

Univerza v Ljubljani
Fakulteta za farmacijo



SNEŽANA CERJANEC

**GRANULIRANJE TRDNIH DISPERZIJ TEŽKO TOPNE UČINKOVINE IN
POROZNEGA SiO₂ Z GASTROREZISTENTNIM POLIMEROM**

**GRANULATION OF SOLID DISPERSIONS OF POORLY WATER-SOLUBLE
MODEL DRUG AND POROUS SILICA WITH GASTRORESISTANT POLYMER**

Ljubljana, 2010

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvomizr. prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm.

Na prvem mestu bi se rada zahvalila mentorju,izr. prof. dr. Odonu Planinšku, za izreden občutek za delo s študenti, saj si je vedno vzel čas za reševanje problemov in mi pomagal z dobrimi nasveti. Zahvala gre tudi Borutu Kovačiču za pomoč pri eksperimentalnem delu in prijetno vzdušje v laboratoriju ter ostalim sodelavcem na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, ki so mi po potrebi priskočili na pomoč.

Najlepša hvala tudi staršem in sestri za vzpodbudo pri premagovanju ovir, ki nam jih prinaša življenje. Posebej bi se rada zahvalila mamici, zaradi katere sem se odločila za študij farmacije, kar bi zagotovo storila še enkrat.

Zahvala gre tudi ge. Biserki Flek Mirtič, profesorici slovenskega jezika in književnosti, za lekturo diplomskega dela in ge. Zvonki Šterbenc, profesorici angleškega jezika, za pregled povzetka v angleškem jeziku.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod vodstvom mentorjaizr. prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm..

Snežana Cerjanec

VSEBINA

Povzetek	IV
Abstract	V
SEZNAM OKRAJŠAV	VI
1. Uvod	1
1.1. Sproščanje učinkovine iz peroralnih pripravkov z nadzorovanim sproščanjem	2
1.2. Prednosti terapije s pripravki z nadzorovanim sproščanjem v primerjavi s konvencionalnimi pripravki	3
1.3. Omejitve terapije s pripravki z nadzorovanim sproščanjem	4
1.4. Izboljšanje raztapljanja učinkovin z uporabo poroznih pomožnih snovi	5
1.5. Trdne disperzije	5
1.6. Porozne pomožne snovi za izdelavo trdnih disperzij	6
1.7. Porozni SiO ₂ kot nosilec učinkovin	10
1.8. Pulzirajoče sproščanje	15
1.8.1. Klasifikacija pulzirajočega oziroma časovno nadzorovanega sproščanja	17
2. Namen dela	25
3. Eksperimentalno delo	27
3.1. Materiali	27
Modelna učinkovina	27
Pomožni snovi	28
Površinsko aktivna snov	28
Topili za pripravo trdnih disperzij	28
Gastrorezistentni polimeri	28
Reagenti za pripravo medijev za raztapljanje	28
Filtri	28
3.2. Aparature	30
3.3. Metode	31
3.3.1. Kvalitativna ocena topnosti učinkovine in gastrorezistentnih polimerov v različnih topilih	31
3.3.2. Izdelava trdne disperzije z odparevanjem topila pri znižanem tlaku	31
3.3.3. Oblaganje trdnih disperzij z gastrorezistentnimi polimeri	32
3.3.4. Granuliranje trdnih disperzij z Eudragitom® L30 D55	33
3.3.5. Analiza vzorcev	33
Določanje vsebnosti učinkovine	33
Test zadržanja sproščanja učinkovine v kislem mediju	34
Preizkus raztapljanja	34
Določitev specifične površine in porazdelitev velikosti por v trdnih disperzijah	35
Morfologija delcev	35
4. Rezultati in razprava	36
4.1. Morfologija delcev	36
4.2. Določitev specifične površine in porazdelitev velikosti por	37
4.3. Kvalitativna ocena topnosti učinkovine in gastrorezistentnih polimerov v različnih topilih	37

4.4.	Oblaganje trdne disperzije z gastrozistentnimi polimeri	39
4.5.	Granuliranje trdnih disperzij	41
4.6.	Rezultati preizkusa raztapljanja	44
4.6.1.	Raztapljanje čiste učinkovine in učinkovine iz trdne disperzije	44
4.6.2.	Sproščanje učinkovine iz granulata s polimerom Eudragit® L30 D55	47
4.6.3.	Sproščanje učinkovine iz granulirane trdne disperzije s polimerom Eudragit® L30 D55 (25 mg odmerka)	48
4.6.4.	Sproščanje učinkovine iz granulirane trdne disperzije s polimerom Eudragit® L30 D55 (50 mg odmerka)	48
4.6.5.	Sproščanje učinkovine iz granulirane trdne disperzije in fizikalne zmesi (Sylisia+učinkovina) s 6.0g disperzije polimera Eudragit® L30 D55 (25 mg odmerka)	50
5.	Zaključek	51
6.	Literatura	52

Povzetek

Veliko zdravilnih učinkovin je v vodi slabo topnih, slaba vodotopnost pa je omejujoč dejavnik za njihovo biološko uporabnost. Za izboljšanje vodotopnosti poznamo različne tehnike, ena takih, ki lahko bistveno izboljša raztapljanje in absorpcijo tovrstnih učinkovin, je priprava trdnih disperzij, v katerih se učinkovina nahaja v amorfni obliki. V diplomski nalogi smo izboljšali topnost in hitrost raztapljanja v vodi slabo topne modelne učinkovine z vgraditvijo v mezopore poroznega hidrofilnega silicijevega dioksida, Sylisia 350, in v porozni magnezijev aluminometasilikat, Neusilin US2. Trdne disperzije smo pripravili z odparevanjem topila pri znižanem tlaku.

V drugem delu diplomskega dela smo se ukvarjali z izdelavo formulacije z dvopulznim profilom sproščanja, iz katere hitri sprostitvi polovice odmerka v kislem sledi po spremembi pH še hitra sprostitve druge polovice odmerka v črevesju. Nadzorovano sproščanje je namreč eden največjih izzivov pri načrtovanju novih dostavnih sistemov, katerih namen je hiter doseg terapevtske koncentracije učinkovine v krvnem obtoku in nato vzdrževanje le te skozi daljše časovno obdobje.

Trdne disperzije učinkovine in Sylisie 350 smo oblagali z različnimi gastrozistentnimi polimeri, ki zadržijo sproščanje v kislem, in nato s ponovnim polnjenjem z učinkovino želeli izdelati formulacijo, iz katere bi se učinkovina sprostila v obliki dveh pulzov. Sprostitvi učinkovine pred oblogo pri pH 1.2 naj bi po spremembi pH (6.8) sledila še sprostitve učinkovine za gastrozistentno oblogo, vendar na ta način nismo dobili želenih rezultatov, saj so najverjetneje verige polimera predolge, da bi se v celoti naložile v poro in jo obložile. V najboljšem primeru se je v kislem sprostilo 30 % učinkovine, vzorec pa ni bil več uporaben za oblaganje z drugo polovico odmerka učinkovine. Z granuliranjem trdne disperzije učinkovine in Sylisie 350 s 6.0 g 30-% vodne disperzije gastrozistentnega polimera Eudragit® L30 D55 smo izdelali želeno formulacijo z dvopulznim profilom sproščanja. S količino dodanega polimera pri granuliranju smo dosegli, da se polovica odmerka sprosti pri pH 1.2 in druga polovica pri pH 6.8. Za uporabljeno modelno učinkovino, ki se po absorpciji hitro metabolizira, bi lahko na ta način izdelali zdravilo z manjšim odmerkom in frekvenco jemanja zdravila glede na registrirana zdravila. Zdravljenje bil bilo tako učinkovitejše in pacientu bolj prijazno z manjšo incidenco neželenih učinkov.

Abstract

There are many poorly water-soluble drugs. Their poor water solubility is the limiting factor of their bioavailability. The dissolution rate and absorption of such drugs can be improved by a variety of techniques. One of them is the preparation of solid dispersion in which a drug is in an amorphous form. So we have improved solubility and dissolution rate of a poorly water-soluble model drug by incorporation it into mesopores of porous silica (Sylisia 350) and into porous magnesium aluminosilicate (NeusilinUS2). Solid dispersions were prepared with evaporation of solvent under reduced pressure.

In the second part of my thesis we tried to prepare a formulation from which a drug was released in two pulses. Fast release of a drug in a stomach (pH 1.2) is followed by the second pulse in intestine due to the change of pH (6.8). The controlled release of therapeutic agents remains one of the biggest challenges in designing new drug delivery systems. The main goal of such system is to reach the therapeutic blood level as soon as possible after administration and to maintain it over an extended period.

The solid dispersion particles of the drug and Sylisia 350 were coated with different gastro resistant polymers which retained drug release in acid media and then by repeated drug loading we wanted to prepare a formulation from which the drug will be released in two pulses. The release of the drug before coating at pH 1.2 should follow the release of a drug after gastro resistant coating at pH 6.8. Results did not fulfil our expectation, as the polymer chains were probably too long to fit in the pore and load it entirely since approximately 30% of the drug was released at pH 1.2 at the best case. The sample was not usable to be loaded with the second half of the dose of the drug.

With the granulation of solid dispersion particles of the drug and Sylisia 350 with 6.0 g 30% water dispersion of gastro resistant polymer Eudragit® L30 D55 a formulation with two pulses released profile was made by adding additional polymer at granulation we achieved that one half of a drug was released at pH 1.2 and the second half at 6.8. With this technique it is possible to prepare for used model drug, which is after absorption fast metabolized, a medicine with reduced dose size and frequency of administration regarding the registered medicine. Such formulation provides more effective treatment, and compliance of patients is improved. It also reduces incidence of side effects.

SEZNAM OKRAJŠAV

BU – biološka uporabnost

GIT – gastrointestinalni trakt

SDS – natrijev dodecilsulfat

HPMC – hidroksipropilmetilceluloza

HPMCP – hidroksipropilmetilcelulozni ftalat

HPMC AS – hidroksipropilmetilcelulozni acetat sukcinat

THF – tetrahidrofuran

PXRD – rentgenska praškovna difrakcija

DSC – diferenčna dinamična kalorimetrija

1. Uvod

Nadzorovano sproščanje je eden največjih izzivov pri načrtovanju novih dostavnih sistemov. Ponavljajoče dajanje zdravila z namenom vzdrževanja koncentracije učinkovine znotraj terapevtskega okna lahko povzroči resne neželene učinke, saj nastopi pri konvencionalnih farmacevtskih oblikah kmalu po aplikaciji prehodna visoka koncentracija učinkovine v krvi, ker se iz tovrstnih sistemov naenkrat sprost celoten odmerek. Posledično lahko pride do pojava neželenih učinkov, ki v veliko primerih pripeljejo do tega, da bolnik preneha z jemanjem zdravila. Takšen primer je hipotenzija pri bolnikih, ki jemljejo nifedipinske pripravke s hitrim sproščanjem [1]. Zaradi tega se v zadnjem času posveča veliko pozornosti razvoju peroralnih farmacevtskih oblik, iz katerih se učinkovina po aplikaciji počasi sprošča v gastrointestinalni trakt skozi daljše časovno obdobje. Za tovrstne pripravke imamo na voljo veliko izrazov, kot so počasno sproščanje (slow release), dolgotrajno sproščanje (prolonged release), zadržano sproščanje (sustained release) in podaljšano sproščanje (extended release). Kot skupni imenovalac je s strani Evropske farmakopeje privzet izraz podaljšano sproščanje (extended release). Način sproščanja učinkovine iz tovrstnih pripravkov obsega tako kontinuirano kakor tudi do dvo- ali večpulzno sproščanje [1,2].

Pri mnogih bolezenskih stanjih je idealen režim odmerjanja tisti, kjer je terapevtska koncentracija učinkovine na mestu delovanja dosežena takoj in jo nato konstantno vzdržujemo poljuben čas trajanja terapije. To lahko dosežemo s ponavljajočim apliciranjem konvencionalnih peroralnih farmacevtskih oblik, a ima ta način številne potencialne pomanjkljivosti:

- Nihanje koncentracije učinkovine v plazmi in na mestu delovanja med zaporednimi intervali odmerjanja, tudi ko je ravnotežno stanje že doseženo.
 - Nihanje ravnotežnih plazemskih koncentracij učinkovine in izgubljanje učinkovine z mesta delovanja lahko vodi do predoziranja ali poddoziranja, v kolikor vrednosti maksimalnih in minimalnih ravnotežnih koncentracij segajo nad ali pod terapevtsko območje učinkovine.
 - Pri učinkovinah s kratko razpolovno dobo je potrebno ponavljajoče odmerjanje za dosego ravnotežnih plazemskih koncentracij znotraj terapevtskega območja.
- Pomanjkljiva komplanca pacienta (neredno jemanje zdravila, ne jemanje

zdravila ponoči) je pogosto pomemben razlog za neučinkovitost in neuspešnost zdravljenja.

Namen peroralnih pripravkov z nadzorovanim sproščanjem je zagotoviti hiter doseg konstantnih plazemskih koncentracij učinkovine znotraj terapijskega območja skozi daljši čas ali hiter doseg plazemskih koncentracij učinkovine, ki niso konstantne, ampak tako počasi upadajo, da še vedno ostajajo znotraj terapijskega območja učinkovine skozi daljši čas.

1.1. Sproščanje učinkovine iz peroralnih pripravkov z nadzorovanim sproščanjem

Da dosežemo takojšnjo terapijsko koncentracijo učinkovine v organizmu in jo nato vzdržujemo skozi daljše časovno obdobje, lahko celoten odmerek učinkovine vgradimo v farmacevtsko obliko v dveh delih, in sicer v obliki začetnega odmerka in vzdrževalnega odmerka, ki zagotavlja vzdrževanje terapijske koncentracije podaljšan čas. Začetni odmerek se iz pripravka z nadzorovanim sproščanjem sprosti takoj po aplikaciji. Namen hitre sprostitve in absorpcije začetnega odmerka je hiter doseg terapijske koncentracije učinkovine v telesu, kar omogoča hiter nastop želenega učinka (terapijskega odziva) zdravila. Tej fazi hitre sprostitve začetnega dela odmerka sledi počasno, a nadzorovano, sproščanje vzdrževalnega dela odmerka s kinetiko 0. reda z namenom vzdrževanja konstantne plazemske koncentracije učinkovine. Tako je profil sproščanja konstanten in neodvisen od količine vzdrževalnega odmerka, ki se še nahaja v farmacevtski obliki ob določenem času. Izpolnjena morata biti tudi dva pogoja, ki zagotavljata konstantno terapijsko koncentracijo učinkovine v telesu. Kinetika sproščanja vzdrževalnega odmerka in kinetika absorpcije morata biti pri takšnih zdravilih enaki stopnji izločanja oziroma eliminacije učinkovine iz telesa pri zahtevani terapijski koncentraciji učinkovine [2].

Zaradi spremenljivih fizioloških pogojev v gastrointestinalnem traktu je v praksi doseganje in vzdrževanje konstantnega profila sproščanja 0. reda težavno. Poleg tega konstanta eliminacije dane učinkovine varira od bolnika do bolnika zaradi genetskih in starostnih razlik ter razlik, ki se tičejo bolezenskega stanja [2].

Rečemo lahko, da večina pripravkov z nadzorovanim/zadržanim sproščanjem ne spada v kategorijo idealnih zdravil. Lahko jih opredelimo kot sisteme, iz katerih se del učinkovine

sprosti takoj, da se nemudoma zagotovi želeni terapevtski odziv, vzdrževalni odmerek učinkovine pa se nato počasi sprošča in zagotavlja podaljšano terapevtsko koncentracijo učinkovine v plazmi, ki pa ne ostane konstantna.

1.2. Prednosti terapije s pripravki z nadzorovanim sproščanjem v primerjavi s konvencionalnimi pripravki

1. Terapija je za bolnika prijaznejša, zaradi zmanjšanja števila in frekvence odmerkov učinkovine za doseg želenega terapevtskega odziva.
2. Izboljšano nadzorovanje vzdrževanja plazemskih koncentracij učinkovine omogoča:
 - a) Izboljšano terapijo pri mnogih kroničnih boleznih, pri katerih pride do izbruha simptomov, če plazemska koncentracija učinkovine pade pod minimalno efektivno koncentracijo (npr. astma, depresivne bolezni).
 - b) Vzdrževanje terapevtske aktivnosti znotraj periode ne jemanja zdravila (Ne jemanje protibolečinskih zdravil ponoči pri bolnikih v terminalnih stadijih bolezni izboljša njihov spanec.).
 - c) Zmanjšanje pojava in resnosti sistemskih neželenih učinkov, ki so posledica visokih plazemskih koncentracij učinkovine.
 - d) Zmanjšanje aplicirane količine učinkovine potrebne za terapijo, ki vodi v zmanjšanje pojava sistemskih in lokalnih neželenih učinkov.
3. Zmanjšanje pojava in resnosti lokaliziranih neželenih učinkov na GIT zaradi t.i. "dose dumping" dražeče učinkovine (kot je npr. kalijev klorid) iz konvencionih farmacevtskih oblik. Počasnejše sproščanje učinkovine iz peroralnih farmacevtskih oblik z nadzorovanim sproščanjem omogoča zmanjšanje lokalizirane dražeče koncentracije v GIT. Zaradi tega se kalijev klorid danes daje peroralno skoraj izključno v obliki pripravkov z zadržanim sproščanjem.
4. Terapija z uporabo pripravkov z zadržanim sproščanjem lahko pripomore, da bolniki manj dni izostanejo od dela ter manjkrat obiščejo bolnišnice in zdravstvene ambulante.

1.3. Omejitve terapije s pripravki z nadzorovanim sproščanjem

1. Spremenljivi fiziološki dejavniki, kot so gastrointestinalni pH, encimska aktivnost, čas prehoda zdravila skozi želodec in črevesje, hrana in bolezensko stanje, velikokrat vplivajo na biološko uporabnost učinkovine iz konvencionalnih pripravkov. Ti dejavniki prav tako vplivajo na natančnost nadzorovanja sproščanja in absorpcije učinkovine.
2. Tovrstni pripravki se lahko na določenem predelu v GIT ustavijo in posledično privedejo do močno povečane lokalne koncentracije učinkovine, ki povzroči lokalno draženje mukoze GIT. Pripravki z nadzorovanim sproščanjem, ki so načrtovani tako, da se razpršijo vzdolž GIT, manj verjetno povzročijo takšne zaplete.
3. Obstaja omejitev glede tipa učinkovine, ki je primeren za vgradnjo v tovrstni sistem. Na primer, učinkovine s kratko razpolovno dobo ($t_{1/2}$ je 1h ali manj) niso primerne za vgradnjo v formulacijo z zadržanim sproščanjem. Zaradi hitre eliminacije teh učinkovin iz telesa so za vzdrževalni odmerek potrebni zelo visoke odmerki, da zagotovimo 8-12 h trajajočo terapijo po enkratni aplikaciji pripravka z zadržanim sproščanjem. Poleg potencialnega tveganja, ki spremlja aplikacijo tako visokega odmerka učinkovine, predstavlja tudi velikost takšnega pripravka težavo pri peroralni aplikaciji. Učinkovine z razpolovno dobo med 4-6 h so dobri kandidati za vgradnjo v tovrstne sisteme. Tudi ostali dejavniki poleg razpolovne dobe lahko izločijo učinkovino glede primernosti za vgradnjo v tovrstne sisteme, in sicer slabi kandidati so tudi učinkovine s specifičnimi zahtevami glede absorpcije iz GIT. Za zagotovitev zadovoljivega podaljšanega delovanja učinkovine je potrebno, da se ta dobro absorbira iz vseh predelov, ko pripravek potuje vzdolž GIT.
4. Pripravki z zadržanim sproščanjem navadno vsebujejo večji odmerek učinkovine v primerjavi z enodmernimi konvencionalnimi pripravki. V kolikor so ti nepravilno izdelani, lahko pride do nevarnega predoziranja, kadar se celotna količina učinkovine sprostí naenkrat v prekratnem časovnem intervalu. Zaradi tega bi bilo učinkovine z močnim delovanjem nespametno vgrajevati v tovrstne formulacije.
5. Pripravki z zadržanim sproščanjem so dražji v primerjavi s konvencionalnimi, ki vsebujejo isto učinkovino. [2].

