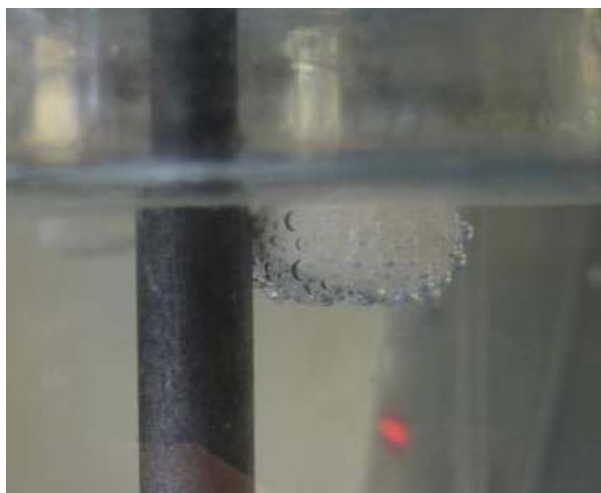
Slika 35: Vpliv hitrosti vrtenja mešal na profil sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet (serija 8) v mediju 1. V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.



Slika 36: Vpliv hitrosti vrtenja mešal na profil sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet (serija 9) v mediju 1. V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

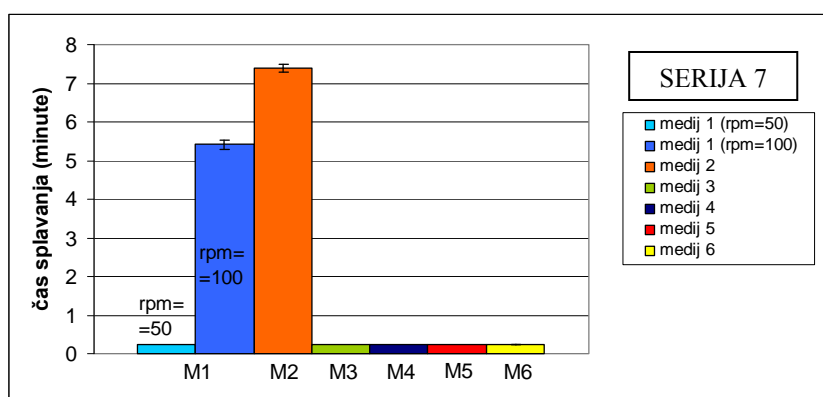
7.2.2 VPLIV MEDIJA NA PLOVNE LASTNOSTI TABLET

Vse tablete so plavale v zastavljenem času (prej kot v 15 minutah). Plavale so na površju medija vseh 24 ur, razen v primerih, kjer je prišlo do popolne razgradnje tablete. Najpomembnejši dejavnik za doseganje splavanja tablet je prisotnost NaHCO_3 . Z njegovim razpadom v kislem mediju se tvorijo mehurčki CO_2 , ki se ujamejo v gelsko mrežo in povzročijo splavanje tablete (slika 37).



Slika 37: Mehurčki CO₂, ujeti na površini tablete in v gelski mreži, so odgovorni za plavanje tablete.

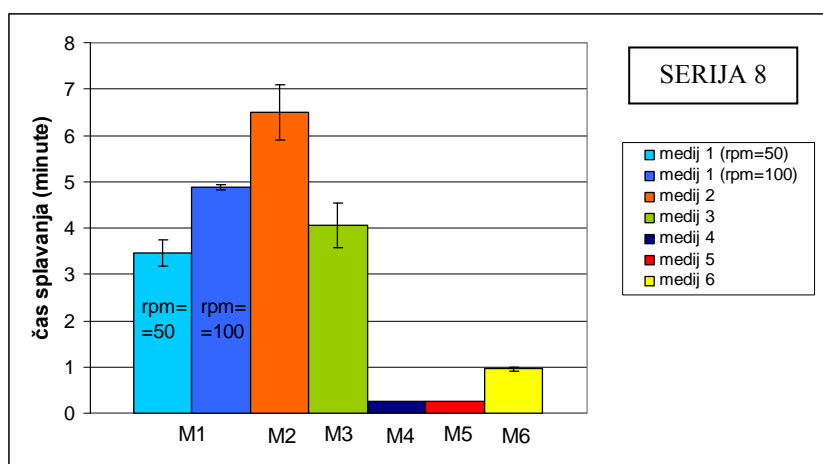
Izbranim serijam tablet (serije 7, 8, 9) smo določali čas, ki je potreben, da tablete splavajo na površje medija (čas splavanja). Zanimalo nas je, ali obstaja razlika v hitrosti splavanja izbranih serij tablet v medijih z različnimi pH vrednostmi ter različno ionsko močjo (slike 38, 39, 40).



Slika 38: Primerjava hitrosti splavanja tablet serije 7 v različnih medijih pri rpm=50 (razen v označenem primeru). Natančna sestava tablet je podana v preglednici II. Natančna sestava medijev je prikazana v preglednici III.

Pri tabletah serije 7 smo opazili, da na hitrost splavanja tablet vpliva hitrost vrtenja mešal (rpm) v mediju 1 (slika 38). Pri manjši hitrosti vrtenja mešal (rpm=50) tablete splavajo v 15 sekundah, medtem ko se pri večji hitrosti vrtenja mešal (rpm=100) v istem mediju čas splavanja izredno podaljša in znaša 5,5 minut. Ta rezultat je nekoliko nenavaden, najverjetneje gre za to, da je pri večji hitrosti vrtenja mešal nastal večji vrtimec,

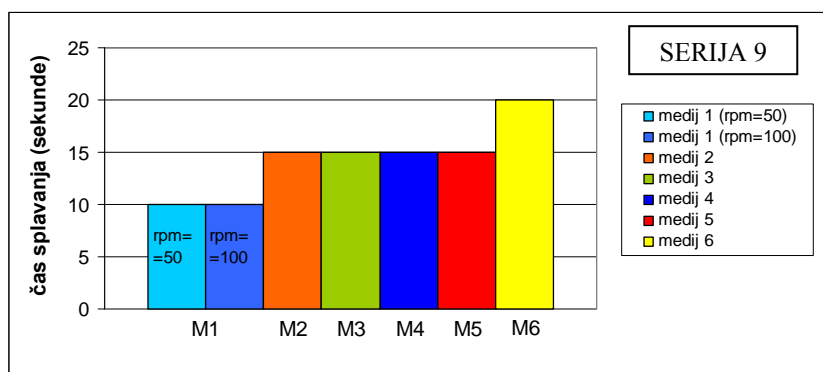
ki je z večjo silo tiščal tablete proti dnu posode. Šele po daljšem času, ko je nastalo dovolj mehurčkov CO₂, so tablete splavale. V mediju 2 (pH 4,5) je čas splavanja kar 7,4 minut. Pri enaki pH vrednosti pri višji ionski moči (medij 5) pa so tablete splavale že v 15 sekundah. V ostalih medijih je hitrost splavanja tablet neodvisna od pH medija ter ionske moči, saj vse tablete serije 7 splavajo v 15 sekundah.