1.4. Izboljšanje raztapljanja učinkovin z uporabo poroznih pomožnih snovi

Za veliko učinkovin je slaba topnost v vodi omejujoč faktor za njihovo biološko uporabnost. V vodi slabo topne učinkovine zahtevajo več časa za raztapljanje, kot ga imajo na voljo za absorpcijo v gastrointestinalnem traktu [3]. Zmanjšana topnost ali raztapljanje učinkovine v gastrointestinalnem traktu vodi v zmanjšano in variabilno absorpcijo učinkovine [4]. Raztapljanje učinkovine lahko izboljšamo na različne načine. Znano je, da velika specifična površina učinkovine omogoča hitro raztapljanje in učinkovito absorpcijo v telesu. Eden od načinov za povečanje specifične površine je zmanjšanje velikosti delcev oziroma mikronizacija. Znanih je več metod, in sicer mehansko drobljenje, sušenje z razprševanjem ali zamrzovanjem, prekristalizacija iz raztopine z uporabo netopil oziroma »in situ« mikronizacija. Zaradi ekstremno majhnih delcev, ki težijo k aglomeriranju, je rokovanje z mikronizirano učinkovino pogosto problematično, zato je delce potrebno še stabilizirati. [5]. Med nosilce učinkovin za nadzorovano sproščanje, ki so jih preiskovali skozi leta, spadajo predvsem emulzije tipa o/v, liposomi, mikro- ter nanodelci, izdelani iz sinteznih polimerov ali naravnih makromolekul. Izdelava trdnih disperzij je v farmaciji pomemben pristop za izboljšanje topnosti v vodi slabo topnih učinkovin [6,9].

1.5. Trdne disperzije

Trdna disperzija je disperzija ene ali več aktivnih komponent v trdnem inertnem nosilcu. Pripravimo jo lahko s taljenjem, raztapljanjem ali s kombinacijo obeh metod. S trdnimi disperzijami želimo najpogosteje povečati hitrost raztapljanja in s tem doseči prenasičeno koncentracijo raztopine učinkovine na mestu absorpcije. Nastanejo lahko različne strukture: enostavne evtektične zmesi, trdne raztopine, steklaste raztopine in suspenzije, amorfni precipitati v oziroma na kristalnem nosilcu, kompleksne spojine ali kombinacije zgoraj naštetih struktur [10,11].

Trdne disperzije omogočajo ob stiku z vodnim medijem hitro sprostitev pomožnih snovi, težko topna učinkovina pa se sprosti v obliki koloidnih delcev, ki imajo veliko specifično površino. S tem se povečata topnost in posledično biološka uporabnost zdravilne učinkovine. To je velika prednost trdnih disperzij, vendar njihovo uporabo omejujejo

problemi pri izdelavi, kot na primer neustrezna topnost učinkovine in pomožne snovi v istem topilu pri metodi izdelave z raztapljanjem. Problem je tudi neponovljivost fizikalno-kemijskih lastnosti (delež kristaliničnosti oziroma amorfности), ki lahko nastane npr. zaradi različnega razmerja učinkovina-topilo ali pomožna snov-topilo. Težave se pojavijo tudi v povezavi z razvojem farmacevtske oblike, kot na primer lepljivost, slabe pretočne lastnosti, kar je pomemben omejitveni faktor pri tabletiranju ali kapsuliranju trdne disperzije. Najpogostejši primer fizikalne nestabilnosti trdnih disperzij pa je kristalizacija učinkovine in pomožne snovi [11].

Kljub vsemu pa poznamo izboljšave, ki omogočajo industrijsko proizvodnjo trdnih disperzij. Kot takšne uporabljamo polnjenje želatinskih kapsul s talino, ki jo nato ohladimo pri sobni temperaturi. Druge možnosti so uporaba površinsko aktivnih snovi, oblaganje jeder z raztopino učinkovine in pomožne snovi v zvrtnih plasteh, ekstruzija taline, tehnologija s superkritičnimi tekočinami in druge tehnike (npr. granuliranje s talinami, evaporacijsko obarjanje v vodno raztopino, elektrostatska metoda s taljenjem, metoda odparevanja topila - adsorpcija učinkovine na porozen silicijev dioksid). Trdne disperzije izdelane z metodo odparevanja topila (kjer ostane pomožna snov neraztopljena, učinkovina pa se obori v porah oziroma adsorbira na površini) imajo boljše pretočne lastnosti in boljšo stisljivost kot tiste izdelane s taljenjem, zaradi česar je izdelava tablet iz njih lahko dokaj enostavna. Uporabimo lahko namreč relativno majhen delež polnila in razgrajevala, dobimo pa tablete, iz katerih se učinkovina zelo hitro v celoti sprosti [12].

1.6. Porozne pomožne snovi za izdelavo trdnih disperzij

V zadnjem času so za nadzorovano sproščanje kot pomožne snovi aktualne tudi porozne snovi. Gre za trdne snovi z nizko gostoto in strukturo, ki zagotavlja veliko specifično površino, kamor se nalaga oziroma adsorbira učinkovina. V farmaciji jih uporabljamo za več namenov vključno z razvojem novih dostavnih sistemov, kot so plavajoči sistemi in sistemi z nadzorovanim sproščanjem ter ciljno terapijo. Z njimi lahko tudi izboljšamo raztapljanje težko topnih učinkovin in tako izboljšamo njihovo biološko uporabnost. [13].

Med netopne porozne pomožne snovi, ki jih najdemo v farmacevtski literaturi za pripravo trdnih disperzij, spadajo porozni silicijev dioksid (Sylysia) [14-17], polipropilenski penasti prašek (polypropylene foam powder npr. Accurel) [18], porozni kalcijev silikat (Florite)

[13,19], porozni magnezijev aluminijev meta silikat (Neusilin) [20], porozno steklo [21], zeolit [22] in porozna keramika [23]. Kot nosilce učinkovin za peroralno aplikacijo so preučevali tudi določene mezoporozne snovi s porami premera med 2 in 50 nm. V to skupino spadajo npr. mezoporozni silikati, ki se najpogosteje uporabljajo in veliko obetajo kot snovi za izboljšanje raztapljanja učinkovin. [24-27].

Ito in sodelavci so v raziskavi predstavili pretvorbo tekoče disperzije v trdno formulacijo gentamicina za peroralno aplikacijo z uporabo poroznega adsorbenta [28]. Gentamicin je pomembna široko spektralna antibakterijska učinkovina za zdravljenje infekcij povzročenih z Gram-negativnimi bacili in Gram-pozitivnimi koki, a je njegova klinična uporaba omejena le na paranteralne pripravke (injekcije) in topikalne farmacevtske oblike. Za peroralno aplikacijo gentamicina so značilni nezaželeni učinki, ki vključujejo zlasti nefrotoksičnost in ototoksičnost. Ker je gentamicin polarna v vodi topna učinkovina, se slabo absorbira iz GIT, saj težko prehaja iz črevesja skozi lipofilno membrano v krvni obtok. Posledica nizke permeabilnosti učinkovine skozi intestinalno membrano je nizka biološka uporabnost po peroralni aplikaciji. Gentamicin so dispergirali v Labrazolu (neionski emulgator, zmes mono-, di- in trigliceridov oktanojske in dekanoske kisline in estrov oktanojske in dekanoske kisline z makrogoli z relativno molekulsko maso od 200 do 400) in dobili samomikroemulgirajoči dostavni sistem, ki v vodnem okolju tankega črevesja tvori mikroemulzijo z učinkovino v majhnih oljnih kapljicah. Rahlo mešanje oziroma tresenje, ki je potrebno za emulgiranje, zagotovi motiliteta črevesja. Labrasol tvori micele v GIT in poveča fluidnost membrane, o čemer je poročal že Koga [29]. Da ima Labrasol pomembno vlogo pri povečanju absorpcije gentamicina, še posebej iz ileuma podgan, je ugotovil tudi Prasad [30]. Biološka uporabnost tekoče disperzije gentamicina in Labrasola (1.0 mg/kg) je znašala kar 55 %. Z vidika prijaznosti terapije do bolnika so trdne farmacevtske oblike bolj zaželeno od tekočih, zato so v tej raziskavi disperziji učinkovine in emulgatorja dodali porozen adsorbent, da je nastala trdna disperzija. Kot porozni nosilec so uporabili mikroporozni kalcijev silikat (Florite™ RE), magnezijev aluminijev meta silikat (Neusilin™ US2) in silicijev dioksid (Sylsia™ 320). Pri raztapljanju v fosfatnem pufru (pH 7.4) so dobili najboljše rezultate z uporabo silicijevega dioksida, saj se je v 9 min raztopila polovica odmerka, v primeru kalcijevega silikata in Mg Al meta silikata so opazili podaljšano sproščanje. Za in vivo študijo absorpcije gentamicina so pripravke prvi skupini podgan aplicirali intravensko, drugi skupini pa v ileum in s

primerjavo obeh AUC-jev določili absolutno biološko uporabnost. Najvišje plazemske koncentracije so opazili pri pripravku, ki je vseboval kalcijev silikat, pri katerem je znašala absolutna biološka uporabnost gentamicina 14.1 %. Od vseh treh poroznih nosilcev ima kalcijev silikat najmanjšo specifično površino, ki znaša 120 m²/g, sledi Neusilin US2 z 280 m²/g in silicijev dioksid s 300 m²/g. Ugotovili so, da ima kapaciteta adsorbenta pomemben vpliv na biološko uporabnost učinkovine. Z večanjem specifične površine nosilca je sproščanje učinkovine počasnejše, saj je ta v GIT slabše dispergirana. Za in vivo študijo na psih so trdno disperzijo s kalcijevim silikatом kot nosilcem učinkovine napolnili v gastrozistentne kapsule (Eudragit S100, pH meja za pričetek raztapljanja je pri vrednosti 6.0). Po peroralni aplikaciji je znašal zakasnitveni čas (lag time) absorpcije 1 h, BU pa 10.7 %. [29]. Podobne rezultate so dobili tudi za lanzoprazol, kjer so poleg prejšnjih treh adsorbentov uporabili tudi Sylysio 550 s specifično površino 500 m²/g in srednjim premerom delcev 3.9 µm (3.2 za siliko 320 in 100 za Neusilin US2). Delci z manjšim premerom so dobro razporejeni za prehod v mikrovile tankega črevesja. Poleg Labrazola so uporabili še dva druga neionska emulgatorja, in sicer Tween 80 in polietoksilirano ricinusovo olje. Najvišjo absolutno biološko uporabnost po intraduodenalni aplikaciji pri podganah (28 %) so dobili s kombinacijo Sylysio 550 in polietoksiliranega ricinusovega olja. Sistem so napolnili v gastrozistentne kapsule (hidroksipropilmetilcelulozni ftalat, pH meja za pričetek raztapljanja je pri vrednosti 5.5), katerih BU je pri psih po peroralni aplikaciji znašala 71.7 %. Enak sistem so uporabili še za gentamicin in prav tako dobili dobre rezultate [28].

Pogosto se za izdelavo trdnih disperzij uporabljata metodi sušenja z razprševanjem in oblaganje jeder, a zahtevata uporabo velikih količin organskih topil za raztapljanje učinkovine in hidrofilnega polimera, ki v večini primerov služi kot ogrodje sistema. Takšna poraba organskih topil pa povzroča številne težave vključno z onesnaževanjem okolja in toksičnostjo, ki je posledica rezidualnih topil. Kinoshita in sodelavci so v raziskavi predstavili metodo taljenja v vodi slabo topne učinkovine (2-bis(4-metoksifenil)metilen-2-indolinon) in polnjenja v pore kalcijevega silikata (FLORITE® RE) brez uporabe organskih topil [19]. Porozni kalcijev silikat lahko v svoje številne pore adsorbira veliko količino olja (4-6 mL/g), zato se uporablja tudi za pripravo trdnih formulacij oljnatih substanc, kot je npr. vitamin E. Taljenje in polnjenje učinkovine v pore je potekalo z metodo s steklenimi ampulami, kjer kristale učinkovine in nosilec segrevajo v

stekleni ampuli brez topil, učinkovina se stali in sorbira v nosilec. O stabilnosti amorfnе oblike, povečani topnosti in absorpciji učinkovine niso poročali, poleg tega zaradi majhnega obsega proizvodnje tehnologija s steklenimi ampulami ni primerna za prenos v industrijsko merilo. Trdno disperzijo so izdelali tudi z uporabo ekstrudorja z dvojnim vijakom, v katerem sta temperatura in sila gnetenja sočasno nadzorovani. Ekstrudor se široko uporablja v farmacevtski in živilski industriji ter industriji plastičnih mas, poleg tega omogoča znatno večji obseg proizvodnje kakor prej omenjena metoda. Pri na ta način izdelani trdni disperziji ni prišlo do rekristalizacije učinkovine pri sobni T in vlažnosti še vsaj 2 leti. Optimalno razmerje učinkovina : nosilec kalcijev silikat (FLORITE® RE) je 1:2 ali 1:3. Topnost kristalov učinkovine in fizikalne zmesi (učinkovina + nosilec) v vodi je podobna in približno 20-krat manjša v primerjavi z učinkovino v trdni disperziji. Raztapljanje učinkovine iz trdne disperzije v raztopini 0.8 % natrijevega lavril sulfata je prav tako znatno hitrejša (20 min raztopi celotna količina), v primerjavi s kristalno obliko ali fizikalno zmesjo, kjer se po 60 min raztopi le 70 % učinkovine. Z in vivo testom na psih so opazovali stopnjo absorpcije učinkovine v obliki trdne disperzije in kristalov napolnjenih v kapsule pri različnih pogojih hranjenja psov (postenje, standardno prehranjevanje, dieta z rižem). Z metodo polnjenja učinkovine v porozni kalcijev silikat so izboljšali absorpcijo in biološko uporabnost učinkovine pri psih ne glede na način prehranjevanja, kar je posledica primarnega izboljšanja topnosti v povezavi z amorfnim stanjem učinkovine. Namesto kalcijevega silikata se kot adsorbenti lahko uporabljajo tudi druge porozne snovi. Metoda ne zahteva topil in omogoča kontinuirano proizvodnjo stabilne amorfnе učinkovine s pomočjo ekstrudorja [19].

Sharma in sodelavci so s poroznim kalcijevim silikatom (FLORITE® RE), kot nosilcem učinkovine, želeli izboljšati raztapljanje meloksikama, ki je slabo topen tudi v polarnih organskih topilih, kot sta etanol in metanol [13]. Ta se je adsorbiral na nosilec iz raztopine v kloroformu, v katerem so dispergirali porozni kalcijev silikat, v razmerju učinkovina : nosilec 1:0.5, 1:1 in 1:3. S hitrim odparevanjem topila so nastali mikrodenci. Izkoristek procesa adsorpcije je znašal od 80 do 90 % (ut/ut). Prisotnost vodikovih vezi med karbonilno skupino meloksikama in silanolnimi skupinami kalcijevega silikata, o čemer je poročal že Kinoshita [19], so dokazali z analizo IR, DSC in rentgensko praškovo difrakcijo (PXRD). Nasičena topnost čiste učinkovine (15.45 µg/mL) v destilirani vodi (pH 6.8) se bistveno ne razlikuje v primerjavi z meloksikamom iz mikrodenc (16.20 µg/mL).

Da se adsorbirana učinkovina nahaja tudi v kristalni obliki (zaradi rekristalizacije), je razvidno tudi iz DSC- in PXRD- spektrov, vendar v primeru mikrodolcev aglomeracije kristalov niso opazili. Raztapljanje meloksikama iz mikrodolcev je znatno hitrejše v primerjavi s čisto učinkovino. Večji kot je delež nosilca, hitrejši je profil raztapljanja. Čas, v katerem se komulativno raztopi 80 % odmerka, znaša za čisto učinkovino 1349 min, 44 min za mikrodolce z razmerjem 1:1 in 3.9 min za razmerje 1:3. Za mikrodolce z razmerjem učinkovina : nosilec 1:0.5 je značilno podaljšano sproščanje, verjetno zaradi premajhne količine nosilca za adsorpcijo. Učinkovini se z adsorpcijo poveča njena specifična površina in zmanjša velikost kristalov, velika specifična površina nosilca pa zmanjša možnost aglomeracije delcev učinkovine. Ker je porozni kalcijev silikat v vodnih medijih dobro topen, v teh medijih poveča močljivost učinkovine. Z direktnim tabletiranjem so iz mikrodolcev izdelali tablete, ki imajo (zlasti v razmerju 1:3) v primerjavi s komercialnimi kasnejši razpad (18.67 sekunde za razmerje 1:1, 38.67 sekunde pri 1:3 in 17.67 sekunde za komercialne tablete). Majhna krušljivost tablet in dobre mehanske lastnosti so posledica lomljivosti in plastične deformacije strukture kalcijevega silikata, kar se ujema z dognanji Yuasa [31]. Pri raztapljanju v fosfatnem pufru (pH 7.4) se iz opisanih na novo razvitih tablet v 10 min komulativno sprosti več učinkovine (97 %) kot pa iz tablet na tržišču (79 %). Zaradi slabe topnosti meloksikama v kislem mediju se tudi po 2 h raztapljanja v 0.1 M HCl in ob prisotnosti poroznega nosilca ne sprosti celotna količina učinkovine. V tem mediju se komulativno iz komercialnih tablet sprosti 12.5 % meloksikama, iz tablet iz mikrodolcev pa 31 % (1:1) oziroma 46.3 % (1:3) [13].

1.7. Porozni SiO₂ kot nosilec učinkovin

Silicijev dioksid obstaja v dveh osnovnih oblikah, kristalni in amorfni. V kristalni obliki je eden izmed najbolj razširjenih mineralov na Zemlji, kamor spadajo kvarz, kristobalit in tridimit. Medtem ko je kristalni toksičen, (večina bolezni - silikoz, povezanih s kristalnim silicijevim dioksidom, je posledica vdihavanja delcev) se amorfna oblika uporablja tudi v farmacevtske namene. Amorfne oblike silicijevega dioksida so: steklo, diatomejska zemlja in silikagel [32].

Silicijev dioksid v farmaciji je amorfni SiO₂, z veliko specifično površino in poroznostjo, uporabljamo pa tudi neporoznega (Aerosil). Po klasifikaciji FDA (Food and Drug Administration) je uvrščen med biokompatibilne materiale (Generally Recognised As Safe,

GRAS) [33]. Poleg ostalih namenov se uporablja tudi kot drsilo za izboljšanje pretočnih lastnosti praškaste zmesi pri procesu tabletiranja za zagotavljanje enakomernejše vsebnosti.

V več raziskavah so preučevali možnost uporabe SiO_2 kot nosilca v vodi slabo topnih učinkovin v trdni disperziji za izboljšanje raztapljanja. Z metodo sušenja z razprševanjem indometacina in poroznega silicijevega dioksida (Sylsia 350) je nastala trdna disperzija z indometacinom v amorfni obliki. Najverjetneje se je vgradil v mezopore, kar je preprečilo kristalizacijo učinkovine [34]. O interakcijah med molekulami učinkovin in silanolnimi skupinami silike so poročali že mnogi. Silanolna skupina na površini silike teži k tvorbi vodikovih vezi s karbonilno skupino učinkovine [34-38]. Indometacin je v trdni disperziji dobro dispergiran, saj je v pore silike ujet z vodikovimi vezmi. Izdelali so tudi trdno disperzijo z neporoznim SiO_2 (Aerosil 200) in ugotovili, da se učinkovina nahaja v amornem stanju ne glede na tip silike. Učinkovina se je iz trdne disperzije s siliko 350 hitro sprostila pri vseh proučevanih koncentracijah vgrajene učinkovine (učinkovina : Sylsia 350 3:1, 1:1 in 1:3). V primerjavi z Aerosilom 200 je raztapljanje učinkovine iz poroznega SiO_2 hitrejše. Amorfna struktura je bila stabilna še vsaj dva meseca pri povišani temperaturi in vlažnosti za razliko od amorfne oblike indometacina brez SiO_2 , ki pri enakih pogojih hitro kristalizira. Podobne rezultate (izboljšanje hitrosti raztapljanja in amorfno obliko učinkovine v disperziji) so dobili tudi pri tolbutamidu in spironolaktonu [16, 34, 35].

Indometacin je služil tudi kot modelna učinkovina pri preučevanju interakcij nosilec-
učinkovina v trdni disperziji v amorfni obliki, pripravljeni z mletjem, kjer so kot nosilec učinkovine uporabili vodotopen polivinil pirolidon (PVP) in nanodelce silike. Poleg metode odparevanja topila je tudi mletje ena od učinkovitih metod za pripravo trdne disperzije z namenom povečanja raztapljanja učinkovine. Tudi na ta način lahko napolnimo pore SiO_2 . Zaradi interakcije indometacina z mejno površino nosilca je preprečena rekristalizacija učinkovine. Mehanizem interakcije med učinkovino in PVP je tvorba vodikovih vezi, med SiO_2 in indometacinom pa Si-O-C vez. V sistemu indometacin- SiO_2 se poveča ravnotežna topnost učinkovine [38].

Ohta je s sodelavci uporabil SiO_2 kot nosilec učinkovine za pripravke z nadzorovanim sproščanjem z visoko vsebnostjo učinkovine [39]. Silikagel so potopili v minimalno

potrebno količino vodne raztopine ali etanolne suspenzije teofilina. Z večkratnim polnjenjem je po sorpciji celotne količine raztopine oziroma suspenzije in sušenju v običajnem sušilniku sledilo oblaganje z vodno disperzijo etilceluloze (Aquacoat[®]), polovico delcev so še dodatno obložili z vodno raztopino hidroksipropilmetilceluloze (HPMC). Z oblaganjem delcev trdne disperzije so želeli upočasniti raztapljanje teofilina. Silikagel lahko sorbira tudi do 450 mg učinkovine/g s ponavljajočim postopkom sorpcije in sušenja. Za sorbirani teofilin je značilna amorfna struktura. Znano je, da teofilin obstaja v brezvodni obliki ali v obliki monohidrata. Pri povišani temperaturi in vlažnosti pride do pretvorbe anhidrata v hidrat. Opazili so pretvorbo amorfne oblike teofilina v anhidrat pri vseh pogojih shranjevanja, najintenzivneje pa pri 60 °C in 75 % vlažnosti. Študija mehanizma nalaganja učinkovine je pokazala, da se ta nalaga v pore z adsorpcijo iz raztopine, pomemben faktor učinkovitosti nalaganja je torej topnost učinkovine. Le raztopljene molekule teofilina so se ujele v pore, dispergirani delci pa ne. Poleg adsorpcije iz tekočine se učinkovina nalaga tudi z obarjanjem v večje pore. Tudi Takeuchi [40] je poročal, da sta procesa obarjanje in adsorpcija iz raztopine odvisna od polarnosti topila, v katerem je raztopljena oziroma dispergirana učinkovina. Interakcije med teofilinom in SiO₂ so intenzivnejše v vodi kakor v etanolu. Učinkovina se je naložila tako na zunanjo površino, kakor tudi v pore silikagela, ne glede na to ali je bila raztopljena v vodi ali suspendirana v etanolu, a je sorpcija učinkovine iz etanola relativno nizka v primerjavi s sorpcijo učinkovine iz vode. Test raztapljanja učinkovine je potekal v kislem pufru s pH 1.2 in fosfatnem s pH 6.8 5 h za učinkovino in neobložene delce in 10 h v primeru obloženih delcev, z oblaganjem delcev so želeli upočasniti raztapljanje učinkovine. Pri obeh pufrih so prišli do podobnih ugotovitev. Teofilin se takoj po začetku raztapljanja v celoti raztopi, skoraj enak profil sproščanja izkazuje tudi učinkovina adsorbirana na silikagel. Učinkovina se iz vzorcev pripravljenih iz etanola sprošča počasneje od vzorcev pripravljenih iz vodne raztopine zlasti iz pripravkov z enojno oblogo Aquacoat[®]. Polimerna obloga je upočasnila sproščanje, še posebej v primeru dodatnega oblaganja s HPMC, ki zgladi površino silikagela in skupaj z Aquacoat[®] tvori obstojen film. Te ugotovitve se ujemajo z dognanji Thoma in Bechtolda [41], da dodatna obloga še bolj zgladi površino delca ter Ichikawe [42], ki je poročal o učinkovitosti dodatne obloge za dosego zadržanega sproščanja. Pri obloženem silikagelu so med testom raztapljanja pri obeh vrednostih pH (1.2 in 6.8) opazili plavajoče lastnosti delcev ali tablet, ki so posledica porozne strukture silikagela [39].

Smirnova in sodelavci so preučevali uporabo hidrofilnih silicijevih aerogelov različnih gostot kot nosilcev učinkovin, ketoprofena in griseofulvina, ter vpliv lastnosti aerogelov na raztapljanje v vodi slabo topnih učinkovin [5]. Silicijevi aerogeli so trdni delci z nizko gostoto in s strukturo odprtih por. Njihove edinstvene lastnosti so posledica načina priprave, ki omogoča nastanek ekstremno majhnih por (5-100 nm), zelo veliko specifično površino (500-1000 m²/g) in nizko gostoto (0.003-0.15 g/cm³) ter neobičajno mikrostrukturo. S površinsko modifikacijo ali reakcijami med sol-gel postopkom lahko v strukturo aerogela vgradimo različne funkcionalne skupine ter tako omogočimo želene interakcije, da zagotovimo učinkovito adsorpcijo učinkovine. Silicijevi aerogeli izboljšajo pretočnost prahov učinkoviteje od običajnih pomožnih snovi. V primerjavi s silikagelom so bolj porozni in imajo večjo specifično površino. Nahajajo se v obliki praška ali monolitov različnih oblik in velikosti. Narava aerogelov sega od popolnoma hidrofilnih, katerih struktura ob stiku z vodo v trenutku razpade in se tako učinkovina iz njih hitro sprosti, pa vse do popolnoma hidrofobnih, ki na vodi plavajo več ur, ne da bi se omočili. Da so se izognili stiku s tekočo fazo in možnosti razpada aerogelov, je adsorpcija učinkovine na nosilec potekala iz superkričnega CO₂, ki ga zlahka odstranimo iz sistema. Superkrični CO₂ so kot topilo za polnjenje poroznih materialov uporabljali že pri nekaterih drugih študijah, saj je v njem topnih veliko učinkovin. Aerogeli lahko adsorbirajo relativno visok delež ketoprofena, in sicer več kot 0.3g/g nosilca. Vsebnost ketoprofena v aerogelih gostote 0.03 g/cm³ < ρ < 0.08 g/cm³ znaša 25 % in le 5.3 % za griseofulvin, razlog je verjetno v odsotnosti polarnih skupin, ki bi omogočale interakcijo s silanolnimi skupinami nosilca ali tvorbo vodikovih vezi, kar je značilno za ketoprofen. Molekule učinkovine so adsorbirane na površino aerogela kot amorfna monomolekularna plast, ugotovitev je podprta z Langmuir-jevim tipom izoterme. Učinkovina se iz aerogela sprošča po kinetiki 1. reda. Primerjali so raztapljanje (0.1 N HCl) učinkovine adsorbirane na nosilcu v primerjavi s kristali z distribucijo delcev od 700 nm-15 μm za ketoprofen, kristali griseofulvina so manjši, in sicer od 100 nm-10 μm. Sproščanje učinkovine iz aerogela je 5-krat hitrejše v primerjavi z raztapljanjem kristalne oblike ketoprofena. Medtem ko se iz aerogela sprosti 80 % učinkovine v 50 min, je za raztopitev 80 % kristalne oblike potrebno približno 200min. Za griseofulvin so dobili podobne rezultate, in sicer 80 % učinkovine se sprosti v 30 min, kar je 4-krat hitrejše od kristalne oblike in 2-krat hitreje od mikroniziranega griseofulvina. Hitrejše sproščanje adsorbirane učinkovine je posledica povečane specifične površine molekul učinkovine zaradi adsorpcije, hidrofilne narave aerogelov, ki v vodi hitro

razpadejo. Razlog za razpad so kapilarne sile zaradi površinske napetosti, ko voda vstopi v pore nanometrskih velikosti. Trdna struktura silike se v celoti prelomi in aerogel izgubi trdno integriteto. Tako so molekule učinkovine takoj obdane z molekulami vode in se zato hitreje raztopijo. Poleg tega je adsorbirana učinkovina v amorfni obliki, kar pomeni, da za razgradnjo kristalne rešetke ni potrebna energija, kot je to potrebno pri kristalni obliki. Energija je potrebna le za desorpcijo molekul učinkovine s površine SiO_2 [5].

Pri preučevanju sproščanja (pH 7.4) dexmedetomidina iz alkil substituiranega kserogela SiO_2 v primerjavi z nesubstituiranim SiO_2 so ugotovili, da se z večanjem števila ali dolžine pripetih substituentov na SiO_2 sproščanje učinkovine upočasni. S tem pristopom so pri psih zadržali sproščanje učinkovine pri subkutani aplikaciji SiO_2 kserogela, ki je vseboval 25 množinskih % dimetildietoksisilana, za najmanj 48 h do 120 dni [43].

Chen in sodelavci so preučevali profil sproščanja cefradina iz poroznih votlih nanodelcev SiO_2 (PHSNP- angl. porous hollow silica nanoparticles) premera od 60-70 nm, z debelino stene okrog 10 nm in specifično površino $867 \text{ m}^2/\text{g}$, sintetiziranih z uporabo nanodelcev CaCO_3 kot anorganske šablone [44]. In vitro študija v 0.1 mol/l HCl je pokazala zanimiv tri-stopenjski profil sproščanja cefradina. Hitra sprostitvev skoraj 74 % učinkovine v prvih 20 min je posledica adsorpcije delcev na površini PHSNP. V naslednjih 10 min je opaziti rahlo povečanje sproščanja iz 74 % na 82 %. V tem drugem delu se sprosti učinkovina, ki je adsorbirana med delci in tista, ki je ujeta v porah v steni delcev. Sledi plato, kjer se cefradin iz notranjosti votlih nanodelcev sprošča še nadaljnjih 10 do 12 h [44].

Otsuka je s sodelavci iz oljnate v vodi slabo topne učinkovine fitonandiona s pomočjo površinsko modificiranega mikroporoznega silikagela, ki ima večjo afiniteto do hidrofobnega fitonandiona kot nemodificiran silikagel, pripravil praškast material za pripravo trdnih farmacevtskih oblik [45]. Silikagel so površinsko modificirali z uporabo treh reagentov: 3-metakriloksipropiltrimetoksisilan, oktadeciltrietoksisilan ali 3,3,3-trifluoropropiltrimetoksisilan. Učinkovina se na modificirano površino adsorbira na dva načina, in sicer z vodikovimi vezmi na intaktne silanolne skupine in z van der Waals-ovo adsorpcijo. Z večanjem hidrofobnosti površine silikagela se je zmanjšala količina z vodikovimi vezmi vezane učinkovine. Sproščanje pri pH 1.2 in dodatku natrijevega lavril sulfata (1.5 %) iz poroznega ogrodja modificiranega silikagela razdelimo v dve fazi, hitri

sprostitvi substance na začetku po 1 h sledi izrazito upočasnjeno sproščanje, ki traja več kot 24 h. Iz intaktnega silikagela se je po 7 dneh sprostilo manj kot 35 % fitonandiona zaradi močne interakcije s silanolnimi skupinami, medtem ko se je iz modificiranega silikagela po 3 dneh sprostilo skoraj 100 %. Količina sproščene učinkovine iz modificiranega silikagela je večja z večanjem gostote površinsko modificiranih skupin. Sproščanje fitonandiona iz površinsko modificiranega silikagela lahko nadzorujemo s spreminjanjem tipa modifikacije funkcionalne skupine in/ali stopnjo modifikacije [45].

1.8. Pulzirajoče sproščanje

Za izboljšanje učinkovitosti terapije so v zadnjem času namenili veliko pozornosti razvoju dostavnih sistemov za peroralno aplikacijo z dostavo, ki je časovno in krajevno specifična. Gastroretencijski dostavni sistemi (kot so plavajoči in bioadhezivni dostavni sistemi) zadržijo farmacevtsko obliko v želodcu in pri tem omogočajo ciljno krajevno-specifično dostavo učinkovine v zgornje dele GIT (tanko črevesje) [46]. Za dostavo v kolon, ki je najbolj distalni del črevesja, pa mora farmacevtski pripravek zadržati sproščanje v zgornjih delih GIT, a se mora učinkovina sprostiti takoj po vstopu v kolon. Za ciljno dostavo v kolon je bilo razvitih veliko pristopov, in sicer:

S pH nadzorovana dostava učinkovine

Za GIT je značilen pH gradient, ki obsega vrednosti 1.2 v želodcu, 6.6 v proksimalnem delu tankega črevesja, 7.5 v distalnem delu in 6.4 v kolonu. Ciljno dostavo omogočajo farmacevtske oblike z oblogo iz gastrozistentnih polimerov, ki se raztapljajo pri pH nad 5.5. Iz takšnih formulacij se učinkovina sprosti v specifične predele črevesja v odvisnosti od pH črevesne vsebine [47].

Od tlaka odvisna dostava učinkovine

Ti dostavni sistemi izkoriščajo povečan tlak črevesne vsebine v kolonu, ki je posledica reabsorpcije vode v tem področju. Učinkovina je dispergirana v podlagi za svečke, sistem je nato še obložen z etilcelulozo. Po zaužitju kapsule se podlaga pri telesni temperaturi stali, volumen se poveča, da nastane etilcelulozni balonček napolnjen s tekočino. Balonček

je kos peristaltiki v tankem črevesju, ko pa pride v stik z intenzivnejšimi kontrakcijami in bolj viskozno črevesno vsebino v kolonu, se pretrga in učinkovina se sprostí. Sistem je primeren za izdelavo enodmernih farmacevtskih oblik [47].

Od črevesnih bakterij odvisna dostava učinkovine

Ti sistemi izkoriščajo bakterijsko floro za razgradnjo substrata. V kolonu se nahaja približno 10^{11} bakterij na gram bakterijske flore, ki jo sestavlja približno 400 vrst anaerobnih mikroorganizmov. V ta namen so se uporabljali polimeri z azo vezmi, a se danes zaradi potencialne karcinogenosti slednjih raje uporabljajo naravni polisaharidi, ki jih kemijsko modificirajo ali pomešajo s hidrofobnimi polimeri, da ne sprostijo učinkovine predčasno. Polimerni film je rezistenten proti delovanju pankreatičnih encimov, v kolonu pa razpade pod vplivom bakterijskih encimov [47].

Časovno nadzorovan dostavni sistem / dostavni sistem s pulzirajočim sproščanjem učinkovine

Prve formulacije s pulzirajočim sproščanjem, iz katerih se je učinkovina sprostila ob točno definiranim času, so bile razvite v začetku devetdesetih let z namenom doseči sigmoidni profil sproščanja. Za pulzirajoče sproščanje je značilna hitra sprostitev določene količine učinkovine znotraj kratkega časovnega obdobja po predhodno določenem časovnem zamiku (angl. lag time), torej iz teh sistemov se ob pravem času sprostí potrebna količina učinkovine. Pristop temelji na zakasnitvi sproščanja učinkovine iz formulacije, dokler ta ne vstopi npr. v kolon, za kar je potreben zakasnitveni čas 5 h ob predpostavki, da znaša čas prehoda tankega črevesa 3-4 h in je relativno konstanten. Dostavni sistemi s pulzirajočim sproščanjem so bili razviti z namenom:

- kronološko-farmakološkega zdravljenja bolezni, katerih patofiziologija kaže cirkadiani ritem,
- izognitve metabolizma učinkovin v zgornjih delih GIT (npr. peptidi, proteini),
- izognitve farmakokinetičnih interakcij med učinkovinami pri hkratni aplikaciji več zdravil ali interakcijami s sestavinami hrane,
- za učinkovine z idiosinkratično farmakokinetiko in farmakodinamiko,

- z namenom časovno-programiranega sproščanja učinkovine iz dostavnega sistema (za dostavo hormonov in podobnih učinkovin, npr. izosorbida dinitrata). Tako se izognemo supresiji normalne sekrecije hormonov v telesu, ki je motena s konstantnim sproščanjem hormonov iz dostavnega sistema ter razvoju tolerance.

Za številne hormone (renin, aldosteron, kortizol, idr.) je značilno dnevno nihanje/fluktuacija plazemskih koncentracij. Tem spremembam na splošno pravimo cirkadiani ritem, ta pa je odgovoren za spremembe mnogih telesnih funkcij, kot so aktivnost jetrnih encimov, spremembe krvnega in intraokularnega tlaka, sekrecije želodčne kisline, praznjenje želodca idr. Cirkadiani ritem vpliva tudi na različne bolezni, tako npr. akutna miokardna insuficienca najpogosteje nastopi okrog 16. ure, epileptični napadi pa imajo najvišjo incidenco zjutraj. Pri takšnih stanjih je potrebno upoštevati dnevni potek bolezni, kar je pomembnejše od ohranjanja konstantnih plazemskih koncentracij učinkovine. Časovno odvisna dostava učinkovine je potrebna tudi pri drugih boleznih, in sicer bronhialni astmi, angini pectoris, revmatičnih obolenjih, ulkusu in hipertenziji ter za učinkovine, pri katerih se razvije toleranca. Na ta način je preprečena njihova neprestana prisotnost v telesu.

Pulzirajoči dostavni sistemi imajo pred konvencionalnimi sistemi, iz katerih se učinkovina kontinuirano sprošča, številne prednosti. Ti sistemi omogočajo ciljano dostavo učinkovine, podaljšano delovanje zdravila ponoči ali podnevi, manjšo frekvenco jemanja zdravila, manjši odmerek učinkovine, zmanjšanje neželenih učinkov, terapija je prijaznejša do bolnika, učinkovina se prilagaja cirkadianemu ritmu telesnih funkcij ali bolezni, ti sistemi prav tako omogočajo zaščito sluznice pred iritacijo z učinkovino ter preprečujejo izgubo učinkovine zaradi metabolizma prvega prehoda [47].

1.8.1. Klasifikacija pulzirajočega oziroma časovno nadzorovanega sproščanja

Iz farmacevtske oblike s časovno nadzorovanim sproščanjem se količina učinkovine sprost po v naprej določenem časovnem zamiku. Za tovrstno sproščanje so v rabi še drugi izrazi, in sicer pulzirajoče, zakasnjeno ali sigmoidalno sproščanje. Poleg enopulznega poznamo tudi večpulzne sisteme. Aplikacija formulacije s pulzirajočim sproščanjem koristno pripomore k učinkovitosti kronofarmakološke terapije ali ciljani dostavi

učinkovine v specifični predel GIT. Formulacijo, iz katere je sproščanje učinkovine neodvisno od okoliških dejavnikov, kot so pH, encimska aktivnost, motiliteta črevesja ipd., dosežemo tako, da pri zakasnitvenem času upoštevamo čas prehoda formulacije od ust do kolona. Poznamo dva tipa pulzirajočih dostavnih sistemov: enoodmerni in večoodmerni (peletni) dostavni sistemi [47].

Med enoodmerne spada:

- Kapsularni sistem, sestavljen iz neprepustne kapsule z učinkovino in pokrovčkom, ki se po določenem časovnem zamiku raztopi, erodira ali izrine iz kapsule zaradi nabrekanja.
- Sistem s pulzirajočo dostavo učinkovine na podlagi osmoze, ki ga sestavlja želatinski oklep napolnjen z učinkovino in osmotsko aktivno snovjo ter netopen lipidni pokrovček. Oklep je obložen z celuloznom acetatom, ki služi kot semipermeabilna membrana. Ko pride pripravek v stik z vodnim medijem, ta prodre skozi membrano v pripravek, posledično povečan pritisk po določenem časovnem zamiku izrine pokrovček in učinkovina se sprosti.
- Sistem sestavljen iz trdne farmacevtske oblike (tableta, kapsula) obložene s hidrofilno nabrekajočo hidroksipropilmetilcelulozo, iz katerega se učinkovina sprosti po določenem časovnem zamiku, ki je odvisen od debeline obloge in stopnje viskoznosti HPMC. Večplastni pripravki izkazujejo večpulzni profil sproščanja, kjer so aktivne plasti ločene s polimerno bariero brez učinkovine (npr. HPMC, metakrilni in akrilni polimeri ali polialkoholi).
- Dostavni sistem z rupturno polimerno oblogo oziroma oblogo, ki počí zaradi povečanega pritiska v notranjosti, ki je posledica nabrekanja (nabreklije pomožne snovi), osmoznega pritiska (osmozno aktivne pomožne snovi) ali tvorbe CO₂ (razgrajevala).

Večoodmerni (peletni) dostavni sistemi so sistemi rezervoarnega tipa in oblogo, ki počí (angl. rupture coating) ali spremeni svojo permeabilnost. Za ta namen se uporablja polimer Eudragit® RS 30D, ki v stranski verigi vsebuje pozitivno nabite kvartarne amonijeve skupine in negativno nabite kloridne ione. Sprememba permeabilnosti obloge je posledica interakcije hidrofilnih amonijevih kvartarnih skupin z vodo. Dostavni sistem, ki temelji na ionski izmenjavi, je sestavljen iz jedra, ki vsebuje učinkovino ter natrijev acetat in je obloženo s štirimi plastmi Eudragit® RS 30D. Že majhna količina natrijevega acetata dramatično spremeni permeabilnost polimerne obloge. Po časovnem zamiku (voda prodira

skozi oblogo in raztaplja natrijev acetat) se zaradi povečanja interakcij med acetatom in polimerom poveča permeabilnost obloge, posledično se v nekaj minutah sprost celotna količina učinkovine. Z večanjem debeline obloge dosežemo večji zakasnitveni čas, kar pa ne vpliva na sprostitev učinkovine [47].

Cilj dostavnih sistemov z nadzorovanim sproščanjem je vzdrževanje terapevtske koncentracije učinkovine v krvi skozi daljše časovno obdobje, kar dosežemo z zakasnjanim vstopanjem učinkovine v krvni obtok, kar je posledica zmanjšane stopnje raztapljanja učinkovine iz farmacevtske oblike, medtem ko je hitrost privzema učinkovine omejena z njeno lokalno koncentracijo. Na splošno se za pripravo tovrstnih dostavnih sistemov uporabljajo višje maščobne kisline, estri, alkoholi in voski. V zadnjem času poteka veliko raziskav na področju načrtovanja dostavnih sistemov z zadržanim sproščanjem slabo topnih učinkovin. Ker je učinkovina vgrajena v nosilec, ki se počasi raztaplja ali je netopen, na sprostitev celotne količine učinkovine vpliva veliko dejavnikov, ti vplivajo tudi na absorpcijo učinkovine.