Slika 39: Primerjava hitrosti splavanja tablet serije 8 v različnih medijih pri rpm=50 (razen v označenem primeru). Natančna sestava tablet je podana v preglednici II. Natančna sestava medijev je prikazana v preglednici III.

Tudi tablete serije 8 v mediju s pH 3,0 (medij 1) pri manjši hitrosti vrtenja mešal splavajo prej (3,5 minut) kot pri večji hitrosti vrtenja mešal (4,9 minut) (slika 39). V mediju s pH 4,5 (medij 2) se čas splavanja tablet podaljša (6,5 minut). Pri zvišani ionski moči pri pH 3,0 in 4,5 (medija 4 in 5) se je hitrost splavanja izredno povečala, saj so vse tablete splavale v 15 sekundah. Iz rezultatov je razvidno, da večja ionska moč skrajša čas splavanja tablet pri konstantni hitrosti vrtenja mešal rpm=50. V mediju s pH 6,8 (medij 3) je znašal čas splavanja tablet 4,1 minut ter v mediju s pH 1,2 (medij 6) le 1 minuto.

Tablete serije 9 so izkazovale največjo hitrost splavanja (slika 40). Čas splavanja tablet je bil neodvisen od medija za raztapljanje. V medijih z različnimi pH vrednostmi (pH 1,2; 3,0; 4,5; 6,8) ter različno ionsko močjo tablete splavajo v 10, 15 oziroma 20 sekundah. Različna hitrost vrtenja mešal ne vpliva na čas splavanja tablet serije 9.

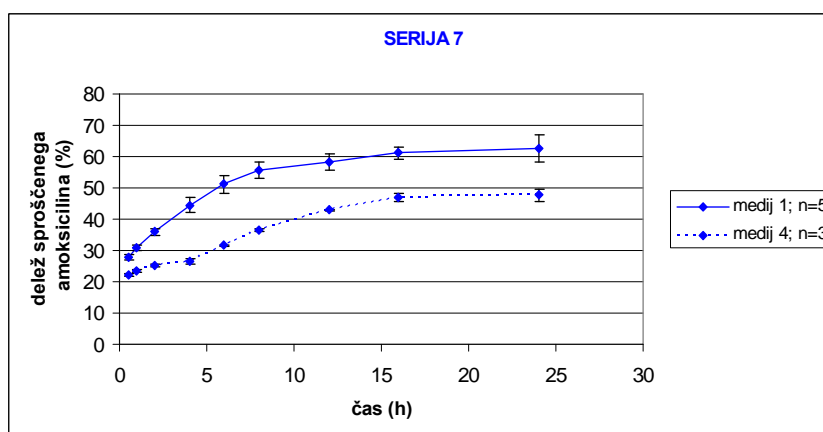


Slika 40: Primerjava hitrosti splavanja tablet serije 9 v različnih medijih pri rpm=50 (razen v označenem primeru). Natančna sestava tablet je podana v preglednici II. Natančna sestava medijev je prikazana v preglednici III.

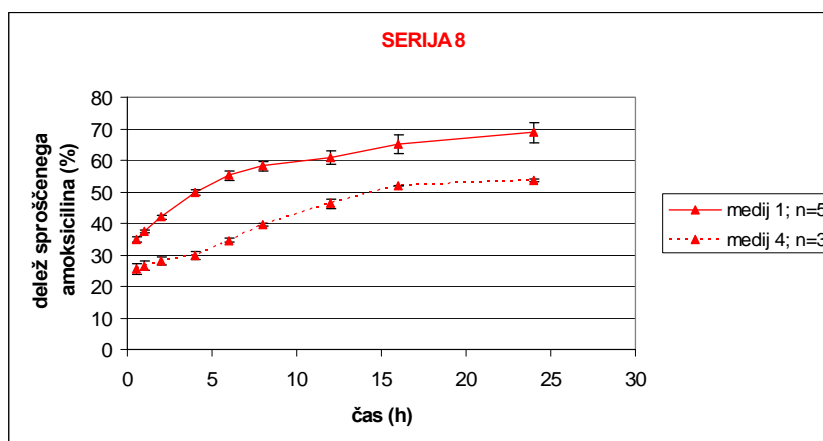
7.2.3 VPLIV SPREMEMBE pH IN IONSKE MOČI NA SPROŠČANJE AMOKSICILINA

V preliminarnih testih smo poskuse sproščanja izvajali v fosfatnem pufru s pH 3,0 (medij 1). Pri izbranih serijah tablet (serije 7, 8, 9) smo hitrost sproščanja AMX spremljali še pri drugih pH vrednostih: 1,2; 3,0; 4,5; 6,8 ter pri različni ionski moči.

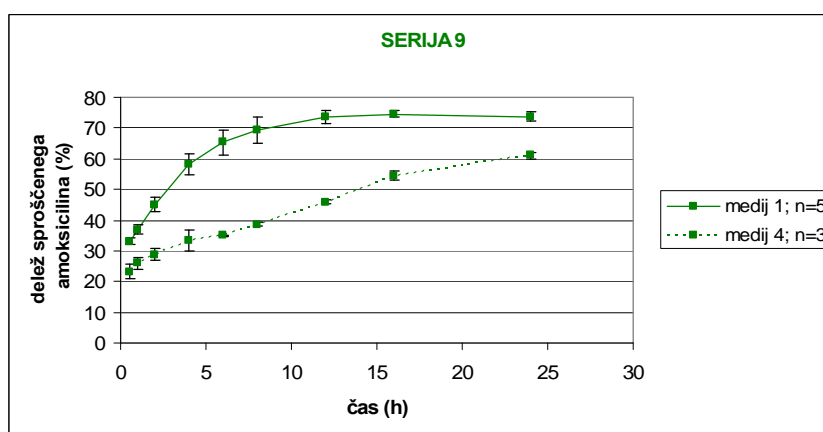
Fosfatnemu pufru s pH 3,0 in ionsko močjo $\mu=0,04\text{M}$ (medij 1) smo z dodatkom $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ povečali ionsko moč za 0,2M. Tako smo pripravili fosfatni pufer s pH 3,0 in višjo ionsko močjo $\mu=0,24\text{M}$ (medij 4). Primerjali smo sproščanje AMX (serije 7, 8, 9) pri pH 3,0 pri nižji oziroma višji ionski moči (slike 41, 42, 43).