Tako je Yang s sodelavci želel rešiti ta problem z razvojem dostavnega sistema, in sicer kapsul napolnjenih s tremi vrstami mikrosfer v določenem razmerju, iz katerih se v vodi slabo topna učinkovina, nitredipin, gradientno sprošča v odvisnosti od vrednosti pH v želodcu, dvanajstniku in spodnjih predelih tankega črevesja [48, 49]. Ker se polimeri raztapljajo v določenem območju pH, se sistem delno raztopi v različnih predelih črevesja. Sistem potuje skozi GIT in tako je vzdrževanje terapevtske koncentracije učinkovine podaljšano, kar je ponavadi odvisno od lastnosti raztapljanja nosilca učinkovine. Z uporabo občutljive in zanesljive opreme so odkrili, da pH v želodcu obsega vrednosti od 1.2 do 5.0, medtem ko vrednosti pH v duodenumu, jejunumu, ileumu in kolonu znašajo 6.6 ± 0.5 , 7.4 ± 0.4 , 7.5 ± 0.4 in 7.0 ± 0.7 . V veliko člankih je bilo tudi objavljeno, da znaša čas zadrževanja večerjatne farmacevtske oblike v praznem želodcu od 1-3 h in od 2-4 h ob prisotnosti hrane. Čas prehoda tankega črevesja je relativno konstanten in znaša 3-4 h in je neodvisen od tipa farmacevtske oblike ter prisotnosti ali odsotnosti hrane. Da farmacevtska oblika, aplicirana peroralno, doseže kolon, pa potrebuje od 4-8 h.

Za izdelavo mikrosfer, ki se raztopijo v kislem okolju s $\text{pH} \geq 5.5$ in ≥ 6.5 , so kot nosilce nitredipina, v vodi slabo topne učinkovine, v trdni disperziji uporabili tri gastrozistentne polimere: polimetakrilat Eudragit® E-100 (EuE-100), hidroksipropilmetilcelulozni ftalat (HP-55) in hidroksipropilmetilcelulozni acetat sukcinat (AS-H), v primeru polimera EuE-

100 so dodali tudi Aerosil (preprečuje adhezijo kapljic v viskozni raztopini polimera). Za vse tri vrste mikrosfer je značilna sferična oblika in visoka vsebnost učinkovine (>91.0 %) v amorfni obliki. Pri izdelavi mikrosfer so 0.5 g učinkovine s polimerom (1.5 g v primeru EuE-100 in HP-55, 2.0 g pri AS-H) raztopili v mešanici acetona (topilo) in diklorometana (poveže učinkovino in polimer v kapljico). V primeru Eudragit E-100 so v nastalo raztopino učinkovina-polimer ob neprestanem mešanju suspendirali še 1.5 g Aerosila. Nastalo suspenzijo so ob neprestanem mešanju prelili v destilirano vodo z dodatkom SDS (0.08 %) (netopilo). Po 20 min mešanju je sledil ponoven dodatek netopila. Po nadaljnjih 40 min mešanja so iz emulzije s prosojnimi kapljicami nastale neprozorne mikrosfere z učinkovino in pomožnimi snovmi v razmerju 1:6 (EuE-100), 1:3 (HP-55) in 1:4 (AS-H).

Pri opazovanju oblike, topografije in notranje strukture z elektronskim mikroskopom so v primeru Eudragit E-100 mikrosfer opazili porozno površino z velikim številom medprostorov. Mikrosfera je v notranjosti votla, ob prerezu pa je razvidno, da je notranja površina prav tako posejana s številnimi makroporami in votlinicami. Tako porozna struktura je verjetno razlog hitre sprostitve učinkovine v želodcu.

Za razliko od EuE-100 imajo HP-55 in AS-H mikrosfere gladko in kompaktno zunanjo površino. Čeprav so pri HP-55 na površini vidne tudi mikropore, medprostorov niso našli. Za mikrosfere HP-55 je značilna trdna struktura z zapolnjeno notranjostjo, za razliko od mikrosfer AS-H, ki so v notranjosti votle. Iz rezultatov, dobljenih s pomočjo elektronskega mikroskopa, lahko sklepamo, da kompaktna struktura mikrosfer HP-55 pomaga zadržati sproščanje učinkovine pred duodenumom. Enako velja za mikrosfere AS-H, ki imajo še bolj gladko površino in tako zadržijo sproščanje učinkovine v želodcu in zgornjih delih tankega črevesja, njihova votla notranjost pa omogoča dostavo učinkovine v spodnje segmente tankega črevesja.

Test raztapljanja učinkovine je iz mikrosfer (kapsule so napolnili z vsemi tremi vrstami mikrosfer v razmerju 1:1:1) potekal v primerjavi z Baypress™ tabletami (20 mg, Bayer Pharm, Nemčija) in konvencionalnimi nitredipinskimi tabletami (Beijing Shuangqiao Pharmaceutical Factory, Kitajska) naprej 2 h v HCl pri pH 1.2, sledilo je raztapljanje v fosfanem pufru pri pH 6.4 za 2 h in nazadnje še 3 h pri pH 7.8. Čeprav je sproščanje učinkovine iz Baypress™ tablet hitrejše kot iz konvencionalnih tablet, se celotna količina prav tako sprosti v prvih 2 urah raztapljanja. Iz mikrosfer se učinkovina sprošča gradientno v odvisnosti od pH medija. Hitri sprostitvi učinkovine (v 30 min) iz mikrosfer Eudragit E-100 in HPMCP sledi plato, medtem ko je pri mikrosferah HPMC acetat sukcinata opaziti

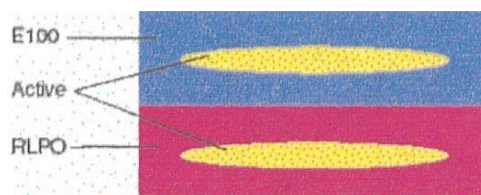
rahlo zadržano sproščanje, iz česar lahko predvidimo podaljšanje farmakološkega delovanja učinkovine in vivo. Mikrosfere HPMCP in HPMC AS so stabilne pri nizkem pH, kar prepreči sproščanje učinkovine preden pripravek prispe na želeno mesto v GIT. Pri vrednotenju biološke uporabnosti dostavnega sistema z gradientnim sproščanjem v primerjavi z Baypress™ in konvencionalnimi tabletami so pri psih opazili podaljšan T_{max} in relativno visok privzem učinkovine v krvni obtok, iz česar lahko sklepamo, da sistem izboljša raztapljanje v vodi slabo topnih učinkovin ter in vivo podaljša čas vzdrževanja njihovih terapevtskih koncentracij. S predstavljenim dostavnim sistemom z gradientnim sproščanjem so Yang in sodelavci uspešno rešili problem nepopolne sprostitve slabo topne učinkovine, ki se navadno pojavi pri načrtovanju konvencionalnih pripravkov z zadržanim sproščanjem z ogrodno strukturo [48, 49].

Rowe in sodelavci so s tehnologijo izdelave tablet z oblaganjem, ki je podobna tehnologiji tiskanja na papir (angl. three dimensional printing), izdelali štiri tipe peroralnih farmacevtskih oblik s kompleksnim profilom sproščanja [50]. Ta tehnologija izdelave trdnih oblik brez uporabe matrice kot v primeru klasičnega tabletiranja omogoča fleksibilnost in raznovrstnost pri izdelavi farmacevtske oblike. Poleg tega omogoča kombiniranje dveh različnih mehanizmov sproščanja, erozije in difuzije, v dveh polovicah enega pripravka. Izdelali so tudi pulzne dostavne sisteme, iz katerih se učinkovina sprosti v obliki dveh pulzov v črevesju ali pa prvemu pulzu v želodcu sledi drugi pulz v črevesju. Pri tehnologiji izdelave tablet s 3D oblaganjem se na plast praškastega materiala s posebnim razpršilnikom z visoko stopnjo natančnosti nanašanja, razpršuje raztopino veziva, kar povzroči adhezijo praškastih delcev. Na ta način se izdelajo posamezni deli tablete z nalaganjem plasti. Značilnost tovrstnih tablet je visoka trdnost in nizka krušljivost.

Teste raztapljanja vseh štirih pripravkov so izvajali le in vitro 1 h v 0.1 N HCl (pH 1.2), sledilo je raztapljanje v kalijevem fosfatnem pufru s pH 7.5 nadaljnjih 6 h.

Izdelali so štiri tipe dostavnih sistemov:

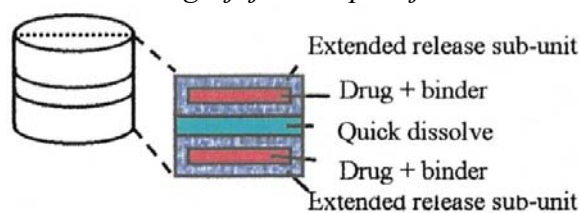
Pripravek iz dveh delov: prvi s takojšnjim in drugi s podaljšanim sproščanjem



Slika 1: Pripravek s takojšnjim-podaljšanim sproščanjem [50].

Pripravek s takojšnjim-podaljšanim sproščanjem [slika 1] je sestavljen iz dveh plasti, kjer se učinkovina (diklofenak) nahaja v eni ali v obeh plasteh. Hitro degradirajoča plast (Eudragit® E100, topen pri $\text{pH} < 5$) se raztopi v 30 min po približno 10 min časovnem zamiku, netopna plast (Eudragit® RLPO, netopen pri vseh pH) pa ostane intaktna. Iz nje se učinkovina z difuzijo sprošča v obdobju 6h s 15 min zakasnitvijo, ki je potrebna, da voda prodre v pripravek in doseže učinkovino.

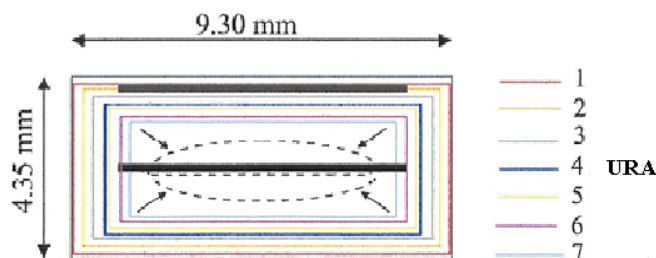
Tableta s hitro razgrajajočo se plastjo



Slika 2: Tableta s hitro razgrajajočo se plastjo [50].

Tableta [slika 2] se po 15-45 min raztapljanja razsloji in razpade na dve podenoti z nadzorovanim sproščanjem učinkovine z erozijo. Dostavni sistem je potencialno uporaben za tip učinkovin, pri katerih je pomembna dobra distribucija vzdolž GIT zaradi počasnega transporta učinkovine v kri.

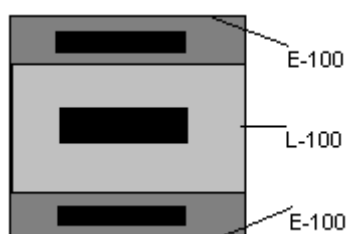
Dostavni sistem z dvopulznim sproščanjem v črevesju



Slika 3: Shema dostavnega sistema z dvopulznim sproščanjem v črevesju. Področje učinkovine prikazuje široka temna črta [50].

Uporaba gastrozistentnega polimera (Eudragit® L100), ki je topen v pH območju nad 6.0, kot zunanja obloga zadrži sproščanje učinkovine pri prehodu skozi želodec. Mehanizem sproščanja je erozija. Tableta [slika 3] je sestavljena tako, da je z njenim manjšanjem za sproščanje na voljo vedno več učinkovine. Pri raztapljanju v kislem ostane tableta koherentna. Na začetku druge faze raztapljanja, pri pH 7.5, se sprostí učinkovina iz predela, ki je bližje površini, 4 h pozneje sledi drugi pulz, sprostí se učinkovina iz predela v sredini tablete. Zakasnitev je posledica erozije polnila (30 % (ut/ut) Avicel PH301, 30 % (ut/ut) Pharmatose DCL11 laktoza in 40 % (ut/ut) Eudragit® L-100), ki obdaja to notranjo plast učinkovine.

Dostavni sistem z dvopulznim sproščanjem v želodcu in črevesju

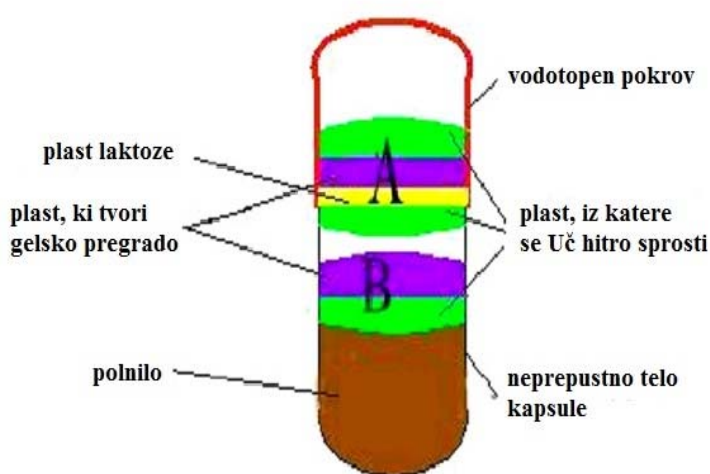


Slika 4: Dostavni sistem z dvopulznim sproščanjem v želodcu in črevesju [50].

Izdelali so tudi dostavni sistem z dvopulznim sproščanjem [slika 4], iz katerega se učinkovina sprostí najprej v želodcu pri nizkih vrednostih pH, čemur sledi še sproščanje v črevesju pri višjih vrednostih pH. Učinkovino so nanegli v predele z različno naravo polimera, in sicer so uporabili Eudragit® E-100, ki je topen pri $\text{pH} < 5$ in Eudragit® L-100 z mejno vrednostjo topnosti pri pH 7.5. Pri pH 1.2 zunanja plast, ki jo sestavlja polimer Eudragit® E-100, erodira ter sprostí učinkovino v želodcu znotraj 1 h. Drugi pulz nastopi pri času 7 h, sprostí se učinkovina iz predela z Eudragit® L-100, ki se začne raztapljati pri pH 7.5. Časovni zamik med obema pulzoma je nadzorovan z erozijo polimera Eudragit® L-100 in s spreminjanjem geometrije farmacevtske oblike ter znaša od 1-16 h. Z vgrajevanjem dodatnih aktivnih plasti lahko izdelamo večpulzni sistem. Želeli so izdelati pripravek s sproščanjem učinkovine v dveh enakih 12,5 mg pulzih, a se je pri pH 1.2 sprostil le 6 mg diflokenaka, kar je posledica mešanja polimerov E-100 in L-100 blizu mejne ploskve v tableti. Zmes polimerov je namreč pri vseh fizioloških vrednostih pH slabo topna. Iz tega predela se učinkovina sprošča z difuzijo. Prvi pulz se tako konča, medtem ko se drugi že začne. Kljub mešanju polimerov se sprostí celotna količina

diklofenaka, vseh 25 mg. Pomembno je poudariti, da naj bi bil mehanizem sproščanja iz kateregakoli od prikazanih sistemov neodvisen od uporabljene učinkovine [50].

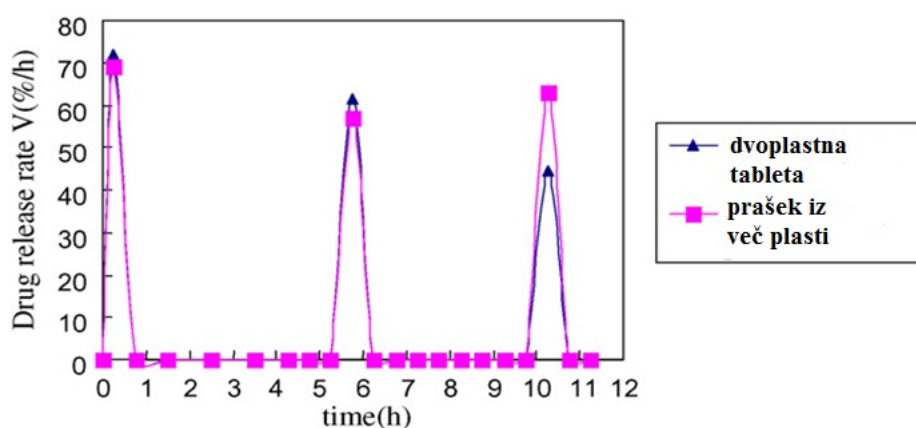
Li in sodelavci so v raziskavi izdelali nov dostavni sistem z natrijevim diklofenakom kot modelno učinkovino in tripulznim profilom sproščanja, sestavljen iz dveh tablet (dvo- in troplastne) ter polnilom (laktozo) v kapsuli, ki ima vodotopen pokrov in neprepustno telo [51] [slika 5]. Peroralni dostavni sistem s tripulznim sproščanjem, ki ga apliciramo enkrat dnevno, omogoča selektivno dostavo učinkovine ob želenem času, na čemer temelji kronofarmakološki pristop za uspešnejše zdravljenje bolezni s cirkadianim ritmom.



Slika 5: Tripulzni pripravek - dve tableti v kapsuli; A: troplastna tableta, B: dvoplastna tableta [51].

Iz troplastne tablete se sprostita prva dva pulza, dvoplastna pa je odgovorna za tretjega. Ko pride pripravek v stik s telesno tekočino, se pokrovček raztopi, čemur sledi hitra sprostitvev diklofenaka v obliki prvega pulza (zelena plast). Z nabrekanjem natrijevega alginata ali HPMC (modulating barrier-vijolična plast) nastane gelska pregrada, ki počasi erodira in tako povzroči časovni zamik med prvima dvema pulzoma. Enako vlogo ima tudi bariera pri dvoplastni tableti. Z reguliranjem razmerja med pomožno snovjo, ki tvori gelsko pregrado (natrijev alginat ali HMPC) in laktozo nadzorujemo časovni zamik med pulzi. V troplastni tableti je med plastjo z učinkovino in plastjo, ki tvori gelsko pregrado, dodana še ločevalna plast – laktoza (rumena plast), ki je v vodi topna pomožna snov in znatno pospeši sproščanje učinkovine v obliki drugega pulza iz troplastne tablete. Laktoza ima v tem pripravku tudi vlogo polnila na dnu kapsule. V raziskavi so preučevali vpliv tipa

(natrijev alginat, HPMC) in mase pomožne snovi, ki tvori gelsko pregrado, trdnosti in lokacije tablet v kapsuli ter vpliv polnila-laktoze na časovni zamik in profil sproščanja. Ugotovili so, da erozija gelske pregrade največ prispeva k začetku sproščanja. Pomemben vpliv na zakasnitveni čas (lag time) ima masa pomožne snovi, ki tvori gelsko pregrado. Z večanjem mase pride do težav pri polnjenju tablet v kapsulo, saj se debelina tablet večja. Pri preučevanju vpliva razmerja med natrijevim alginatom in laktozo na zakasnitveni čas drugega pulza, so dobili linearno zvezo. Z reguliranjem razmerja dobimo pulzirajoče sproščanje z nadzorovanim časovnim zamikom. Trdnost tablet ne vpliva na sproščanje učinkovine. Da so tablete mehansko obstojne med polnjenjem v kapsule, so izbrali višji tlak med procesom tabletiranja. Ko voda prodira v kapsulo, preden gelska pregrada v celoti erodira, in pride v stik z razgrajevali (citronska kislina : natrijev bikarbonat 2:1) sproščeni ogljikov dioksid pospeši sproščanje učinkovine skozi pregrado. Na enak način poteka sproščanje tudi iz dvoplastnih tablet. Pri vrednotenju tretjega pulza so za gelsko pregrado izbrali HPMC E5 in z regulacijo razmerja med HPMC in laktozo dobili nadzorovan zakasnitveni čas. Razlike v časovnem zamiku so opazili tudi pri različnih lokacijah (na 1/3, 2/3 kapsule) tablet v kapsuli. Pri in vitro testu raztapljanja priprava v deionizirani vodi so dobili zadovoljiv tripulzni profil. Ko so dvoplastno tableto, ki zagotavlja tretji pulz, zamenjali z dvema plastmi praška in plastjo laktoze med njima, kjer ena plast služi kot gelska pregrada, druga pa kot plast, iz katere se učinkovina hitro sprosti, so prav tako dobili učinkovit dostavni sistem s tripulznim profilom sproščanja [slika 6] [51].



Slika 6: In vitro profil sproščanja priprava v deionizirani vodi sestavljenega iz dvo- in troplastne tablete s sestavo: natrijev alginat : laktoza 2:3 (natrijev alginat tvori gelsko pregrado za drugi pulz), HPMC E5 : laktoza 1:1 (HPMC E5 tvori gelsko pregrado za tretji pulz); drugi profil sproščanja (roza barva) pripada pripravku, kjer so dvoplastno tableto zamenjali z dvema plastmi praška in laktozo med njima [51].

2. Namen dela

Namen diplomskega dela je:

1. Izboljšati raztapljanje v vodi slabo topne modelne učinkovine. Za veliko učinkovin je slaba topnost v vodi omejujoč faktor za njihovo biološko uporabnost. Modelno učinkovino bomo vgradili v hidrofilno ogrodje Sylisia 350, ki je porozni silicijev dioksid, in v porozni magnezijev aluminometasilikat Neusilin US2. Trdno disperzijo bomo pripravili z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Primerjali bomo raztapljanje čiste učinkovine z njenim sproščanjem iz trdnih disperzij pri pH 1.2 in 6.8.

2. Izdelati formulacijo z dvopulznim profilom sproščanja, iz katere hitri sprostitvi polovice odmerka (12.5 mg) v želodcu sledi po zvišanju pH še hitra sprostitve druge polovice (12.5 mg) v črevesju. Na ta način želimo potrditi možnost razvoja dostavnega sistema z večpulznim sproščanjem, ki bi omogočal zmanjšanje odmerka v primerjavi z zdravilom, ki je na trgu in omogočil enkrat dnevno jemanje zdravila, kar je povezano z bolj učinkovitim in pacientu prijaznim zdravljenjem. Dostavni sistem želimo izdelati z uporabo različnih gastrozistentnih polimerov, ki zadržijo sproščanje učinkovine v kislem na dva načina, in sicer z oblaganjem in granuliranjem delcev trdnih disperzij.

Pri prvem načinu bomo v pore silicijevega dioksida vgradili polovico odmerka modelne učinkovine, sledilo bo oblaganje por z gastrozistentnim polimerom z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Za polimerno pregrado, ki bo zadržala sproščanje učinkovine v kislem in bo omogočala hitro sprostitve v alkalnem mediju, nameravamo vgraditi še drugo polovico učinkovine, ki se bo sprostila v kislem mediju. Kriterij za izbor topila za izdelavo formulacije je poleg možnosti odstranitve z odparevanjem pri znižanem tlaku tudi topnost polimera, medtem ko mora biti učinkovina v njem netopna. Po izdelavi formulacije bomo veljavnost koncepta preverjali z določanjem količine zadržanja sproščanja učinkovine v kislem mediju (2 h v HCL s pH 1.2).

Trdne disperzije modelne učinkovine bomo poleg oblaganja tudi granulirali z gastrozistentnim polimerom. Za granuliranje bomo uporabili različne količine vodne disperzije polimera Eudragit® L30 D55 in ugotavljali povezavo med količino dodanega polimera in obsegom zadržanja sproščanja učinkovine iz granulata po testu raztapljanju v kislem (2 h v HCl s pH 1.2). Z izbrano količino polimera, ki naj bi zadržala 50 % učinkovine v kislem, bomo granulirali tudi samo učinkovino, fizikalno zmes (Sylisia z učinkovino), fizikalno zmes z večjimi delci učinkovine ter trdno disperzijo, ki vsebuje dvojni odmerek učinkovine (50 mg). Izdelane granulate bomo vrednotili tudi s testom

raztapljanja, ki bo potekal 2 h v HCl pri pH 1.2 z dodatkom natrijevega dodecilsulfata (SDS) in nato 2 h v natrijevem fosfatnem pufru s pH 6.8, prav tako z dodatkom SDS, ter dobljene profile sproščanja učinkovine primerjali med seboj.

3. Eksperimentalno delo

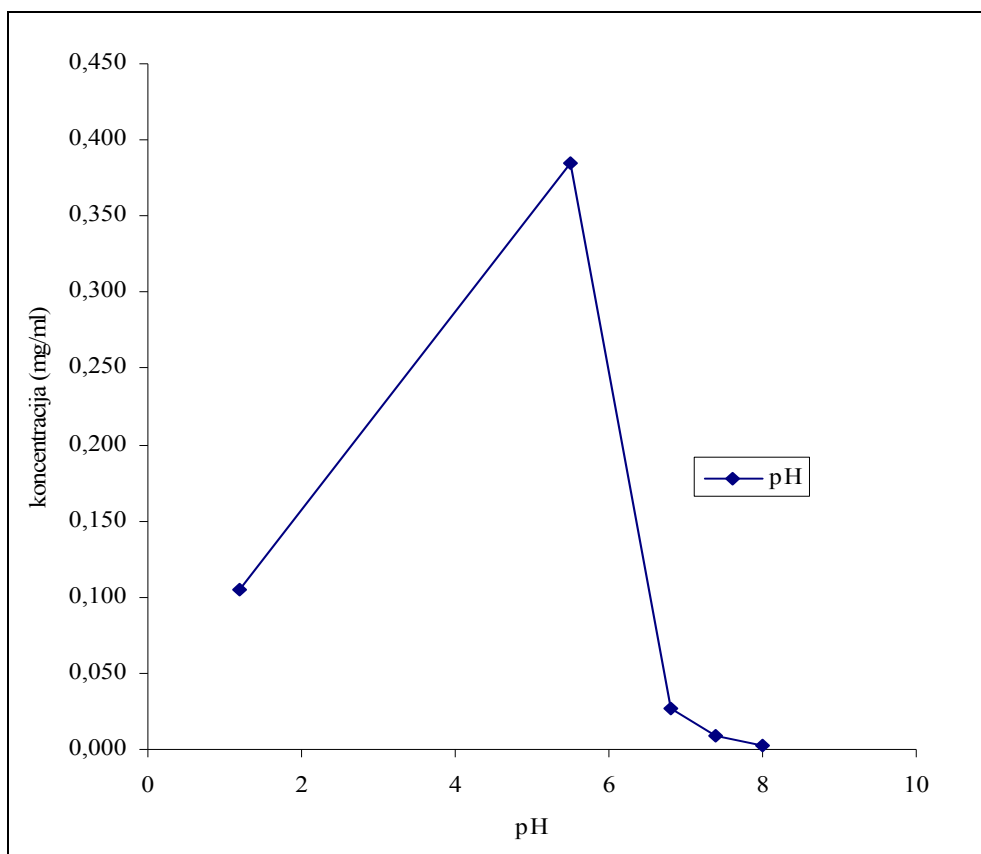
3.1. Materiali

Modelna učinkovina

Modelna učinkovina spada v farmakoterapevtsko skupino zaviralcev adrenergičnih receptorjev alfa in beta [52].

Največji dovoljeni odmerek modelne učinkovine je 25 mg dvakrat na dan [52].

Slika 7 prikazuje topnost modelne učinkovine pri različnih vrednostih pH. Določena je bila s stresanjem nasičene raztopine 72 ur na stresalniku pri sobni temperaturi. Spojina je najbolj topna pri pH okrog 5.5, medtem ko je topnost pri pH 1.2 bistveno nižja, še nižja je pri pH 6.8.



Slika 7 : Topnost modelne učinkovine pri različnih pH v mg/ml [vir: Krka d.d.].

Pomožni snovi

- Syllisia 350: porozen silicijev dioksid (99.7 %) proizvajalca Fuji, Japonska.
- Neusilin US2: porozen magnezijev metasilikat proizvajalca Fuji, Japonska.

Površinsko aktivna snov

- Natrijev dodecilsulfat (SDS) proizvajalca J.T. Baker

Topili za pripravo trdnih disperzij

- Aceton CH_3COCH_3 (Merck, Nemčija)
- THF (tetrahidrofur) $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$ (Merck, Nemčija)

Topila za pripravo disperzij za oblaganje

- Kloroform CHCl_3 (Merck, Nemčija)
- Aceton CH_3COCH_3 (Merck, Nemčija)
- THF (tetrahidrofur) $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$ (Merck, Nemčija)

Gastrorezistentni polimeri

- Hidroksipropilmetilcelulozni ftalat / HPMCP (HP-55); podjetje Krka d.d.
- Hidroksipropilmetilcelulozni acetat sukcinat / Aqoat AS-MF; proizvajalec Shin-Etsu, Chemical Co.
- Hidroksipropilmetilcelulozni acetat sukcinat / Aqoat AS-HF; proizvajalec Shin-Etsu, Chemical Co.
- Polimetakrilat / Eudragit[®] L100-55; proizvajalec Röhm GmbH, Pharma Polymers
- Polimetakrilat / Eudragit[®] L30 D55; proizvajalec Röhm GmbH, Pharma Polymers

Reagenti za pripravo medijev za raztapljanje

- Prečiščena voda
- Natrijev dihidrogenfosfat dihidrat; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck, Nemčija)
- Natrijev hidroksid; NaOH (Merck, Nemčija)
- Klorovodikova kislina; HCl , 37 % (Merck, Nemčija)
- Trinatrijev fosfat dodekahidrat (Sigma-Aldrich, Nemčija)
- Dinatrijev hidrogenfosfat; Na_2HPO_4 (Merck, Nemčija)

Filtri

- RC 0.45 μm : Minisart[®] RC 25, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Nemčija
- Durapore[®] membrane filters, 1 μm WPP

Priprava medija za sproščanje:

- Fosfatni pufer s pH 6.8

V 1000-mL bučo smo natehtali 6.8 g natrijevega dihidrogenfosfata dihidrata ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$), dodali 900 mL prečiščene vode in uravnali pH z 0.9 g NaOH, ki smo ga raztopili v 100 mL prečiščene vode. Pufru smo dodali SDS in sicer 1 g/L.

- *Klorovodikova kislina s pH 1.2*

V 1000 mL bučo smo nalili približno dve tretjini prečiščene vode in v digestoriju dodali 8.5 mL 37 % HCl ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. Pufru smo dodali SDS in sicer 1 g/L.

Priprava raztopine za naalkaljenje:

- *0.2 M raztopina trinatrijevega fosfata dodekahidrata*

19 g trinatrijevega fosfata dodekahidrata ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) in 250 mg SDS (1 g/L) smo raztopili v 250 mL prečiščene vode. Če reagenta trinatrijevega fosfatadodekahidrata nimamo na voljo, dobimo enak rezultat, če za naalkaljenje uporabimo sledečo raztopino: 7,1 g dinatrijevega hidrogenfosfata (Na_2HPO_4), 2.2 g NaOH ter 250 mg SDS (1g/L) raztopimo v 250 mL prečiščene vode.

3.2. Aparature

Pri eksperimentalnem delu smo uporabljali naslednje aparature:

- Analizna tehtnica: A-150-sx, Cobos, Španija
- Analizna tehtnica: AG 245, Mettler Toledo, Švica
- Tehtnica: Exacta 300 EB, Železniki, Slovenija
- Rotavapor: RV 05-ST, Ika Labortechnik, Nemčija
- Aparat za odparevanje topila pri znižanem tlaku: Büchi R-114, Švica
- Merilnik tlaka: IKAVAC VC1 Vakuumcontroller, Ika Labortechnik, Nemčija
- Vodna kopel: Ika TE 2 Temperierbad, Ika Labortechnik, Nemčija
- Ultrazvočna kadička: Sonis 4, Iskra, Slovenija
- Naprava za merjenje vrednosti pH raztopin: pH METER, Mettler Toledo MA235, Švica
- Magnetno mešalo MM-531, Železniki, Slovenija
- Naprava z vesli za spremljanje sproščanja: VANKEL VK 7000, ZDA
- Spektrofotometer: Hewlett Packard, HP 8453, UV-Visible spectroscopy system, Nemčija
- Centrifuga: Tehtnica® Centuric 322A
- Diferenčni dinamični kalorimeter: Mettler-Toledo Differential Scanning Calorimeter DSC1, opremljen s programsko opremo STARe Software v9.10, Švica
- Naprava za določitev specifične površine in poroznosti: Tristar 3000, Micromeritics, ZDA
- Vrstični elektronski mikroskop (SEM): Supra 35 VP, Carl Zeiss, Nemčija
- Naprava za določanje velikosti delcev z lasersko difrakcijo: Malvern Mastersizer S, Velika Britanija
- Magnet: Magnetic Solutions (HC500-54-065), Irska
- Električni sušilnik: SP-45, Kambič Laboratorijska oprema, Semič, Slovenija
- Sito za granuliranje: 1.00 mm, Retsch, Nemčija

3.3. Metode

3.3.1. Kvalitativna ocena topnosti učinkovine in gastrozistentnih polimerov v različnih topilih

Topnost učinkovine in gastrozistentnih polimerov v različnih topilih smo ocenili tako, da smo majhno količino praška učinkovine ali polimera vsuli v 10-20 mL topila v čaši v digestoriju ter opazovali ali se je snov raztopila. Čašo smo postavili tudi v ultrazvočno kadičko za 10-15 min. Če se snov še vedno ni raztopila, smo čašo pustili 24 h na magnetnem mešalu v digestoriju in naslednji dan zapisali opažanja v razpredelnico. Za izdelavo trdne disperzije potrebujemo topilo, v katerem bo učinkovina topna. Pri oblaganju pa je kriterij za izbor topila poleg možnosti odstranitve z odparevanjem pri znižanem tlaku topnost polimera, medtem ko mora biti učinkovina v njem netopna.

3.3.2. Izdelava trdne disperzije z odparevanjem topila pri znižanem tlaku

Za izdelavo trdne disperzije z odparevanjem topila pri znižanem tlaku smo uporabili učinkovino, katere območje velikosti delcev sega od 13-92 μm in mediano 41 μm (10 % delcev <13, 10 % delcev >92 μm), porozni silicijev dioksid Sylisia 350 in topili aceton ali tetrahidrofuran. Izdelali smo tudi trdno disperzijo, kjer smo Sylisio 350 nadomestili s poroznim magnezijevim metasilikatom Neusilin US2. V porah hidrofilnega ogrodja prihaja do obarjanja učinkovine, katere topnost je predvsem zaradi amorfne oblike in povečane specifične površine izboljšana.

Učinkovino, ki je v vodi slabo topna, smo raztopili v acetonu ali tetrahidrofuranu. V obeh topilih je učinkovina dobro topna, medtem ko se Sylisia in Neusilin v izbranih topilih ne raztapljata.

Vzorci smo pripravili tako, da smo raztopino učinkovine (250 mg) v 10 mL acetona ali THF zlili na 2 g Sylisie v bučki s steklenimi kroglicami ter odparevali topilo pri znižanem tlaku do suhega (50 obratov na minuto; 10 mbar nad parnim tlakom vode; znižanje tlaka smo dosegli z vodno črpalko; vodna kopel je bila termostatisirana na 50 °C). Na enak način smo pripravili tudi trdne disperzije z Neusilinom US2.

3.3.3. Oblaganje trdnih disperzij z gastrozistentnimi polimeri

Z oblaganjem trdne disperzije z gastrozistentnimi polimeri smo želeli zadržati sproščanje učinkovine v kislem. Oblagali smo 2.25 g trdne disperzije (2 g Sylisie ali Neusilina, 250 mg učinkovine) s kontinuiranim dovajanjem koloidne disperzije polimera, ki je pri znižanem tlaku iz čase skozi cevko kapljala na trdno disperzijo v bučki s steklenimi kroglicami in odparevanjem topila pri znižanem tlaku (50 obratov na minuto; 250-200 mbar nad parnim tlakom vode; znižanje tlaka smo dosegli z vodno črpalko; vodna kopel je bila termostatisirana na 50 °C) (slika 8). Na koncu smo obloženo trdno disperzijo posušili do suhega (10 mbar nad parnim tlakom vode). Trdne disperzije smo oblagali z različnimi količinami polimera v izbranem topilu, v katerem je polimer topen, medtem ko je učinkovina v njem netopna. Uporabili smo različne gastrozistentne polimere (preglednica I). V primeru Eudragita® L 100-55 pa smo polimer skupaj z učinkovino raztopili v THF ter oblagali Sylisio 350.



Slika 8: Aparatura za oblaganje [Vir: Fakulteta za farmacijo].

Preglednica I: Uporabljeni polimeri za oblaganje 2.25 g trdne disperzije učinkovine in njihove koncentracije.

Polimer	Eudragit® L 100-55	HPMCP	Acoat AS HF	Acoat AS MF	Eudragit® L30 D55
Topilo (g polimera/ mL topila)	THF (0.02)	Aceton (0.02)	CHCl ₃ (0.02)	CHCl ₃ :aceton 5:1; (0.017) 4:1; (0.02)	30-% vodna disperzija (g disperzije za oblaganje: 10.0, 10.8, 12.5)

3.3.4. Granuliranje trdnih disperzij z Eudragitom® L30 D55

Sproščanje učinkovine v kislem smo želeli zadržati tudi z granuliranjem trdne disperzije z gastrorezistentnim polimerom Eudragit® L30 D55 (30-% vodna disperzija polimera). K 1.125 g trdne disperzije smo dodali različne količine vodne disperzije polimera in dobljeno vlažno zmes potisnili skozi 1-mm sito. Trdno disperzijo (1.125 g: 1 g Sylisie ali Neusilina, 125 mg učinkovine) smo granulirali s 5.5, 6.0, 6.5, 8.0, 10.0 in 12.0 g disperzije polimera, samo učinkovino (2 g) z 2.5, 3.0 in 3.5 g, fizikalno zmes (1 g Sylisia 350, 125 mg učinkovine) s 6.0 g, fizikalno zmes z večjimi delci učinkovine (125-250 µm) prav tako s 6.0 g polimera ter TD z Neusilin US2 s 5.0 g polimera. Granulat smo sušili v sušilniku 1 h pri 70 °C.

3.3.5. Analiza vzorcev

Določanje vsebnosti učinkovine

Za določanje vsebnosti učinkovine v trdni disperziji, obloženi trdni disperziji in granulat u smo uporabili fosfatni pufer (pH 6.8) z dodatkom 1g/L SDS. V 250-mL bučko smo natehtali izračunano maso vzorca, ki je ustrezala koncentraciji učinkovine 25 mg/L in s fosfatnim pufrom z dodatkom SDS (1g/L) dopolnili do oznake. V fosfatnem pufru s pH 6.8 "sink" pogoji niso zagotovljeni, zato smo naredili različne koncentracije pufra z dodatkom SDS (0.5, 1.0 in 2.5 g/L) in v njem raztapljali trdno disperzijo ter učinkovino. SDS je površinsko aktivna snov in izboljša raztapljanje učinkovine v mediju. Pri koncentraciji SDS 1 g/L se je v 60 min raztopila celotna količina učinkovine iz trdne disperzije, to ustreza koncentraciji 100 mg/L, in le okrog 35 mg/L v primeru same učinkovine. V

fosfatnem pufru s pH 6.8 in dodatkom SDS 1 g/L smo tako zagotovili "sink" pogoje, kar pomeni, da končna koncentracija učinkovine v mediju za sproščanje ne presega ene tretjine nasičene topnosti učinkovine v tem mediju. S tem dosežemo, da raztapljanje ni omejeno s topnostjo [53]. Natehtan vzorec obložene trdne disperzije smo suspendirali v fosfatnem pufru in bučko postavili za 2 h na magnetno mešalo ter spektrofotometrično določili koncentracijo učinkovine z merjenjem absorbance pri 332 nm in uporabo umeritvene premice. Pred merjenjem absorbance s kiveto iz kvarčnega stekla in potjo žarka 1.0 cm smo vzorce filtrirali skozi filter Minisart® RC 25 (0.45 µm).

Test zadržanja sproščanja učinkovine v kislem mediju

Pri vzorcih, ki smo jih obložili ali granulirali z gastrozistentnimi polimeri, smo preverjali acidorezistenco oziroma količino sproščene učinkovine po 2 h v HCl (pH 1.2). V 250-mL bučko smo natehtali izračunano maso vzorca, ki je ustrezala koncentraciji učinkovine 25 mg/L in s pufrom s pH 1.2 dopolnili do oznake. Bučko smo postavili za 2 h na magnetno mešalo in spektrofotometrično ($\lambda = 332$ nm) določili koncentracijo učinkovine. Na podlagi vsebnosti učinkovine v vzorcu, ki smo jo predhodno določili v fosfatnem pufru (pH 6.8), smo izračunali delež sproščene učinkovine v kislem mediju.

Preizkus raztapljanja

Preizkus raztapljanja smo izvedli po metodi A testa raztapljanja za trdne farmacevtske oblike po Ph. Eur. 7th Ed. ter uporabili napravo z vesli. Študije raztapljanja smo izvedli v dveh paralelkah s temperaturo medija 37 ± 0.5 °C in hitrostjo mešanja 50 obratov na minuto. Raztapljali smo trdne disperzije, obložene trdne disperzije ali granulata, ki sta vsebovala 25 mg učinkovine, kar ustreza enkratnemu odmerku te učinkovine. Raztapljali smo tudi granulat s 50 mg učinkovine. Po dvournem raztapljanju v 750 mL HCl s pH 1.2 s SDS (1g/L) smo vsebino naalkalili z 250 mL 0.2 M raztopine trinatrijevega fosfatadodekahidrata, ki smo ji prav tako dodali SDS (1g/L) in po potrebi uravnali pH na 6.8 ± 0.05 z uporabo 2 M HCl ali 2 M NaOH. V alkalnem mediju smo raztapljali še nadaljnji 2 h.