Slika 41: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet (serija 7) v mediju 1 (fosfatni pufer s pH=3,0 in $\mu=0,04\text{M}$) in v mediju 4 (fosfatni pufer s pH=3,0 in $\mu=0,24\text{M}$). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.



Slika 42: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet (serija 8) v mediju 1 (fosfatni pufer s pH=3,0 in $\mu=0,04\text{M}$) in v mediju 4 (fosfatni pufer s pH=3,0 in $\mu=0,24\text{M}$). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.



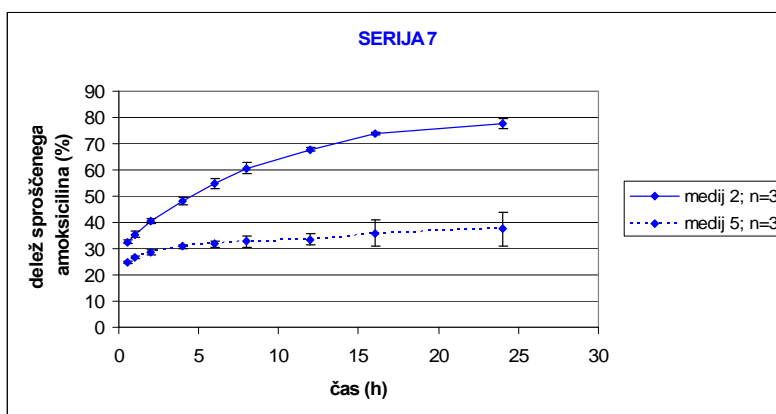
Slika 43: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet (serija 9) v mediju 1 (fosfatni pufer s pH=3,0 in $\mu=0,04\text{M}$) in v mediju 4 (fosfatni pufer s pH=3,0 in $\mu=0,24\text{M}$). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

Iz rezultatov na slikah 41, 42, 43 ugotovimo, da je hitrost sproščanja AMX pri pH 3,0 odvisna od ionske moči medija. Opazili smo, da se pri nižji ionski moči AMX hitreje sprošča iz tablete. Verjetno je razlog v tem, da je pri nižji ionski moči na voljo več molekul vode, ki niso vezane na ione v samem mediju. Voda zato lažje prodre v ogrodje tablete in AMX se hitreje sprošča.

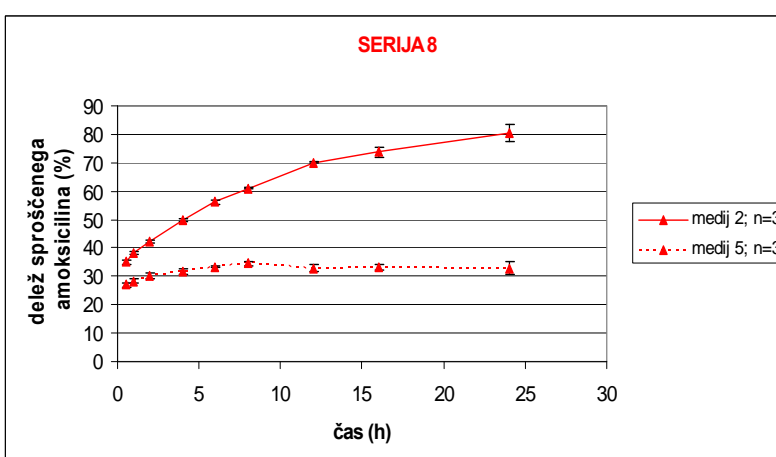
Poleg tega je struktura polimera ksantana pri višji ionski moči takšna, da tvori čvrstjši gel, kar so dokazali v predhodnih študijah (70). Čvrstjši gel tako lahko vpliva na upočasnjeno sproščanje AMX iz vseh tablet pri višji ionski moči. Manjše sproščanje AMX pri višji ionski moči torej ne povzroči večji razpad AMX, pač pa ogrodje tablete.

Fosfatnemu pufru s pH 4,5 in ionsko močjo $\mu=0,05\text{M}$ (medij 2) smo z dodatkom $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ povečali ionsko moč za 0,2M. Tako smo pripravili fosfatni pufer s pH 4,5 in višjo ionsko močjo $\mu=0,25\text{M}$ (medij 5). Primerjali smo sproščanje AMX (serije 7, 8, 9) pri pH 4,5 pri nižji oziroma višji ionski moči (slike 44, 45, 46).

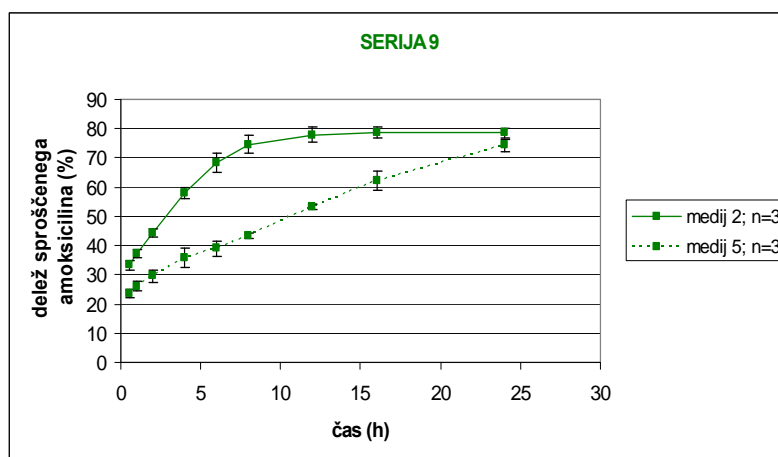
Iz rezultatov preliminarnih testov (slika 32) in literaturnih podatkov smo ugotovili, da je AMX najbolj stabilen pri pH 4,5. Izoelektrična točka AMX je pri pH 4,8. Večji kot je odklon pH medija od izoelektrične točke AMX, večji je razpad AMX (49). Iz rezultatov na slikah 44, 45, 46 vidimo, da je hitrost sproščanja AMX pri pH 4,5 odvisna od ionske moči medija. Opazili smo, da se pri nižji ionski moči AMX hitreje sprošča iz tablete.



Slika 44: Primerjava profilov sproščanja amokscilina iz dvoplastnih tablet (serija 7) v mediju 2 (fosfatni pufer s pH=4,5 in $\mu=0,05\text{M}$) in v mediju 5 (fosfatni pufer s pH=4,5 in $\mu=0,25\text{M}$). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.



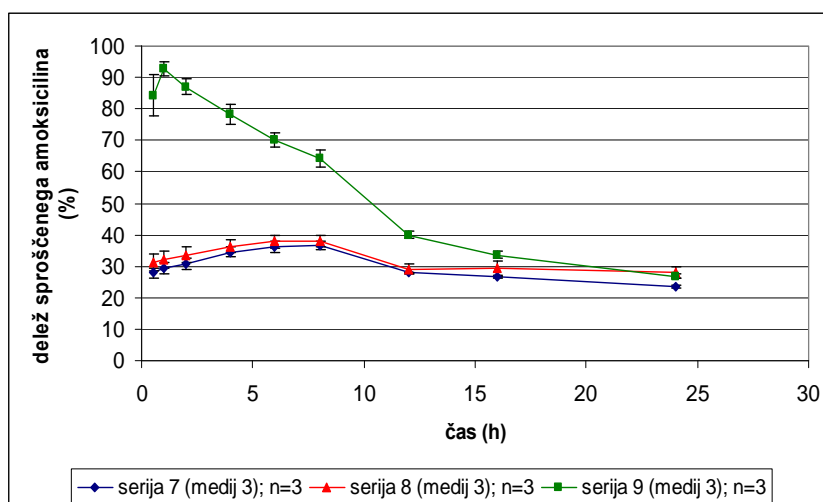
Slika 45: Primerjava profilov sproščanja amokscilina iz dvoplastnih tablet (serija 8) v mediju 2 (fosfatni pufer s pH=4,5 in $\mu=0,05\text{M}$) in v mediju 5 (fosfatni pufer s pH=4,5 in $\mu=0,25\text{M}$). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.



Slika 46: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet (serija 9) v mediju 2 (fosfatni pufer s pH=4,5 in $\mu=0,05M$) in v mediju 5 (fosfatni pufer s pH=4,5 in $\mu=0,25M$). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

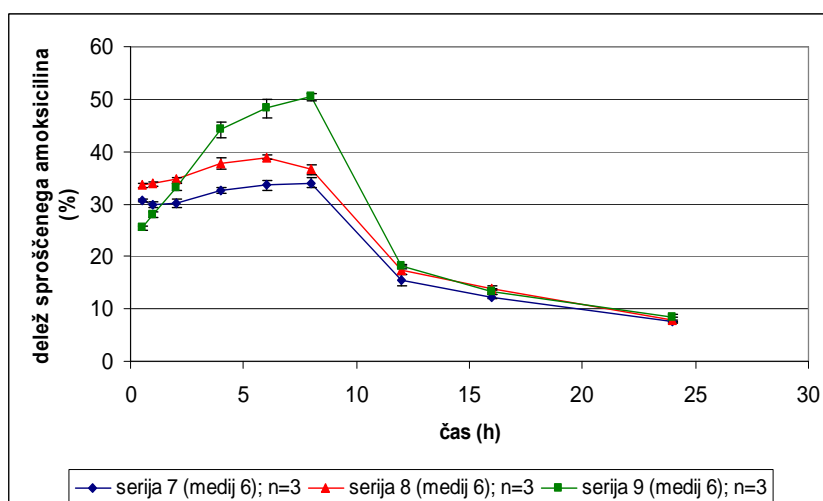
Profila sproščanja AMX za seriji 7 in 8 sta zelo podobna (sliki 44 in 45). Pri teh dveh serijah je delež sproščenega AMX v mediju 5 dokaj konstanten in znaša med 30 in 40% od 5-ih ur do konca poskusa sproščanja. Ogrodja obeh serij tablet so po 24 urah še vedno precej čvrsta, zato lahko sklepamo, da toliko učinkovine, kot je razpade, se sprosti iz ogrodja. Možno je tudi, da je po 24-ih urah v ogrodju še vedno določen delež nesproščenega AMX. Tablete serije 9 bolj razpadajo, saj so po 24 urah zelo mehke konsistence. Pri seriji 9 se delež sproščenega AMX enakomerno povečuje, kar kaže na 0. red sproščanja AMX (slika 46).

Poskuse sproščanja iz izbranih dvoplastnih tablet (serije 7, 8, 9) smo izvajali tudi v fosfatnem pufru s pH 6,8 (medij 3) (slika 47). Profila sproščanja AMX za seriji 7 in 8 sta zelo podobna. Delež sproščenega AMX, ki ga določimo s HPLC, pri serijah 7 in 8 nikoli ne preseže 40%, čeprav se iz tablet najverjetneje sprosti vsa učinkovina. Kinetika sproščanja in razpada AMX pri teh dveh serijah je sledeča: toliko učinkovine, kot je razpade, se nadomesti z na novo sproščeno učinkovino. Ker se učinkovina iz ogrodja tablete počasneje sprošča, tudi počasneje razpada. Pri seriji 9 se hitrost sproščanja AMX izredno poveča, saj se že po 1 uri sprosti več kot 90% AMX. Najverjetneje je razlog velikega deleža sproščenega AMX hiter razpad tablet serije 9. Ker je skoraj vsa količina AMX v mediju prosta, AMX hitreje razpada, tako kot prosta učinkovina pri pH 6,8 (slika 32). Po 24 urah je v mediju s pH 6,8 pri vseh treh serijah prisotnih približno 26% AMX (slika 47).



Slika 47: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet (serije 7, 8, 9) v mediju 3 (fosfatni pufer s pH=6,8). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

Običajno se testi sproščanja zdravilne učinkovine v želodcu opravljajo v umetnem želodčnem soku s pH 1,2, vendar je to medij, ki posnema pogoje v zdravem človeku. Po okužbi s *H. pylori* se pH precej zviša, zato je večina naših testov narejenih pri višjih pH vrednostih. Iz rezultatov naših poskusov (slika 32) in literaturnih podatkov (49) smo ugotovili, da pri pH 1,2 AMX tudi izredno hitro razpada. Kljub temu smo se odločili, da poskuse sproščanja AMX iz izbranih dvoplastnih tablet (serije 7, 8, 9) opravimo tudi pri pH 1,2 (medij 6) (slika 48).