Ob določenih časovnih intervalih (1, 2, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60 in 120 min) smo v kislem in v alkalnem mediju ročno odvzeli 10 mL vzorca iz raztopine. Odvzetega volumna nismo nadomeščali, kar smo upoštevali pri računanju. Koncentracijo učinkovine v odvzetih

vzorcih smo določili spektrofotometrično z merjenjem absorbanco pri 332 nm in uporabo umeritvene premice.

Določitev specifične površine in porazdelitev velikosti por v trdnih disperzijah

Z BET-analizo, ki temelji na adsorpciji plina (dušika), smo določili specifično površino por Sylysie 350 in trdnih disperzij z vsebnostjo 30, 50, in 100 mg učinkovine na 1 g Sylysia (učinkovina:Sylysia 0.03:1, 0.05:1, 0.1:1). Uporabili smo napravo za določitev specifične površine in poroznosti Tristar 3000, Micromeritics, ZDA.

Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC)

Termično analizo gastrorezistentnega polimera Eudragit[®] L30 D55 smo izvedli z diferenčnim dinamičnim kalorimetrom Mettler-Toledo DSC1, opremljenim s programsko opremo STARE Software v9.10. Vzorce smo segrevali od -10 do 150 °C. Hitrost segrevanja je bila 20 K/min. meritve pa so bile izvedene v dušikovi atmosferi (s pretokom dušika 40 mL/min).

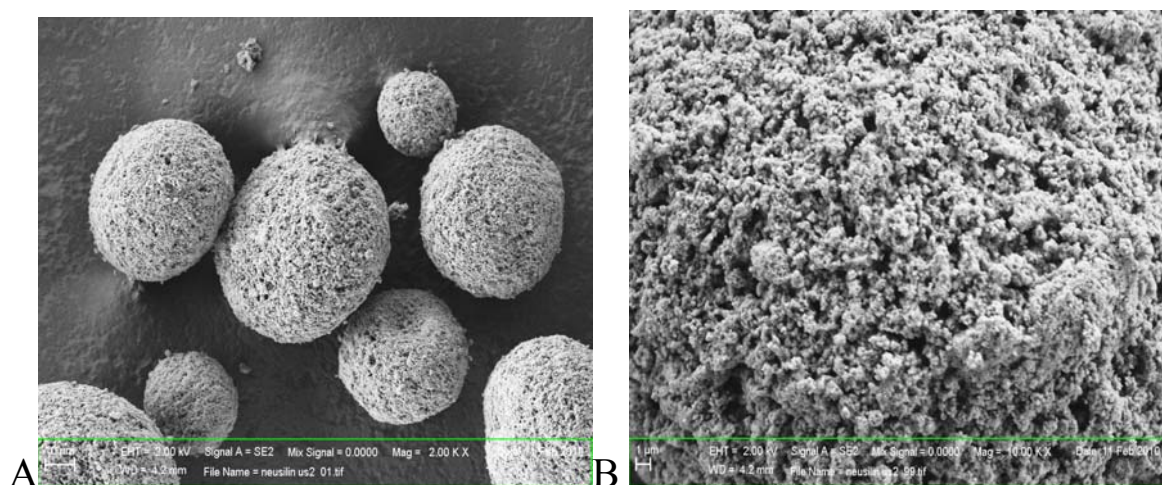
Morfologija delcev

Z vrstičnim elektronskim mikroskopom smo opazovali morfologijo delcev. Posušene vzorce smo nanесли na dvostranski ogljikov lepilni trak in jih nato preučevali z vrstičnim elektronskim mikroskopom SEM Supra 35 VP, Carl Zeiss, Nemčija.

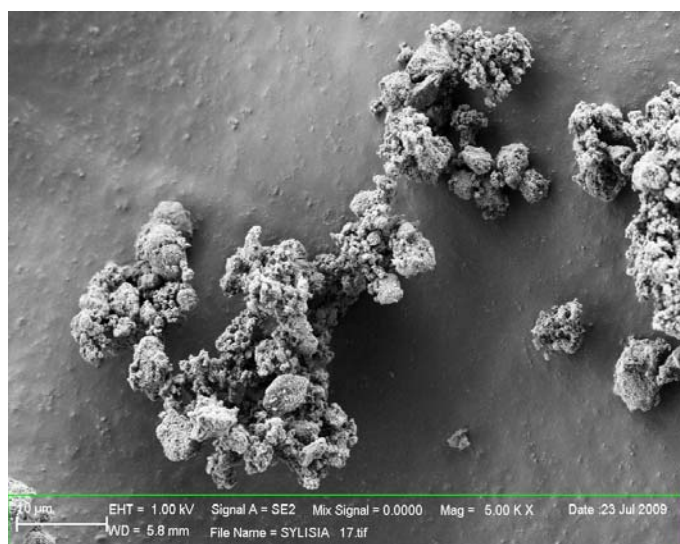
4. Rezultati in razprava

4.1. Morfologija delcev

Sliki 9A in B prikazujeta Neusilin US2, ki je v obliki kroglic velikosti 10-100 μm . Slika 10 pa prikazuje Syllisia 350, kjer opazimo aglomerate delcev nepravilnih oblik, ki so veliki 3-5 μm .



Sliki 9A in B: Elektronsko mikroskopski sliki Neusilina US2 (A-povečava 2000x, B-povečava 10000x) [Vir: Fakulteta za farmacijo].



Slika 10: Elektronsko mikroskopska slika Syllisia 350 [Vir: Fakulteta za farmacijo].

4.2. Določitev specifične površine in porazdelitev velikosti por

S pomočjo BET-analize smo izmerili površino, volumen in premer por Sylisie 350, Sylisie 350 napolnjene s 30, 50 in 100 mg učinkovine na g Sylisie (učinkovina:Sylisia 0.03:1, 0.05:1, 0.1:1). Izmerili smo tudi površino, volumen in premer por Neusilina US2, kar prikazuje preglednica II.

Preglednica II: Rezultati BET-analize: površina, volumen in premer por Sylisie 350 in Neusilina US2 ter Sylisie 350 napolnjene s 30, 50 in 100 mg učinkovine na g Sylisie.

Vzorec	Delež nosilca	BET površina (m ² /g)	Celokupni volumen por – Adsorp BHJ (cm ³ /g)	Povprečni premer por (nm)
Sylisia 350	100 %	277.50	1.75	25.34
30 mg/g Sylisia	97 %	258.78	1.59	24.12
50 mg/g Sylisia	95 %	253.77	1.53	23.07
100 mg/g Sylisia	90 %	242.13	1.43	21.90
Neusilin US2	100 %	377.21	1.40	13.14

Na podlagi rezultatov BET-analize, ki jih prikazuje preglednica II, ugotovimo, da ima Sylisia 350 manjšo BET-površino v primerjavi z Neusilinom, ki je manj porozen in ima manjši povprečni premer por. Rezultati kažejo, da se učinkovina vgrajuje v pore Sylisie. Čista Sylisia ima večjo BET-površino kot trdne disperzije. Zmanjšal se je tudi celokupni volumen por pri trdnih disperzijah glede na Sylisio. Z večanjem količine vgrajene učinkovine v trdne disperzije je opazen trend zmanjševanja BET-površine, volumna in povprečnega premera por. Iz tega sklepamo, da se je učinkovina vgradila v pore Sylisie. Iz rezultatov BET-analize sklepamo tudi, da je v porah trdnih disperzij še vedno dovolj prostora za obarjanje gastrozistentnega polimera, saj se je BET-površina pri trdni disperziji z vgrajenimi 100 mg učinkovine, kar je štirikratni odmerek, glede na Sylisio zmanjšala le za 12.7 %, celokupni volumen por pa za 18.3 %.

4.3. Kvalitativna ocena topnosti učinkovine in gastrozistentnih polimerov v različnih topilih

Preglednica III prikazuje oceno topnosti učinkovine in nekaterih gastrozistentnih polimerov v različnih topilih. Ugotovili smo, da je učinkovina zelo dobro topna v THF in acetonu, poleg tega sta obe topili lahko hlapni in ju pri znižanem tlaku zlahka odstranimo.

Pri oblaganju s polimeri je pomembno izbrati topilo, v katerem je polimer topen, učinkovina pa ne oziroma čim manj.

Preglednica III: Topnost učinkovine in gastrozistentnih polimerov v različnih topilih.

Topilo	Učinkovina	Acoat AS HF	HPMCP (HP 55)	Eudragit® S 100	Eudragit® L 100-55
Tetrahidrofuran	DA	DA	/	/	DA
Kloroform	NE	DA	NE (nabreka)	NE	/
Diklorometan	DA	/	/	/	NE
Aceton	DA	DA	DA	DA	DA
Acetonitril	Delno	DA	NE	NE	/
Etilacetat	Delno	DA	NE	NE	/
n-propil alkohol	DA	DA	/	/	/
Metanol	DA	DA	/	/	/
1,2-propanediol	DA	NE	NE	DA	/
1,2-propandiol	Delno	/	NE	NE	/
n-heptan	/	NE	/	/	/
Dimetilsulfoksid	DA	DA (24h)	/	/	/
Etanol	DA	DA (počasi)	/	/	/
Pufer 7.5	Zelo slabo	DA	DA	/	/
Pufer 8.0	NE	DA	DA	DA	/
H₂O	Zelo slabo	NE	NE	NE	/
Diklordimetilsilan	NE	/	NE	NE	/
Kloroform+5%EtOH	DA	/	DA	DA	/
Dioksan	DA	DA	DA	DA	/
Terc-butanol	NE (DA,↑T)	NE (nabreka)	NE (DA,↑T)	NE (DA,↑T)	/
Etanolamin	DA	NE	NE	NE	/
Dietileter	NE	NE	NE	NE	/
Diklorometan	DA	/	/	/	/
Dikloroetan	DA	/	/	/	/
Piridin	DA	DA	DA	NE	/
N,N-dimetilacetamid	DA	DA	DA	DA	/
N,N-dimetilformamid	DA	DA	DA	DA	/
Nitrometan	DA	/	NE	NE	/
1-butanol	DA	/	NE (nabreka)	NE (nabreka)	/
N-butilamin	DA	/	/	NE	/
Formamid	NE	DA (24h)	DA (24h)	DA	/

4.4. Oblaganje trdne disperzije z gastrozistentnimi polimeri

Oblagali smo 2.25 g trdne disperzije na kontinuiran način z različnimi koloidnimi disperzijami oziroma raztopinami gastrozistentnih polimerov. Preglednica IV prikazuje rezultate sproščanja obložene trdne disperzije po 2 h v HCl s pH 1.2. Trdno disperzijo smo oblagali v 2-3 paralelkah, v preglednici so srednje vrednosti rezultatov.

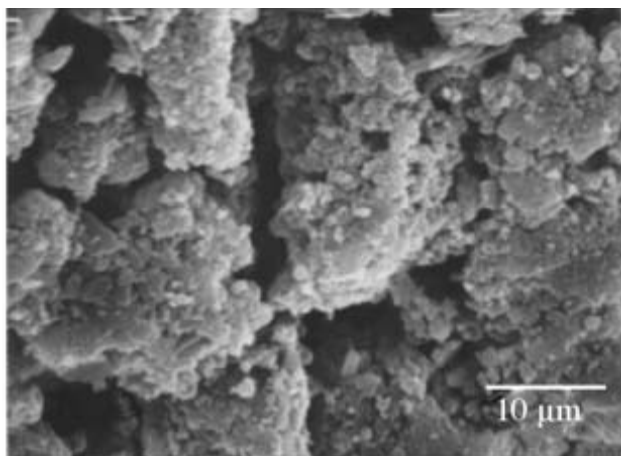
Preglednica IV: Rezultati sproščanja učinkovine iz obloženih disperzij z gastrozistentnimi polimeri v kislem mediju s pH 1.2. *gP* - masa (v gramih) dodanega polimera na 2.25 g trdne disperzije z učinkovino, %*Uč* - delež sproščene učinkovine.

Eudragit® L 100-55/ THF		HPMCP/ acetone		Acoat AS HF/ CHCl₃		Acoat AS MF/ CHCl₃:acetone 5:1		Acoat AS MF/ CHCl₃:acetone 4:1		Eudragit® L30 D55/ 30-% vodna disperzija	
<i>gP</i>	% <i>Uč</i>	<i>gP</i>	% <i>Uč</i>	<i>gP</i>	% <i>Uč</i>	<i>gP</i>	% <i>Uč</i>	<i>gP</i>	% <i>Uč</i>	<i>gP</i>	% <i>Uč</i>
0.25	87	0.5	94	0.5	61	0.6	58	0.5	60	10.0	46
0.5	91	1.0	88	1.0	45	1.0	60	1.0	60	10.8	40
1.0	91	1.5	56	1.5	54	1.5	51	Neusilin		Neusilin	
2.0	92	2.0	67	1.8	42	2.0	33	<i>gP</i>	% <i>Uč</i>	<i>gP</i>	% <i>Uč</i>
		2.75	46	2.0	38			0.5	79	12.5	55
		3.25	30					1.0	65		

Kriterij sprejemljivosti pri sproščanju iz trdnih farmacevtskih oblik z zakasnjnim sproščanjem dovoljuje sprostitev največ 10 % odmerka učinkovine skozi gastrozistentno oblogo po 2-3 h sproščanja v kislem [52]. Iz rezultatov vidimo, da z oblaganjem v nobenem primeru nismo uspeli zadostiti predpisu, saj se je v najboljšem primeru (oblaganje s HPMCP) sprostilo kar 30 % učinkovine, ko smo 2.25 g trdne disperzije obložili s 3.25 g HPMCP iz acetona. Dobili smo nevoluminozen rjavkast prašek, saj se je polimer naložil tako v pore, kakor tudi na površino delcev in med njimi. Na osnovi teh rezultatov sklepamo, da so verige polimera predolge, da bi se v celoti naložile v pore in jo obložile, kar je verjetno tudi razlog za slabo ponovljivost med serijami. Poleg tega je določen del učinkovine v trdnih disperzijah adsorbiran na površini delcev, ki jih polimer prav tako ne prekrije. Oblaganje z večjimi količinami polimera je trajalo več ur, kar je verjetno tudi razlog za »zažgan« videz končnega produkta.

Pri oblaganju z Eudragitom® L 100-55 smo učinkovino in polimer skupaj raztopili v THF in nato oblagali 2 g Sylisie 350. Rezultati so bili v tem primeru najslabši, saj se je ne glede

na količino uporabljenega polimera po 2 h v kislem sprostito okrog 90 % učinkovine. Podobne rezultate je dobil Yang s sodelavci [48], ki je v raziskavi preučeval sproščanje nitredipina iz mikrosfer, ki so jih izdelali iz gastrozistentnega polimera Eudragit® E-100. Učinkovino in polimer so raztopili v mešanici acetona in diklorometana ter ob neprestanem mešanju dodali netopilo (destilirana voda), po ponovnem dodatku netopila in stalnem mešanju so iz emulzije s prosojnimi kapljicami nastale neprozorne mikrosfere, EuE-100 v mikrosferah služi tudi kot nosilec učinkovine v trdni disperziji. V pufru s pH 1.2 se je iz mikrosfer po 2 h sprostita celotna količina učinkovine. Pri opazovanjem topografije, oblike in notranje strukture mikrosfer z vrstičnim elektronskim mikroskopom so ugotovili, da je površina mikrosfer porozna z velikim številom medprostorov (slika 11). Mikrosfera je v notranjosti votla, ob prerezu pa je razvidno, da je notranja površina prav tako posejana s številnimi makroporami in votlinicami. Tako porozna struktura je verjetno razlog hitre sprostitve učinkovine pri pH 1.2.

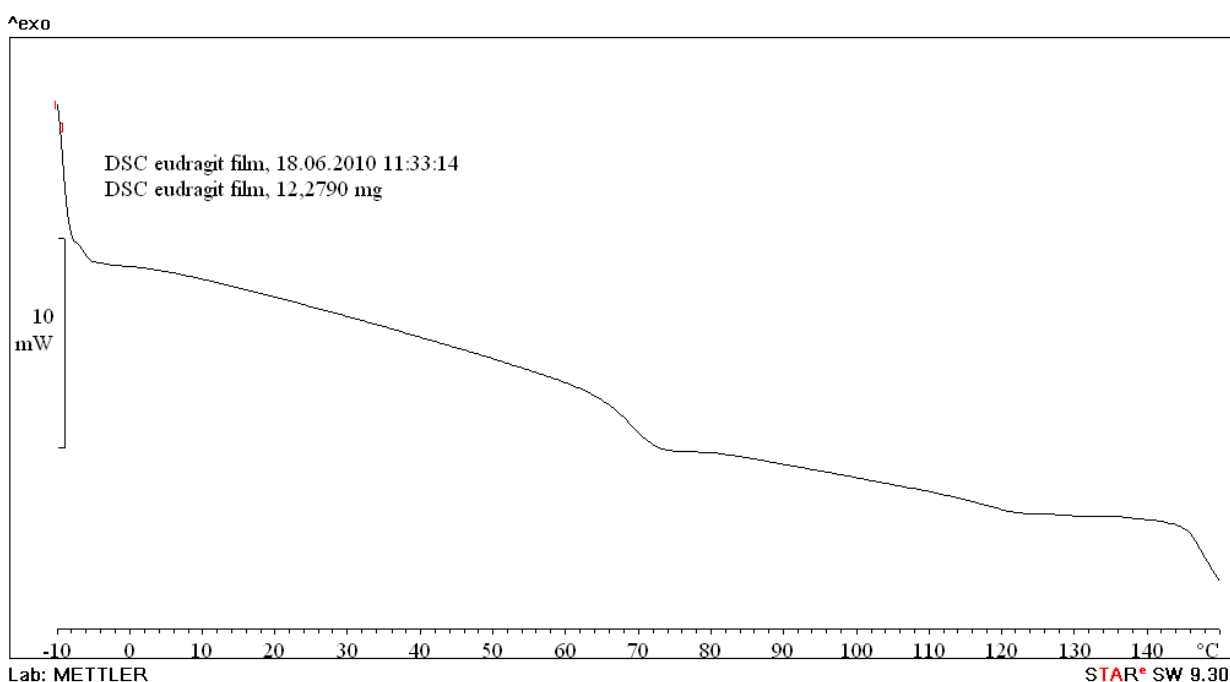


Slika 11 : Elektronsko mikroskopska slika površine mikrosfere iz gastrozistentnega polimera Eudragit® E-100 [48].

4.5. Granuliranje trdnih disperzij

Osnovna ideja oblaganja trdnih disperzij z gastrozistentnimi polimeri je bila izdelava delcev, ki popolno zadržijo sproščanje učinkovine v kislem. Dvopulzno sproščanje bi tako dosegli z mešanjem obložene trdne disperzije in neobložene trdne disperzije v ustreznem razmerju. Zaradi neustreznih rezultatov oblaganja trdnih disperzij z gastrozistentnimi polimeri smo se v nadaljevanju odločili za njihovo granuliranje. Tako smo želeli izdelati delce, ki bi del učinkovine sprostili v kislem, del pa v alkalnem mediju.

1.125 g trdne disperzije, ki vsebuje 125 mg učinkovine, smo granulirali s 30-% vodno suspenzijo gastrozistentnega polimera Eudragit® L30 D55. Granulat smo sušili v električnem sušilniku 2 h pri 70°C. Slika 12 prikazuje DSC krivuljo polimernega filma Eudragita, ki smo ga uporabljali pri granuliranju. Na krivulji opazimo steklast prehod pri približno 70 °C, kjer polimer preide iz steklastega stanja v zmehčano plastično stanje, zato smo granulat sušili pri tej temperaturi.



Slika 12: DSC-krivulja polimernega filma Eudragit® L30 D55.

Izdelali smo po dve seriji granulata (3 v primeru Neusilina) in v dveh paralelkah posamezne serije določili zadržanje sproščanja učinkovine v HCl s pH 1.2 po 2 h. V preglednici V so navedene srednje vrednosti odstotka sproščene učinkovine iz granulata glede na celokupno vsebnost učinkovine.

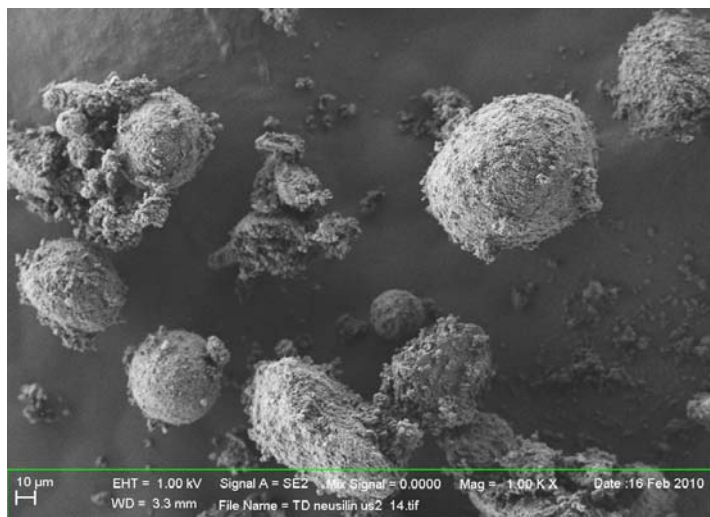
Preglednica V: Rezultati sproščanja učinkovine iz granulata po 2 h v kislem mediju s pH 1.2. gP - masa dodanega polimera Eudragit® L30 D55 na 1.125g trdne disperzije z učinkovino, Delež polimera - delež polimera v granulatu, % sprošč. Uč - delež sproščene učinkovine.