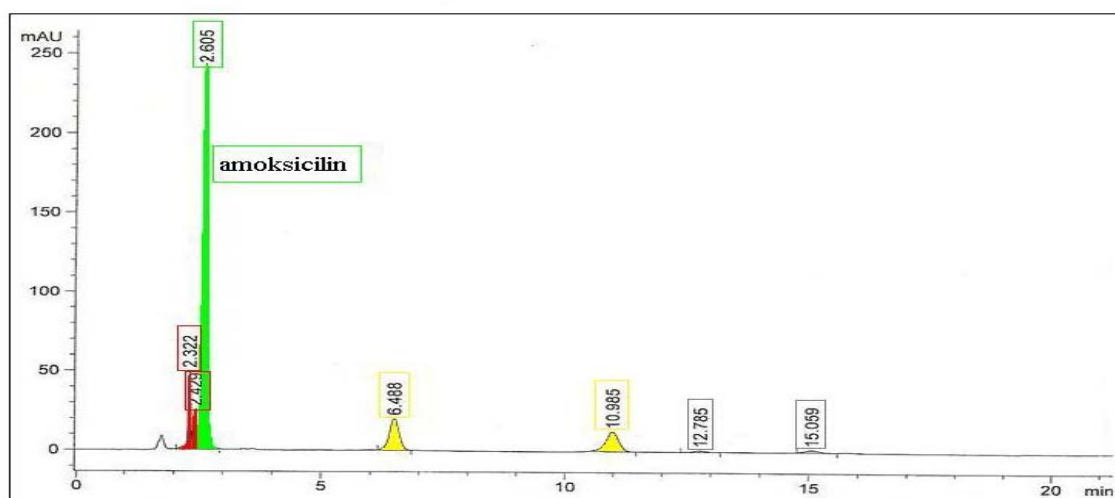
Slika 48: Primerjava profilov sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih tablet (serije 7, 8, 9) v mediju 6 (raztopina HCl; pH=1,2). V legendi je podano še število paralelek. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II.

V prvih osmih urah se delež sproščenega AMX povečuje, nato pa se začne pospešen razpad sproščene učinkovine (slika 48). Največ AMX se sprosti iz serije 9. Verjetno je razlog tudi to, da tablete serije 9 hitro razpadajo in po 24 urah popolnoma razpadejo. Po 24 urah je v mediju s pH 1,2 pri vseh treh serijah prisotnih manj kot 10% AMX.

Pri preskusih raztapljanja žal ne vemo, kdaj se sprosti 100% učinkovine. V večini primerov rezultati kažejo na to, da toliko učinkovine, kot je razpade, se nadomesti s sprostitvijo iz ogrodja. Če bi bila učinkovina na voljo prej, bi njena koncentracija s časom samo padala in ne naraščala oziroma bila konstantna, tako kot je v primeru sproščanja iz tablet serij 7, 8, 9.

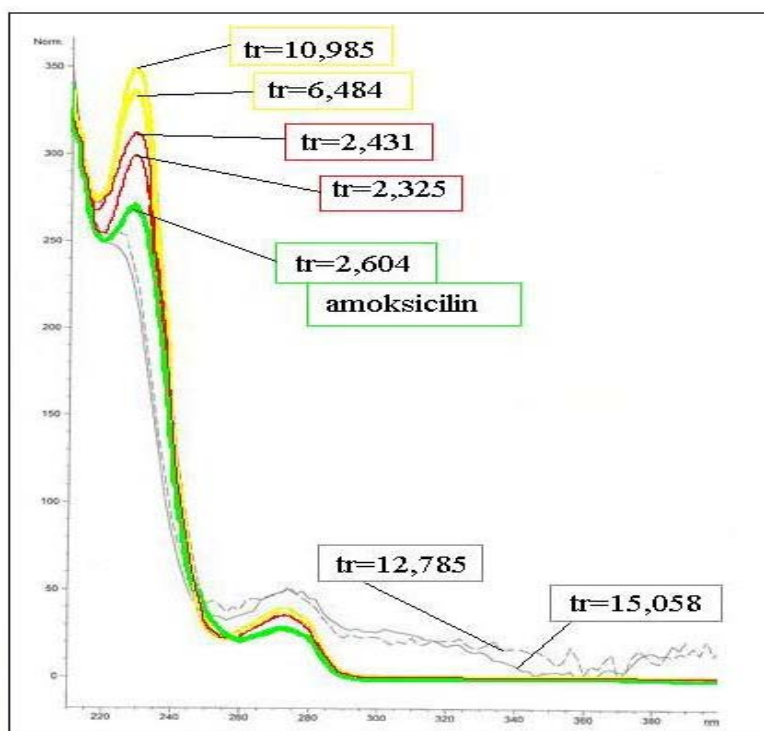
7.2.4 ANALIZA RAZPADNIH PRODUKTOV AMOKSICILINA

Koncentracijo sproščenega AMX smo določali s pomočjo HPLC analize. Uporabljali smo mobilno fazo, ki je bila sestavljena iz raztopine A (fosfatni pufer s pH 5,0) in raztopine B (acetonitril) v volumskem razmerju 96:4. Retencijski čas (t_r) AMX je bil 4,1 minute. Za dokončen dokaz, da je učinkovina pri poskusih sproščanja razpadala, smo posneli kromatogram AMX in njegovih razpadnih produktov (RP) na HPLC aparaturi Agilent 1100 Series, Nemčija. V mobilni fazi smo povečali delež acetonitrila na 7 %, s tem smo zmanjšali t_r tako AMX (2,6 minut) kot tudi RP (slika 49).



Slika 49: Kromatogram amoksidina (največji vrh) in njegovih razpadnih produktov v mediju 1.



















V 500 mg ogrodne tablete smo vgradili 100 mg AMX ter 400 mg MCC (serija 10). Analizirali smo raztopino AMX po končanem 24-urnem sproščanju na napravi 2 po USP. Iz kromatograma na sliki 49 je lepo razvidno, da AMX v kislih pogojih (medij 1) razpada, saj je nastalo več različnih RP amoksicilina. Z analizo RP AMX smo želeli v posameznih časovnih točkah po sproščanju ovrednotiti delež sproščene učinkovine in RP. Ker standardov za RP nismo imeli, nismo mogli posneti umeritvenih premic RP. Zato smo posneli UV spekter AMX in njegovih RP (slika 50). UV detekcija je potekala pri valovni dolžini 230 nm, kjer ima AMX maksimum absorpcije. Umeritvena premica za izračun koncentracije sproščenega AMX je bila narejena pri tej valovni dolžini. Iz UV spektra na sliki 50 smo ugotovili, da imajo RP pri valovni dolžini 230 nm večjo absorpcijo kot AMX. Zaradi tega umeritvene premice za izračun koncentracije sproščenega AMX ne moremo uporabiti za kvantitativno vrednotenje RP, saj bi dobili lažno nižje koncentracije razpadnih produktov.



Slika 50: UV spekter amoksicilina in njegovih razpadnih produktov v mediju 1.