Masa polimera (gP) v masi granulata (g)	1,65g P v 2.775g	1.8g P v 2.925g	1.95g P v 3.075g	2.4g P v 3.525g	3.0g P v 4.125g	3.6g P v 4.725g	Neusilin 1.65g P v 2.775g		
Delež polimera (%)	59.5	61.5	63.4	68.1	72.7	76.2	59.5		
% sprošč. Uč	46.3	58.6	42.3	39.8	36.1	20.9	49.7	57.5	70.7

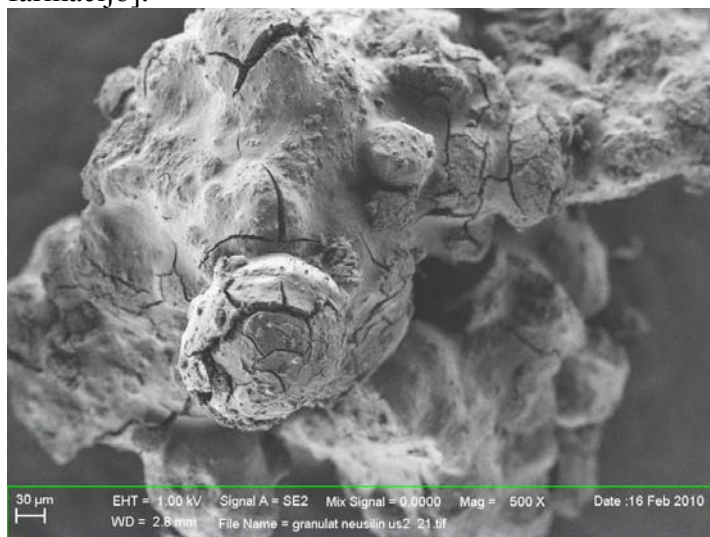
(Zadnji stolpec predstavlja rezultate granulata iz Neusilina, 3 paralelke)

Iz preglednice V je razvidno, da tudi z granuliranjem nismo zadostili kriteriju sprejemljivosti za trdne farmacevtske oblike z gastrozistentno oblogo pri sproščanju v kislem, saj se je po 2 h iz granulata z 12 g polimera/1.125 g trdne disperzije, kar je največja količina polimera, s katero smo uspeli granulirati, sprostil kar 20.9 % učinkovine (predpis dovoljuje največ 10 % [53]).

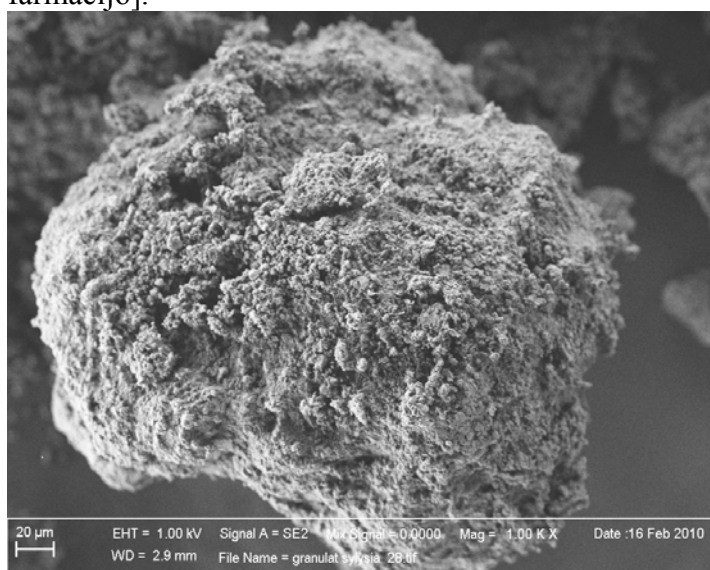
V primeru granulata iz Neusilina smo dobili zelo neponovljive rezultate. Z opazovanjem površine trdne disperzije pod vrstičnim elektronskim mikroskopom smo ugotovili, da so kroglice Neusilina premalo porozne, saj se je učinkovina naložila v pore, pa tudi na površino kroglic, med kroglicami in ločeno od njih (slika 13). Pri granulatu iz Neusilina pa smo na polimerni oblogi na kroglicah opazili tudi razpoke (slika 14). V nadaljevanju raziskave granulata iz Neusilina US2 več nismo uporabljali. Slika 15 prikazuje granulat Sylisie 350.



Slika 13: Elektronsko mikroskopska slika trdne disperzije Neusilina US2 [Fakulteta za farmacijo].



Slika 14: Elektronsko mikroskopska slika granulata Neusilina US2 [Fakulteta za farmacijo].

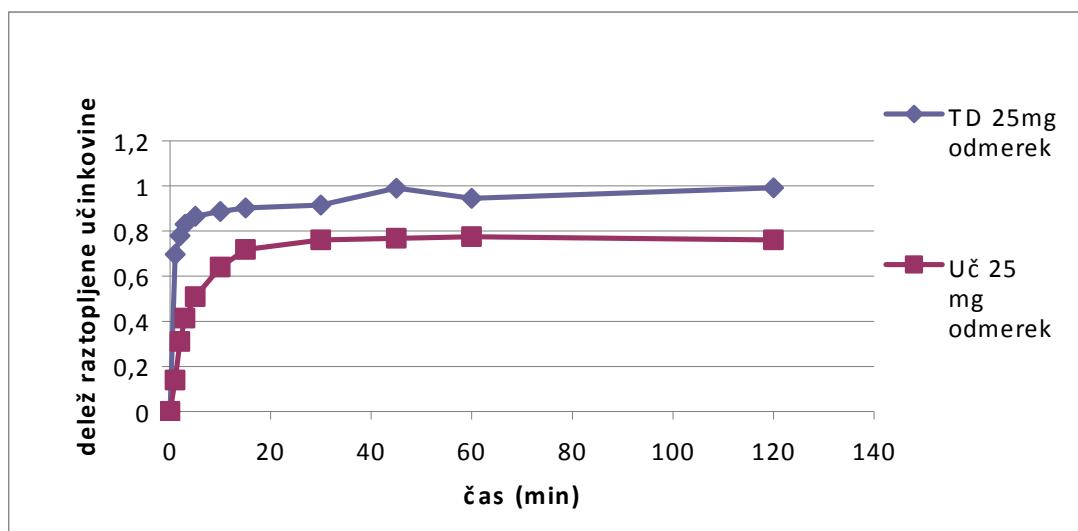


Slika 15: Elektronsko mikroskopska slika granulata Syllisie 350 [Fakulteta za farmacijo].

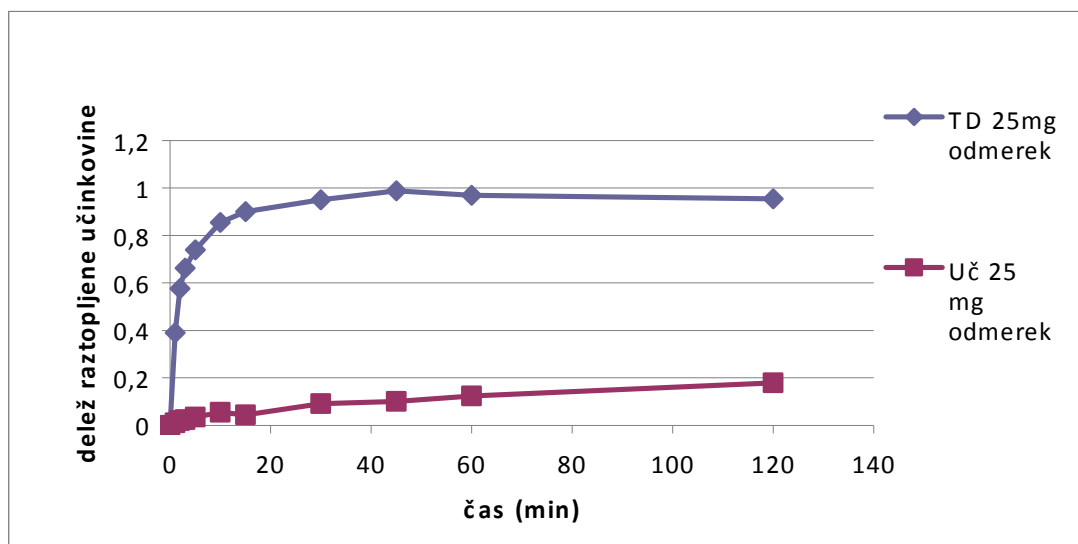
Rezultati granuliranja trdne disperzije učinkovine in Sylysia 350 so pokazali, da lahko z dodajanjem različne količine polimerne suspenzije (5.5, 6.0 ter 6.5 g, s 30-% koncentracijo polimera) uravnavamo delež sproščene učinkovine v kislem. Predpostavili smo, da se preostali delež učinkovine sprosti v alkalnem mediju. Izdelali smo tudi granulat same učinkovine, tako da smo 2 g učinkovine granulirali z 2.5, 3.0 in 3.5 g polimera. Za primerjavo smo izdelali še granulat fizikalne zmesi (Sylysia + učinkovina) ter granulat fizikalne zmesi z učinkovino z večjimi delci (125-250 μm).

4.6. Rezultati preizkusa raztapljanja

4.6.1. Raztapljanje čiste učinkovine in učinkovine iz trdne disperzije



Slika 16: Diagram raztapljanja 25-mg odmerka kristalne oblike učinkovine (Uč) in učinkovine iz trdne disperzije (TD) z razmerjem učinkovina:Sylysia 0.125:1 v pufru s pH 1.2 in dodatkom SDS (1g/L).



Slika 17: Diagram raztapljanja 25-mg odmerka kristalne oblike učinkovine (Uč) in učinkovine iz trdne disperzije (TD) z razmerjem učinkovina:Sylisia 0.125:1 v pufru s pH 6.8 in dodatkom SDS (1g/L).

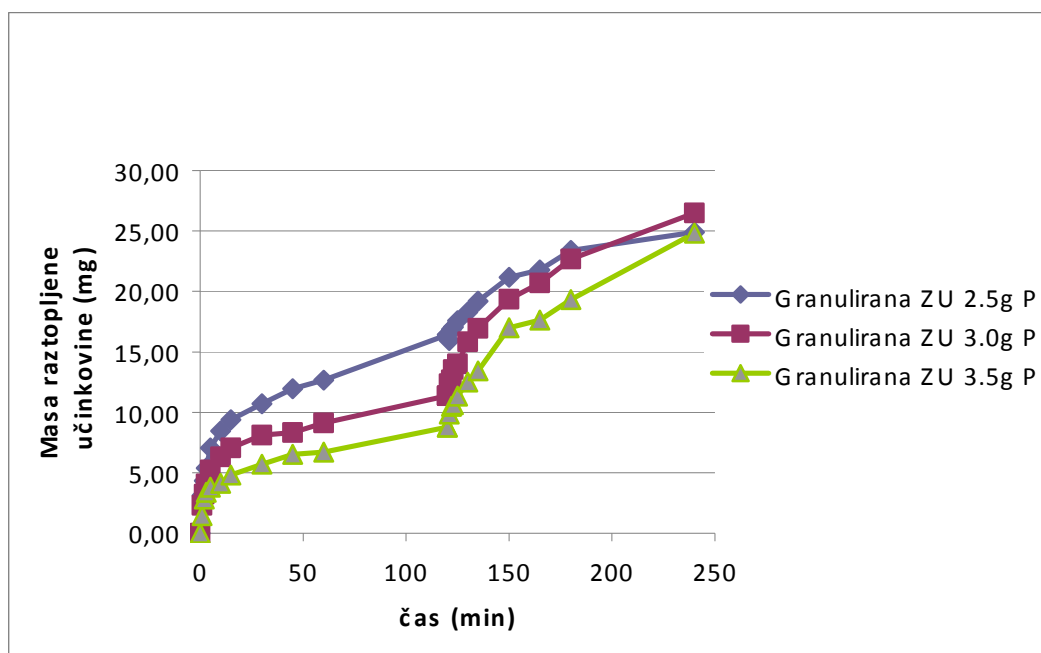
Sliki 16 in 17 prikazujeta raztapljanje 25-mg odmerka učinkovine iz trdne disperzije z razmerjem učinkovina:Sylisia 0.125:1 in učinkovine v kristalni obliki v pufrih s pH 1.2 in 6.8 ter dodatkom SDS (1g/L). Učinkovina se iz trdne disperzije raztaplja hitreje kakor učinkovina v kristalni obliki. Iz trdne disperzije se po 2 h v obeh pufrih raztopi celotna količina učinkovine, to je 25 mg. V primeru kristalne oblike pa se v pufru s pH 1.2 po 2 h raztopi 80 % učinkovine in le okrog 20 % v pufru 6.8. Opazimo, da je hitrost raztapljanja učinkovine iz trdne disperzije v obeh pufrih približno enaka, medtem ko je hitrost raztapljanja kristalne oblike učinkovine bistveno nižja v pufru s pH 6.8 v primerjavi s pufrom s pH 1.2. Razlog je v bistveno slabši topnosti učinkovine pri pH 6.8 (0.027 mg/mL) kot pri pH 1.2 (0.105 mg/mL). Iz tega lahko tudi sklepamo, da obarjanje učinkovine v porah prepreči kristalizacijo, tako se ta v trdni disperziji nahaja v amorfni obliki, ki se hitreje raztaplja v primerjavi s kristalno. Predpostavko, da pride do vgraditve učinkovine v pore, smo dokazali že z rezultati BET-analize (preglednica II). Sama Sylisia ima večjo BET-površino kot trdne disperzije, z večanjem količine vgrajene učinkovine v trdne disperzije pa je opazen trend zmanjševanja specifične površine.

Amorfinizacija substance je eden od pristopov za izboljšanje topnosti slabo topnih učinkovin. Na splošno velja, da ima amorfna oblika spojine boljšo topnost od kristalne, vendar pa je termodinamično nestabilna in kristalizira, kar predstavlja problem pri stabilnosti učinkovine. Amorfna oblika učinkovine je še posebej zaželena pri v vodi težko

topnih učinkovinah, ki jim želimo povečati neravnotežno topnost in s tem biološko uporabnost. V večini primerov je temperatura, pri kateri je treba hraniti amorfen vzorec, da ostane stabilen, mnogo nižja od sobne in je s stališča stabilnosti zdravila neuporabna. Tako je lahko izdelava trdnih disperzij uporabna metoda za stabilizacijo amorfne učinkovine. V porah nosilca lahko namreč pride do interakcij oziroma tvorbe vezi med amorfno učinkovino in nosilcem, ki na ta način stabilizira učinkovino. Čeprav stabilnosti trdnih disperzij nismo testirali, predpostavimo, da je amorfna oblika učinkovine v porah Syllis stabilizirana.

Razlog hitre sprostitve učinkovine iz trdne disperzije v obeh pufrih je verjetno tudi dejstvo, da se pri dovolj nizkih vsebnostih učinkovina v trdni disperziji obori v obliki monosloja (v našem primeru je razmerje učinkovina:Syllis 0.125:1). Tako pride pri sproščanju do izpodrivanja hidrofobnih molekul učinkovine z bolj hidrofilnimi iz topila. Če je adsorpcija večplastna, oziroma če je kapaciteta monosloja presežena, je to izpodrivanje oteženo zaradi večje debeline adsorbirane plasti, saj mora topilo izpodriniti molekule, ki z ostalimi molekulami tvorijo hidrofobne interakcije. Poleg tega omogoča obarjanje učinkovine v porah nastanek manjših delcev in povečanje specifične površine, kar prav tako pripomore k izboljšanem raztapljanju učinkovine.

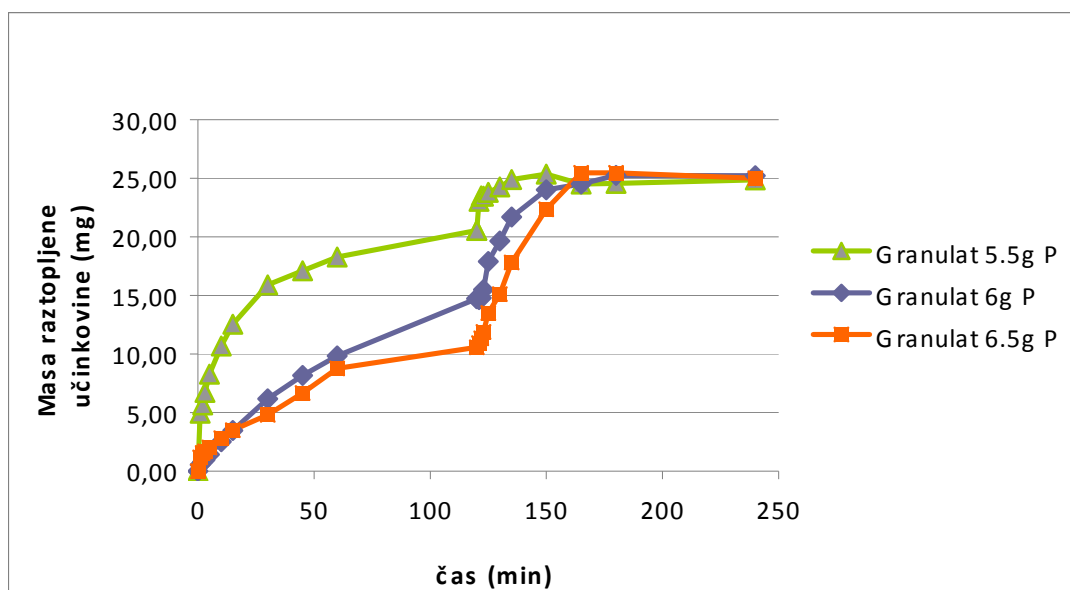
4.6.2. Sproščanje učinkovine iz granulata s polimerom Eudragit® L30 D55



Slika 18: Diagram sproščanja granulirane učinkovine (25-mg odmerek) z 2.5, 3.0 in 3.5 g polimera Eudragit® L30 D55 2 h v pufru s pH 1.2 z 1 g/L SDS in nadaljnji 2 h v pufru s pH 6.8 z 1 g/L SDS.

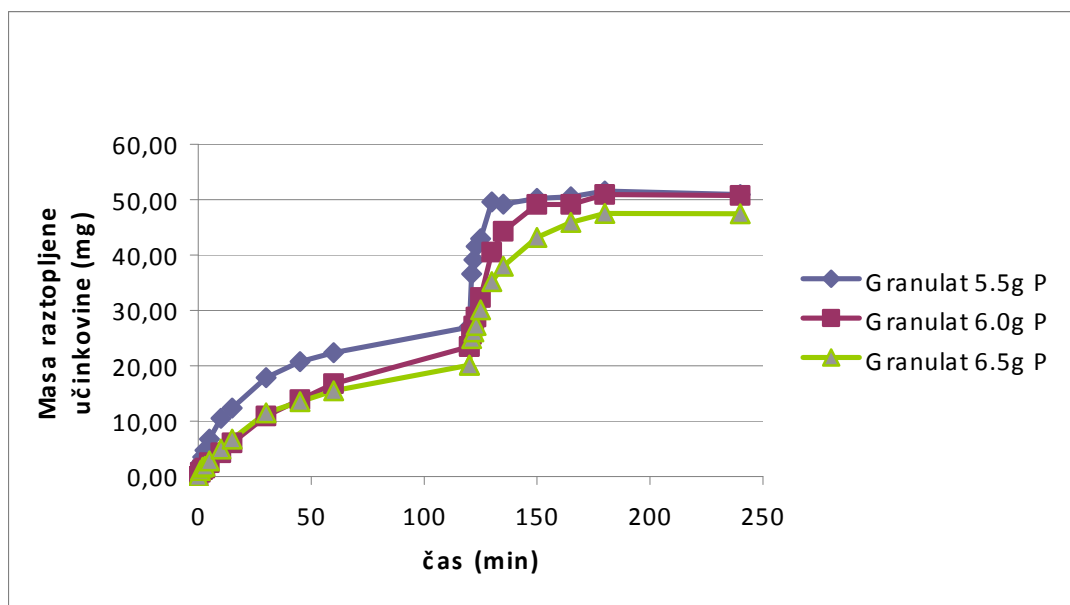
Iz slike 18 je razvidno, da se učinkovina iz granulata sprošča v obliki dveh pulzov, in sicer prvemu pulzu v kislem sledi po 2 h drugi pri pH 6.8. V kislem se po 120 min iz granulata z 2.5 g polimera sprosti 66 % učinkovine, v primeru 3g polimera 43 % in 35 % učinkovine iz granulata s 3.5 g polimera. Opazen je trend upočasnitve sproščanja učinkovine v kislem z naraščajočo količino gastrozistentnega polimera v granulatu. Iz vseh treh granulotov se po koncu raztapljanja sprosti celotna količina učinkovine.