7.2.5 OBLIKA IN VELIKOST TABLET PO KONČANEM 24-URNEM SPROŠČANJU

Po končanem 24-urnem sproščanju AMX smo vizualno ocenili obliko in velikost tablet (slika 51). Med poskusi plavanja in sproščanja učinkovine smo ugotovili, da tablete s ksantanom kot ogrodnim polimerom močno nabrekajo. Ta lastnost predstavlja eno od možnosti za zadrževanje farmacevtske oblike v želodcu, saj tablete večje od pilorične odprtine ostanejo v želodcu dlje časa. Tablete serije 9 (dodatek HPMC K100LV) imajo najmanj čvrsto ogrodje (slika 51). Njihova konsistenca je odvisna od pH medija, ionske moči ter hitrosti vrtenja mešal (rpm). Pri večji hitrosti vrtenja mešal tablete serije 9 popolnoma razpadejo po 24 urah, prav tako tudi v medijih 3 in 6. Tablete serij 7 (dodatek maltodekstrina) in 8 (dodatek LBG) ohranijo čvrsto, nabreklo, okroglo obliko tudi po končanem 24-urnem poskusu sproščanja. Tablete serije 7 ohranijo večjo konsistenco kot tablete serije 8. Lahko rečemo, da hitrost vrtenja mešal vpliva na velikost tablete, saj je pri rpm=100 velikost tablet manjša kot pri rpm=50. Tablete serij 7 in 8 izredno nabrekajo, saj se volumen tablet poveča tudi za več kot 100% (slika 51).

	SERIJA 7	SERIJA 8	SERIJA 9
MEDIJ 1 pH=3,0 (rpm=50)			
MEDIJ 1 pH=3,0 (rpm=100)			Vse tablete popolnoma razpadejo po 24 urah.
MEDIJ 2 pH=4,5			
MEDIJ 3 pH=6,8			Vse tablete razpadejo že po približno 1 uri in 30 minut.
MEDIJ 4 pH=3,0 ↑ ionska moč			
MEDIJ 5 pH=4,5 ↑ ionska moč			
MEDIJ 6 pH=1,2			Vse tablete popolnoma razpadejo po 24 urah.

Slika 51: Oblika in velikost izbranih serij tablet 7, 8, 9 v različnih medijih po končanem 24-urnem poskusu sproščanja na napravi 2 po USP. Natančna sestava tablet je podana v preglednici II. Natančna sestava medijev je prikazana v preglednici III.

8 SKLEP

Namen našega dela je bil izdelava in optimizacija dvoplastnih plavajočih tablet na osnovi ksantana, iz katerih bi se v 24-ih urah sprostito kar največ amoksicilina. Dvoplastne plavajoče tablete namreč predstavljajo obetavno možnost za izdelavo farmacevtske oblike za dostavo amoksicilina v želodec in s tem za učinkovito zdravljenje okužb z bakterijo *Helicobacter pylori*. Prva plast tablete takoj po stiku z medijem razpade in iz nje se sprosti amoksicilin, kar se kaže v takojšnjem dvigu koncentracije antibiotika v mediju. Druga plast tablete deluje kot rezervoar, iz katerega se preostanek učinkovine enakomerno sprošča.

V preliminarnih testih smo proučevali hitrost splavanja in hitrost sproščanja amoksicilina tako iz enoplastnih kot iz dvoplastnih tablet. Obe seriji tablet smo proučevali v fosfatnem pufru s pH 3,0 pri različni ionski moči. Ugotovili smo sledeče:

- pri nižji ionski moči je bilo sproščanje amoksicilina hitrejše, hitrost splavanja pa se je upočasnila tako pri enoplastnih kot pri dvoplastnih tabletah;
- sproščanje amoksicilina in splavanje tablet sta bila hitrejša iz dvoplastnih tablet tako pri višji kot pri nižji ionski moči;
- potopljenost tablet je povečala sproščanje amoksicilina le v mediju z višjo ionsko močjo.

Z zmanjšanjem deleža ksantana v tableti in vgradnjo različnih vodotopnih substanc v dvoplastne plavajoče tablete smo spremenili profile sproščanja amoksicilina:

- z vgradnjo saharoze, trehaloze in glukoze se je hitrost sproščanja amoksicilina zmanjšala;
- hitrost sproščanja amoksicilina smo povečali z vgradnjo maltodekstrina, semenske sluzi rožičevca ali hidroksipropilmetilceluloze v tablete. Iz slednjih se je sprostito več učinkovine v primerjavi z dvoplastnimi tabletami s semensko sluzjo rožičevca, saj so tablete s hidroksipropilmetilcelulozo hitreje erodirale.

Pri spremljanju hitrosti raztapljanja in razpada amoksicilina v različnih medijih smo ugotovili naslednje:

- prisotnost pomožnih snovi ni vplivala niti na hitrost raztapljanja niti na hitrost razpada amoksicilina;
- amoksicilin je bil najbolj stabilen pri pH 4,5, sledil je pH 3,0. Učinkovina je najhitreje razpadala pri pH 6,8 in 1,2. Izoelektrična točka amoksicilina je pri pH 4,8. Večji kot je odklon pH medija od izoelektrične točke učinkovine, hitrejši je razpad učinkovine;
- razpad amoksicilina smo dokazali s kromatogramom in UV spektrom učinkovine in njenih razpadnih produktov. Ker standardov razpadnih produktov nismo imeli, nismo mogli natančno ovrednotiti količine razpadnih produktov glede na sproščeni amoksicilin.

Po opravljenih preliminarnih testih so se kot najbolj optimalne izkazale tablete iz serij 7, 8 in 9 z naslednjim razmerjem vodotopne substance in ksantana:

- serija 7: maltodekstrin : ksantan = 25% : 75%,
- serija 8: semenska sluz rožičevca (LBG) : ksantan = 60% : 40%,
- serija 9: hidroksipropilmetilceluloza (HPMC K100LV) : ksantan = 60% : 40%.

Izbrane serije tablet smo raztapljali v medijih z različnimi pH vrednostmi in različno ionsko močjo ter pri različni hitrosti vrtenja mešal. Ugotovili smo:

- tablete iz vseh treh serij so splavale prej kot v 8-ih minutah. Pri višji ionski moči so tablete serij 7 in 8 splavale že v 15 sekundah, medtem ko je bil čas splavanja tablet serije 9 neodvisen od medijev za raztapljanje, in sicer 15 sekund;
- pri vseh treh serijah je bila pri nižji ionski moči hitrost sproščanja amoksicilina večja tako pri pH 3,0 kot pri pH 4,5; v medijih s pH vrednostmi 1,2 in 6,8 pa amoksicilin hitro razpada;
- tablete serij 7 in 8 ohranijo čvrsto, nabreklo, okroglo obliko tudi po končanem 24-urnem poskusu sproščanja. Tablete serije 9 imajo najmanj čvrsto ogrodje, saj je njihova konsistenca odvisna od pH medija, ionske moči ter hitrosti vrtenja mešal.

Kot najbolj optimalni in za nadaljnjo optimizacijo najbolj primerni sestavi predlagamo seriji tablet 7 in 8, torej dvoplastne tablete, kjer je poleg ksantana prisotna bodisi semenska sluz rožičevca bodisi maltodekstrin.