4.6.3. Sproščanje učinkovine iz granulirane trdne disperzije s polimerom Eudragit® L30 D55 (25 mg odmerek)



Slika 19: Diagram sproščanja učinkovine iz granulata s 25-mg odmerkom 2 h pri pH 1.2 ob prisotnosti 1 g/L SDS in nadaljnji 2 h pri 6.8 ob prisotnosti 1 g/L SDS.

4.6.4. Sproščanje učinkovine iz granulirane trdne disperzije s polimerom Eudragit® L30 D55 (50 mg odmerek)

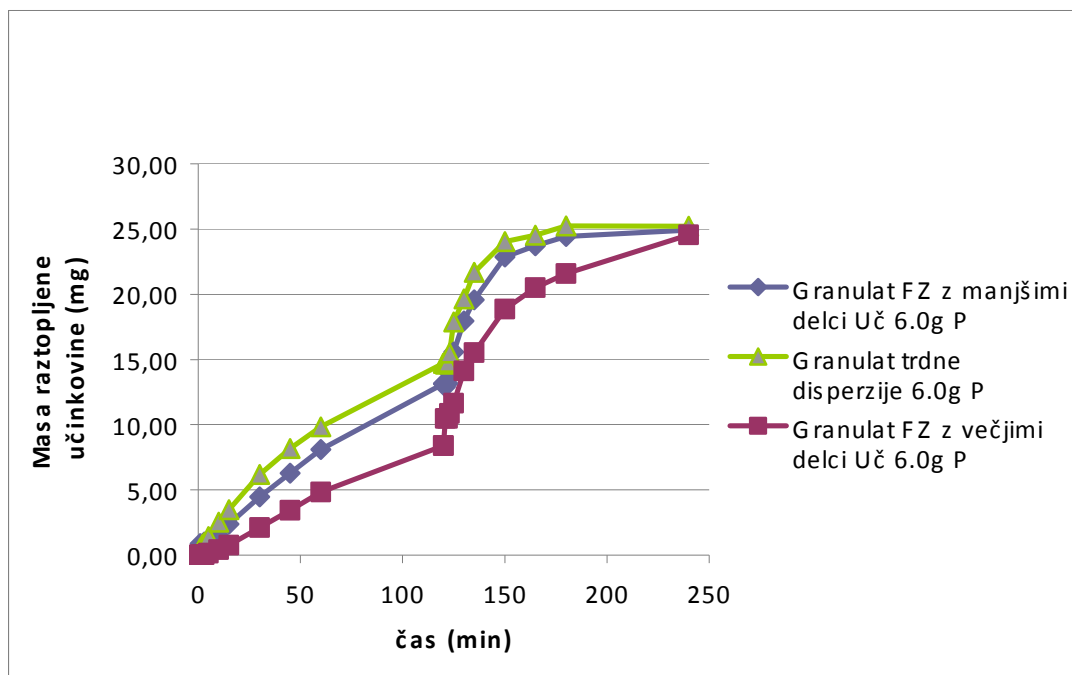


Slika 20: Diagram sproščanja učinkovine iz granulata z dvojnimi odmerki (50mg) 2 h pri pH 1.2 ob prisotnosti 1 g/L SDS in nadaljnji 2 h pri 6.8 ob prisotnosti 1 g/L SDS.

Sliki 19 in 20 prikazujeta sproščanje učinkovine iz granulirane trdne disperzije (25- in 50-mg odmerki) s 5.5, 6.0, in 6.5 g gastrozistentnega polimera Eudragit® L30 D55 2 h pri pH 1.2 in nadaljnji 2 h pri 6.8. Oba pufrata vsebujeta površinsko aktivno snov SDS v koncentraciji 1g/L. Iz diagramov je razviden dvopulzni profil sproščanja. V kislem se pri 25mg granulatu s 5.5 g polimera po 2 h sprosti 83 % učinkovine, pri 6.0 g polimera 62 % in 44 % iz granulata s 6.5 g polimera. Podobne rezultate smo dobili tudi pri granulatu z dvojnimi odmerki, in sicer 53 % za granulat s 5.5 g polimera, 46 % za 6.0g in 42 % za 6.5 g polimera. Tudi tu je opazen trend zmanjšanja sproščanja učinkovine v kislem z naraščajočo količino gastrozistentnega polimera v granulatu. Če primerjamo obliko krivulje sproščanja granularne učinkovine in učinkovine iz granulata trdne disperzije (tako 25 kot tudi 50 mg) opazimo, da se učinkovina iz granularne trdne disperzije sprosti hitreje, zlasti v pufru 6.8, kjer se v prvih 20-30 min sprosti celotna preostala količina učinkovine, čemur sledi plato, za razliko od granularne učinkovine, kjer platoja ni in koncentracija sproščene učinkovine narašča do konca sproščanja. Torej dvournem sproščanju v kislem sledi hitra sprostitve učinkovine v alkalnem. Razlog za to je najverjetneje amorfna oblika učinkovine v trdni disperziji, majhna velikost delcev in njihova velika specifična površina, medtem ko je granularna učinkovina v kristalni obliki.

6.0 g polimera/1.125 g trdne disperzije je tisto razmerje, ki omogoča, da se približno polovica učinkovine sprosti v kislem in pol v alkalnem. Zato smo s 6.0 g polimera izdelali še granulat fizikalne zmesi manjšimi delci učinkovine in granulat fizikalne zmesi z večjimi delci učinkovine. Rezultate preizkusa sproščanja prikazuje slika 21.

4.6.5. Sproščanje učinkovine iz granulirane trdne disperzije in fizikalne zmesi (Sylisia+učinkovina) s 6.0g disperzije polimera Eudragit® L30 D55 (25 mg odmerek)



Slika 21: Diagram s primerjavo sproščanja učinkovine (25 mg) iz granulirane trdne disperzije in granulirane fizikalne zmesi z večjimi in manjšimi delci 2 h pri pH 1.2 in nadaljnji 2 h pri 6.8, obakrat v prisotnosti SDS (1g/L).

Iz slike 21 je razvidno, da se učinkovina iz granulirane fizikalne zmesi sprošča nekoliko počasneje kot iz granulirane trdne disperzije, še počasneje pa iz granulata fizikalne zmesi z večjimi delci učinkovine, saj se ti še počasneje raztapljajo. Po 2 h se v pH 1.2 iz granulata trdne disperzije sprosti 58 % učinkovine, 53 % iz granulirane fizikalne zmesi z manjšimi delci in 34 % iz granulata fizikalne zmesi z večjimi delci učinkovine.

5. Zaključek

V raziskavi smo izboljšali topnost v vodi slabo topne modelne učinkovine glede na kristalne delce z vgraditvijo v nanopore hidrofilnega silicijevega dioksida (Sylisia 350) in v porozni magnezijev aluminometasilikat (Neusilin US2). Pri trdnih disperzijah se je zmanjšal celokupni volumen por, specifična površina in povprečni premer por v primerjavi s samo Sylisio. V nastalih trdnih disperzijah je učinkovina v amorfni obliki, saj obarjanje v ozkih porah preprečuje nastanek kristalne oblike. Učinkovina se iz trdne disperzije sprošča hitreje kakor učinkovina v čisti (kristalni) obliki predvsem zaradi amorfne oblike, zmanjšanja velikost delcev, povečanja specifične površine in izboljšanja močenja.

Z oblaganjem trdnih disperzij učinkovine in Sylisia 350 z različnimi gastrozistentnimi polimeri, ki zadržijo sproščanje v kislem, in ponovnim polnjenjem obložene trdne disperzije z učinkovino smo želeli izdelati pripravek z dvopulznim profilom sproščanja. Rezultati oblaganja niso izpolnili naših pričakovanj. Polimerne verige so verjetno predolge, da bi se v celoti naložile v pore, jih obložile in tako preprečile sproščanje učinkovine v kislem. Boljše rezultate bi lahko pričakovali, če bi polimerne verige cepili na manjše fragmente in z njimi oblagali pore, kar bo predmet nadaljnjih raziskav.

Z granuliranjem trdnih disperzij učinkovine in Sylisia 350 z gastrozistentnim polimerom Eudragit® L30 D55 v razmerju 6.0 g disperzije polimera/1.125 g trdne disperzije smo izdelali formulacijo z razmerjem učinkovina : pomožne snovi 0.125 : 2.9 (delež učinkovine v granulatu znaša 4.27 %), iz katere se po 2 h v kislem (HCl, pH 1.2) sprosti približno polovica učinkovine, po naalkaljenju medija (pH 6.8) pa sledi v 20-30 min hitra sprostitvev druge polovice učinkovine. Iz granulirane fizikalne zmesi, ki je vsebovala mikronizirano učinkovino se je učinkovina sproščala nekoliko počasneje kot iz granulata trdne disperzije.

Z izdelavo granulotov trdnih disperzij učinkovine in Sylisia 350 z gastrozistentnim polimerom Eudragit® L30 D55 smo potrdili koncept dvopulznega sproščanja učinkovine, ki teoretično omogoča zmanjšanje odmerka in frekvenco jemanja zdravila, kar vodi k bolj učinkovitem in pacientu prijaznejšem zdravljenju z manjšo incidenco neželenih učinkov.

6. Literatura

- 1) J.G. Lyons, H. Holehonnur, D.M. Devine, J.E. Kennedy, L.M. Greever, P.Blackie, C.L. Higginbotham, The incorporation of an organically modified layered silicate in monolithic polymeric matrices produced using hot melt extrusion, *Materials Chemistry And Physics* 103 (2007) 419-426.
- 2) M.E. Aulton, *Pharmaceutics The science of dosage form design*, (2000) 204-210.
- 3) D. Horter, J.B. Dressman, Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract, *Adv. Drug. Del. Rew.* 25 (1997) 3-14.
- 4) A. Martin, *Physical pharmacy*, Pensilvania: Lea&Febiger 1993:13.
- 5) I. Smirnova, S. Suttiruengwong, M. Seiler, W. Arlt, Dissolution Rate Enhancement by Adsorption of Poorly Soluble Drugs on Hydrophilic Silica Aerogels, *Pharm. Development and Technology*, Vol. 9, (2004) 443-452.
- 6) R.H. Muller, K. Maden, S. Gohla, Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art., *Eur. J. Pharm Biopharm* 50 (2000) 161-77.
- 7) K. Oungbho, B.W. Muller, Chitosan sponges as sustained release drug carriers, *Int. J. Pharm.* 156 (1997) 229-237.
- 8) M.K. Chun, C.S. Cho, H.K. Choi, Mucoadhezive drug carrier based on interpolymmer complex of poly(vinylpyrrolidone) and poly(acrylic acid) prepared by template polymerization, *J. Cont. Rel.* 81 (2001) 327-34.
- 9) F. Hirayama, K. Uekama, Cyclodextrin-based controlled drug release system, *Adv. Drug Deliv. Rew.*, 36 (1999) 125-41.
- 10) O. Planinšek, Nekatere metode za povečanje topnosti in hitrosti raztapljanja v vodi težko topnih učinkovin-2.del, *Farm Vestn* (2002); 53; 117-127.
- 11) J.L. Ford, The current status of solid dispersions, *Pharm Acta Helv* (1986); 3; 69-88.
- 12) O. Planinšek, Sodobni pristopi k izdelavi trdnih farmacevtskih oblik z izboljšano biološko uporabnostjo učinkovin, *Farm Vest* (2009); 60; 169-176.
- 13) S. Sharma, P. Sher, S. Badve, A. Pawar, Adsorption of meloxicam on porous calcium silicate: characterisation and tablet formulation, *AAPS PharmSciTech* 6(4) (2005) 618-625.

- 14) H. Takeuchi, S. Nagira, H. Yamamoto, Y. Kawashima, Solid dispersion particles of tolbutamide prepared with fine silica particles by the spray-drying method, *Powder Technol.* 141 (2004) 197-195.
- 15) H. Takeuchi, S. Nagira, H. Yamamoto, Y. Kawashima, Solid dispersion particles of amorphous indomethacin with fine porous silica particles by using spray-drying method, *Int. J. Pharm.* 293 (2005) 155-164.
- 16) T. Uchino, N. Yasuno, H. Suzuki, Solid dispersion of spironolactone with porous silica prepared by the solvent method, *Pharmazie* 62 (2007) 599-603.
- 17) K. Unger, H. Rupprecht, B. Valentin, W. Kircher, The use of porous and surface modified silica as drug delivery and stabilizing agent, *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 9 (1983) 69-91.
- 18) A. Streubel, J. Siepmann, R. Bodmeier, Floating matrix tablet based on low density foam powder: effect of formulation and processing parameters on drug release, *Eur. J. Pharm. Sci.* 18 (2003) 37-45.
- 19) M. Kinoshita, K. Baba, A. Nagayasu, K. Yamabe, T.I. Shimmoka, Y. Takeichi, M.I. Azuma, H. Houchi, K. Minakuchi, Improvement of solubility and oral bioavailability of a poorly water-soluble drug, TAS-301, by its melt-adsorption on a porous calcium silicate, *J. Pharm. Sci.* 91 (2) (2002) 362-369.
- 20) Y. Ito, H. Arai, K. Uchino, K. Iwasaki, N. Shibata, K. Takada, Effect of adsorbents on the adsorption of lansoprasole with surfactant, *Int. J. Pharm.* 289 (2005) 69-77.
- 21) S. Okonoi, T. Oguchi, E. Yonemochi, S. Puttipatkhachorn, K. Yamamoto, Physicochemical properties of ursodeoxacholic acid dispersed in controlled pore glass, *J. Colloid Interface Sci.* 216 (1999) 276-284.
- 22) A.S. Ali, K. Yamamoto, A.M. El-Sayed, F.S. Habib, Y. Nakai, Molecular behaviour of flufenamic acid in physical and ground mixtures with fluorite, *Chem. Pharm. Bull.* 40 (1992) 1289-1294.
- 23) K. Kawanabe, Y. Okada, Y. Matsuse, H. Ilida, T. Nakamura, Treatment of osteomyelitis with antibiotic-soaked porous ceramic, *J. Bone Joint Surg.* 80B (3) (1998) 520-527.
- 24) T. Heikkilä, J. Salonen, J. Tuura, N. Kumar, T. Salmi, D.Y. Murzin, M.S. Hamdy, G. Mul, L. Laitinen, A.M. Kaukonen, J. Hirvonen, V. Lehto, Evaluation of mesoporous TCPSi, MCM-41, SBA-15 and TUD-1 materials as API carriers for oral drug delivery, *Drug Deliv.* 14 (2007) 337-347.

- 25) R. Mellaerts, C.A. Aerts, J. Van Humbeeck, P. Augustijns, G. Van den Mooter, J.A. Martens, Enhanced release of itraconazole from ordered mesoporous SBA-15 silica materials, *Chem. Commun.* (2005) 1375-1377.
- 26) Y. Tozuka, A. Kimura, K. Moribe, S. Yamamura, K. Yamamoto, Effect of pore size of FMS-16 on the entrapment of flurbiprofen in mesoporous structures, *Chem. Pharm. Bull* 53 (2005) 974-977.
- 27) M. Van Speybroeck, V. Barillaro, T.D. Thi, R. Mellaerts, J. Van Humbeeck, P. Annaert, G. Van den Mooter, P. Augustijns, Ordered mesoporous silica material SBA-15: A broad-spectrum formulation platform for poorly soluble drugs, *J. Pharm. Sci.* 98 (2009) 2648-2957.
- 28) Y. Ito, T. Kusawake, M. Ishida, R. Tawa, N. Shibata, K. Takada, Oral solid gentamicin preparation using emulsifier and adsorbent, *J. of Contr. Release* 105 (2005) 23-31.
- 29) K. Koga, S. Kawashima, M. Murakami, In vitro and in situ evidence for the contribution of Labrasol and Geleire 44/14 on transport of cephalexin and cefoperazone by rat intestine, *Eur. J. Pharm. Biopharm* 54 (2002) 311-318.
- 30) Y.V.R. Prasad, S. Eaimtrakarn, M. Ishida, Y. Kusawake, R. Tawa, Y. Yoshikawa, N. Shibata, K. Takada, Evaluation of oral formulations of gentamicin containing Labrasol in beagle dogs, *Int. J. Pharm.* 268 (2003) 13-21.
- 31) H. Yuasa, D. Asahi, Y. Takashima, Y. Kanaya, K. Shinozawa, Application of calcium silicate for medicinal preparation. I. Solid preparation adsorbing an oily medicine to calcium silicate, *Chem Pharm Bull* 42 (1994) 2327-2331.
- 32) J.B. Peri, Infrared study of OH and NH₂ groups of a dry silica aerogel. *J. Phys. Chem.* 70 (1966) 2937-2945.
- 33) Sylisia FCP, Fuji Sylisia Chemical Ltd Product information. Kozji-cho, Kasugajishi, Aichi-ken, Japan.
- 34) H. Takeuchi, S. Nagira, H. Yamamoto, Y. Kawashima, Solid dispersion particles of amorphous indomethacin with fine porous silica particles by using spray-drying method, *Inter. J. Pharm.* 293 (2005) 155-164.
- 35) H. Takeuchi, S. Nagira, Y. Hiromitsu, Y. Kawashima, Solid dispersion particles of tolbutamide prepared with fine silica particles by the spray-drying method, *Powder Technol.* 141 (2004) 187-195.

- 36) T. Watanabe, N. Wakiyama, F. Usui, M. Ikeda, T. Isobe, M. Senna, Stability of amorphous indomethacin compounded with silica. *Int. J. Pharm.* 226 (2001) 81-91.
- 37) T. Watanabe, I. Ono, N. Wakiyama, A. Kusai, M. Senna, Controlled dissolution properties of indomethacin by compounding with silica, *S.T.P. Pharm. Sci.* 12 (2002) 363-367.
- 38) T. Watanabe, S. Hasegawa, N. Wakiyama, A. Kusai, M. Senna, Comparison between polyvinylpyrrolidone and silica nanoparticles as carriers for indomethacin in a solid state dispersion, *Int. J. Pharm.* 250 (2003) 283-286.
- 39) K.M. Ohta, M. Fuyi, T. Takei, M. Chikazawa, Development of a simple method for the preparation of a silica gel based controlled delivery system with a high drug content, *Eur. J. Pharm. Sci.* 26 (2005) 87-96.
- 40) Y. Takeuchi, Kyuchaku-Gijutsu-Binran, NTS Inc., Tokyo, (1999) 280-282.
- 41) K. Thoma, K. Bechtold, Influence of aqueous coatings on the stability of enteric coated pellets and tablets, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 47 (1999) 39-50.
- 42) H. Ichikawa, Y. Fukumori, C.M. Adeyeye, Design of prolonged-release microcapsules containing diclofenac sodium for oral suspensions and their preparation by the Wurster process, *Int. J. Pharm.* 156 (1997) 39-48.
- 43) P. Kortesus, M. Ahola, M. Kangas, T. Leino, S. Laakso, L. Vuorilehto, A. Yli-Urpo, J. Kiesvaara, M. Marvola, Alkyl-substituted silica gel as a carrier in the controlled release of dexmedetomidine, *J. Contr. Rel.* 76 (2001) 227-238.
- 44) J.F. Chen, H.M. Ding, J.X. Wang, L. Shao, Preparation and characterization of porous hollow silica nanoparticles for drug delivery application, *Biomaterials* 25 (2004) 723-727.
- 45) M. Otsuka, K. Tokumitsu, Y. Matsuda, Solid dosage form preparations from oily medicines and their drug release. Effect of degree of surface-modification of silica gel on the drug release from phytonadione-loaded silica gels, *J. Contr. Rel.* 67 (2000) 369-384.
- 46) S. Sharma, A. Pawar, Low density multiparticulate system for pulsatile release of meloxicam, *Int. J. Pharm.* 313 (2006) 150-158.
- 47) R. Shruti, Colon Targeted Drug Delivery: A Review, Latest Reviews, Vol. 5 Issue 2 (2007), Pharmainfo.net.
- 48) M. Yang, F. Cui, B. You, J. You, L. Wang, L. Zhang, Y. Kawashima, A novel pH-dependent gradient-release delivery system for nitredipine I. Manufacturing,

- evaluation in vitro and bioavailability in healthy dogs, J. Contr. Rel., 98 (2004) 219-229.
- 49) M. Yang, F. Cui, B. You, L. Wang, P. Yue, Y. Kawashima, A novel pH-dependent gradient-release delivery system for nitredipine II. Investigations of the factors affecting the release behaviors of the system. Int. J. Pharm. 286 (2004) 99-109.
- 50) C.W. Rowe, W.E. Katstra, R.D. Palazzolo, P. Teung, M.J. Cima, Multimechanism oral dosage forms fabricated by three dimensional printing, J. Contr. Rel., 66 (2000) 11-17.
- 51) B. Li, J. Zhu, C. Zheng, W. Gong, A novel system for three-pulse drug release based on "tablets in capsule" device, Int. J. Pharm. 352 (2008) 159-164.
- 52) www.zdravila.net.
- 53) European Pharmacopoeia 7th Ed., 2.3.9. Dissolution test for solid dosage forms; 5093-5094.