9 LITERATURA

1. Dorland's Illustrated Medical Dictionary 30th Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, ZDA 2003; 730
2. Slovenski Medicinski e-Slovar: Lek d.d. in Medicinska fakulteta, Ljubljana 2004
3. Kocijančič A, Mrevlje F: Interna medicina. DZS, Ljubljana 1998; 355-379
4. Arora S, Ali J, Ahuja A, Khar RK, Baboota S: Floating Drug Delivery Systems: A Review. *Pharmaceutical Science and Technology* 2005; 6: 372-390
5. Bardonnet PL, Faivre V, Pugh WJ, Piffaretti JC, Falson F: Gastroretentive dosage forms: Overview and special case of *Helicobacter pylori*. *Journal of Controlled Release* 2006; 111: 1-18
6. Baumgartner S: Vpliv gibanja prebavnega trakta na potovanje farmacevtskih oblik in absorpcijo učinkovin. *Farmacevtski vestnik* 2003; 54: 573-581
7. Streubel A, Siepmann J, Bodmeier R: Gastroretentive drug delivery systems: A Review. *Expert Opinion* 2006; 3: 217-233
8. Tang YD, Venkatraman SS, Boey FYC, Wang LW: Sustained release of hydrophobic and hydrophilic drugs from a floating dosage form. *International Journal of Pharmaceutics* 2007; 336: 159-165
9. Sungthongjeen S, Paeratakul O, Limmatvapirat S, Puttipipatkachorn S: Preparation and in vitro evaluation of a multiple-unit floating drug delivery system based on gas formation technique. *International Journal of Pharmaceutics* 2006; 324: 136-143
10. Tapia-Albarran M, Villafuerte-Robles L: Assay of amoxicillin sustained release from matrix tablets containing different proportions of Carbopol 971P NF. *International Journal of Pharmaceutics* 2004; 273: 121-127
11. Singh BN, Kim KH: Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. *Journal of Controlled Release* 2000; 63: 235-259
12. Kerč J, Opara J: A new amoxicillin/clavulanate therapeutic system: Preparation, in vitro and pharmacokinetic evaluation. *International Journal of Pharmaceutics* 2007; 335: 106-113

13. Ishak RAH, Awad GAS, Mortada ND, Nour SAK: Preparation, *in vitro* and *in vivo* evaluation of stomach-specific metronidazole-loaded alginate beads as local anti-*Helicobacter pylori* therapy. *Journal of Controlled Release* 2007; 119: 207-214
14. Ali J, Arora S, Ahuja A, Babbar AK, Sharma RK, Khar RK, Baboota S: Formulation and development of hydrodynamically balanced system for metformin: *In vitro* and *in vivo* evaluation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2007; 67: 196-201
15. Baumgartner S, Kristl J, Vrečer F, Vodopivec P, Zorko B: Optimisation of floating matrix tablets and evaluation of their gastric residence time. *International Journal of Pharmaceutics* 2000; 195: 125-135
16. Whitehead L, Fell JT, Collett JH, Sharma HL, Smith AM: Floating dosage forms: an *in vivo* study demonstrating prolonged gastric retention. *Journal of Controlled release* 1998; 55: 3-12
17. Chen J, Blevins WE, Park H, Park K: Gastric retention properties of superporous hydrogel composites. *Journal of Controlled Release* 2000; 64: 39-51
18. Hilton AK, Deasy PB: *In vitro* and *in vivo* evaluation of oral sustained-release floating dosage form of amoxicillin trihydrate. *International Journal of pharmaceutics* 1992; 86: 79-88
19. Yang L, Eshraghi J, Fassihi R: A new intragastric delivery system for the treatment of *Helicobacter pylori* associated gastric ulcer: *in vitro* evaluation. *Journal of Controlled Release* 1999; 57: 215-222
20. Majumdar D, Bebb J, Atherton J: *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcers. *Medicine* 2007; 35: 204-209
21. Osredkar J: Dihalni test s sečnino - njegovo mesto v diagnostiki. *Zdravniški vestnik* 2004; 73: 13-17
22. <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Helicobacter> (15.10.2008)
23. Ribarič S: Izbrana poglavja iz patološke fiziologije, 9.izdaja. Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo, Ljubljana 2003; 171-178
24. Megraud F, Trimoulet P, Lamouliatte H, Boyanova L: Bactericidal Effect of Amoxicillin on *Helicobacter pylori* in an *In Vitro* Model Using Epithelial Cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1991; 35: 869-872
25. http://www.helico.com/h_general.html (15.10.2008)

26. Gerrits MM, van Vliet AHM, Kuipers EJ, Kusters JG: *Helicobacter pylori* and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. *Infectious Diseases* 2006; 6: 699-709
27. Rajinikanth PS, Balasubramaniam J, Mishra B: Development and evaluation of a novel floating in situ gelling system of amoxicillin for eradication of *Helicobacter pylori*. *International Journal of Pharmaceutics* 2007; 335: 114-122
28. Rajinikanth PS, Mishra B: Floating in situ gelling system for stomach site-specific delivery of clarithromycin to eradicate *H. pylori*. *Journal of Controlled Release* 2008; 125: 33-41
29. Tokumura T, Machida Y: Preparation of amoxicillin intragastric buoyant sustained-release tablets and the dissolution characteristics. *Journal of Controlled Release* 2006; 110: 581-586
30. Boyanova L, Gergova G, Nikolov R, Davidkov L, Kamburov V, Jeleu C, Mitov I: Prevalence and evolution of *Helicobacter pylori* resistance to 6 antibacterial agents over 12 years and correlation between susceptibility testing methods. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2008; 60: 409-415
31. Krajnc U: Načrtovanje, izdelava in vrednotenje plavajočih tablet na osnovi ksantana. *Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2007*
32. Selgrad M, Malfertheiner P: New strategies for *Helicobacter pylori* eradication. *Current Opinion in Pharmacology* 2008; 8: 1-5
33. Vakil N, Megraud F: Eradication therapy for *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 2007; 133: 985-1001
34. *European Pharmacopoeia, 5th Ed. Strassbourg, Council of Europe 2007; 990-994*
35. *Martindale 35th Ed. Pharmaceutical Press 2007; 179-181*
36. *The Merck Index, 13th Ed. Merck Publishing, ZDA 2001; 96*
37. Stepišnik V: Predformulacijske raziskave amoksicilin trihidrata. *Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2002*
38. *The United States Pharmacopoeia, 28th Ed. United States Pharmacopoeial Convention, Inc., ZDA 2005; 143-148*
39. <http://en.wikipedia.org/wiki/Amoxicillin> (15.10.2008)
40. Perez-Lozano P, Garcia-Montoya E, Orriols A, Minarro M, Tico JR, Sune-Negre JM: Stability evaluation of amoxicillin in a solid premix veterinary formulation by

- monitoring the degradation products through a new HPLC analytical method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2006; 42: 192-199
41. Douša M, Hosmanova R: Rapid determination of amoxicillin in premixes by HPLC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2005; 37: 373-377
42. Williams DA, Lemke TL: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 5th Ed., 2002; 831-842
43. Kikelj D: Predavanja pri predmetu Farmaceutvska kemija II, šolsko leto 2003/2004
44. Tokumura T, Machida Y: UV absorption method should not be applied for determining amoxycillin in acidic dissolution test medium. *International Journal of Pharmaceutics* 2001; 228: 1-4
45. De Baere S, De Backer P: Quantitative determination of amoxicillin in animal feed using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta* 2007; 586: 319-325
46. Liu H, Wang H, Sunderland VB: An isocratic ion exchange HPLC method for the simultaneous determination of flucloxacillin and amoxicillin in a pharmaceutical formulation for injection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2005; 37: 395-398
47. Arabski M, Kazmierczak P, Wisniewska-Jarosinska M, Poplawski , Klupinska G, Chojnacki J, Drzewoski J, Blasiak J: Interaction of amoxicillin with DNA in human lymphocytes and *H. pylori*-infected and non-infected gastric mucosa cells. *Chemico-Biological Interactions* 2005; 152: 13-24
48. <http://www2.lek.si/veterina/amoksiklav/amoksicilin.htm> (15.10.2008)
49. Reyns T, Cherlet M, De Baere S, De Backer P, Croubels S: Rapid method for the quantification of amoxicillin and its major metabolites in pig tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with emphasis on stability issues. *Journal of Chromatography* 2008; 861: 108-116
50. Hoffman A, Danenberg HD, Katzhendler I, Shuval R, Gilhar D, Friedman M: Pharmacodynamic and pharmacokinetic rationales for the development of an oral controlled-release amoxicillin dosage form. *Journal of Controlled Release* 1998; 54: 29-37
51. Legen I, Kračun M, Salobir M, Kerč J: The evaluation of some pharmaceutically acceptable excipients as permeation enhancers for amoxicillin. *International Journal of Pharmaceutics* 2006; 308; 84-89

52. <http://www2.lek.si/veterina/amoksiklav/amoksiklav.htm> (15.10.2008)
53. www.zdravila.net (15.10.2008)
54. Vahdat L, Sunderland VB: Kinetics of amoxicillin and clavulanate degradation alone and in combination in aqueous solution under frozen conditions. *International Journal of Pharmaceutics* 2007; 342: 95-104
55. Valvo L, Manna L, Alimenti R, Alimonti S, Bertocchi P, Ciranni E: Amoxicillin sodium-potassium clavulanate: evaluation of gamma radiation induced effects by liquid chromatography on both the individual drugs and their combination. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis* 1999; 21: 9-14
56. Nagele E, Moritz R: Structure Elucidation of Degradation Products of the Antibiotic Amoxicillin with Ion Trap MSⁿ and Accurate Mass Determination by ESI TOF. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 2005; 16: 1670-1676
57. Ulijn RV, De Martin L, Halling PJ, Moore BD, Janssen AEM: Enzymatic synthesis of β -lactam antibiotics via direct condensation. *Journal of Biotechnology* 2002; 99: 215-222
58. Navarro PG, Blazquez IH, Osso BQ, de las Parras PJM, Puentedura MIM, Garcia AAM: Penicillin degradation catalysed by Zn(II) ions in methanol. *International Journal of Biological Macromolecules* 2003; 33: 159-166
59. Fernandez-Gonzales A, Badia R, Diaz-Garcia ME: Insight into the reaction of β -lactam antibiotics with copper(II) ions in aqueous and micellar media: Kinetic and spectrometric studies. *Analytical Biochemistry* 2005; 341: 113-121
60. Rozman B, Baumgartner S, Gašperlin M: Interakcije ksantana in semenske sluzi rožičevca v vodnih sistemih. *Farmacevtski vestnik* 2005; 56: 109-114
61. Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ: *Handbook of Pharmaceutical Excipients* 4th Ed. American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press 2003; 108-111, 123-124, 297-300, 552-555, 691-693
62. Katzbauer B: Properties and applications of xanthan gum. *Polymer Degradation and Stability* 1998; 59: 81-84
63. Medved M: Priprava polimernih kompleksov med ksantanom in hitosanom. *Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2007*
64. Kozjek M: Proučevanje sproščanja vodotopne učinkovine iz hidrofilnih in lipofilnih ogrodnih tablet. *Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2007*

65. Zibelnik T: Uporaba z aluminijevimi ioni premreženega ksantana za izdelavo tablet s podaljšanim sproščanjem. Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2006
66. Sovinc N: Prednosti sinergizma med ksantanom in semensko sluzjo rožičevca za izdelavo tablet s podaljšanim sproščanjem. Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2006
67. Bresolin TMB, Milas M, Rinaudo M, Ganter JLMS: Xanthan-galactomannan interactions as related to xanthan conformations. *International Journal of Biological macromolecules* 1998; 23: 263-275
68. Giannouli P, Morris ER: Cryogelation of xanthan. *Food Hydrocolloids* 2003; 17: 495-501
69. Capron I, Brigand G, Muller G: Thermal denaturation and renaturation of fermentation broth of xanthan: rheological consequences. *International Journal of Biological Macromolecules* 1998; 23: 215-225
70. Baumgartner S, Pavli M, Kristl J: Effect of calcium ions on the gelling and drug release characteristics of xanthan matrix tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2008; 69: 698-707
71. Strahovnik P: Vrednotenje vpliva ionske moči in pH medija na sproščanje pentoksifilina iz tablet ksantana. Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2005
72. Špajzer K: Izdelava in vrednotenje tablet s podaljšanim sproščanjem na osnovi kombinacij karagenanov in HPMC. Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2008
73. <http://en.wikipedia.org/wiki/Dextrin> (15.10.2008)
74. Torrado S, Prada P, de la Torre PM, Torrado S: Chitosan-poly(acrylic) acid polyionic complex: in vivo study to demonstrate prolonged gastric retention. *Biomaterials* 2004; 25: 917-923
75. Skoog DA, West DM, Holler FJ: *Foundamentals of analytical chemistry*, 7th Ed; Saunders College Publishing, Philadelphia 1996; 150
76. Talukdar MM, Kinget R: Swelling and drug release behaviour of xanthan gum matrix tablets. *International Journal of Pharmaceutics* 1995; 120: 63-72