

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

NATAŠA PEKLAR

# DIPLOMSKA NALOGA

Univerzitetni študij farmacije

Ljubljana, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO



NATAŠA PEKLAR

**PRIMERJAVA SPROŠČANJA AMOKSICILINA IN PENTOKSIFILINA IZ  
PLAVAJOČIH TABLET IN VREDNOTENJE VPLIVA SESTAVE OGRODJA**

**COMPARISON OF AMOXICILLIN AND PENTOXIFYLLIN RELEASE FROM  
FLOATING TABLETS AND EVALUATION OF MATRIX COMPOSITION  
EFFECTS**

Ljubljana, 2010

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

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

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

Nenazadnje se iskreno zahvaljujem tudi Juretu in staršem za vsestransko podporo ter mojim prijateljem, ki so mi ves čas študija stali ob strani in me spodbujali.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod mentorstvomizr. prof. dr. Saše Baumgartner, mag. farm.

Ljubljana, april 2010

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Albin Kristl, mag. farm

Član diplomske komisije: doc. dr. Jožko Cesar, mag. farm

Mentorica:izr. prof. dr. Saša Baumgartner, mag. farm.

# VSEBINA

<b>1 POVZETEK .....</b>	<b>III</b>
<b>2 SEZNAM OKRAJŠAV .....</b>	<b>V</b>
<b>3 UVOD.....</b>	<b>1</b>
3.1 SISTEMI S PODALJŠANIM ČASOM ZADRŽEVANJA V ŽELODCU .....	1
3.1.1 PLAVAJOČI SISTEMI.....	3
3.1.2 HITRO NABREKAJOČI SISTEMI.....	6
3.1.3 SISTEMI Z VISOKO GOSTOTO .....	7
3.1.4 SUPERPOROZNI HIDROGELI.....	7
3.1.5 SISTEMI RAZLIČNIH GEOMETRIJSKIH OBLIK .....	7
3.1.6 MUKOADHEZIVNI ALI BIOADHEZIVNI SISTEMI.....	8
3.1.7 MAGNETNI SISTEMI .....	8
3.2 HELICOBACTER PYLORI .....	9
3.2.1 Zdravljenje okužb s H. pylori .....	10
3.2.2 Plavajoče farmacevtske oblike s podaljšanim časom zadrževanja v želodcu, ki delujejo proti Helicobacter pylori.....	11
3.3 KSANTAN (Xanthan gum).....	13
3.4 AMOKSICILIN.....	15
<b>4 NAMEN DELA .....</b>	<b>17</b>
<b>5 EKSPERIMENTALNO DELO .....</b>	<b>18</b>
5.1 MATERIALI IN NAPRAVE .....	18
5.1.1 Snovi za izdelavo tablet.....	18
5.1.2 Reagenti za pripravo medijev za preskus raztapljanja in mobilne faze za HPLC analizo.....	18
5.1.3 Naprave.....	18
5.2 PRIPRAVA VZORCEV .....	19
5.2.1 Priprava medijev za preskuse raztapljanja.....	19
5.2.2 Izdelava tablet.....	21
5.3 METODE .....	22
5.3.1 DOLOČANJE FARMACEVTSKO – TEHNOLOŠKIH PARAMETROV TABLET .....	22
5.3.1.1 Enakomernost mase.....	22
5.3.1.2 Trdnost tablet.....	22
5.3.2 IZDELAVA UMERITVENIH PREMICE ZA PENTOKSIFILIN .....	22
5.3.3 IZDELAVA UMERITVENIH PREMICE ZA AMOKSICILIN .....	23
5.3.4 PRESKUS RAZTAPLJANJA IN DOLOČANJE HITROSTI SPLAVANJA TABLET .....	24
5.3.5 UV SPEKTROSKOPSKA ANALIZA SPROŠČENEGA PENTOKSIFILINA .....	24
5.3.6 HPLC ANALIZA SPROŠČENEGA AMOKSICILINA .....	25

<b>6 REZULTATI</b> .....	<b>27</b>
6.1 FARMACEVTSKO-TEHNOLOŠKO VREDNOTENJE OGRODNIH TABLET .....	27
6.1.1 Enakomernost mase .....	27
6.1.2 Trdnost tablet .....	27
6.2 ENAČBE UMERITVENIH PREMICE ZA PENTOKSIFILIN .....	28
6.3 ENAČBE UMERITVENIH PREMICE ZA AMOKSICILIN .....	29
6.4 REZULTATI SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IN AMOKSICILINA TER ČASA SPLAVANJA TABLET .....	32
<b>7 RAZPRAVA</b> .....	<b>38</b>
7.1 PROUČEVANJE VPLIVA MEDIJA NA PLOVNE LASTNOSTI TABLET ...	39
7.2 PROUČEVANJE SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IZ OGRODNIH TABLET SERIJ 1 IN 3 .....	41
7.3 PRIMERJAVA SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IN AMOKSICILINA IZ TABLET Z LAKTOZO .....	45
7.4 PRIMERJAVA SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IN AMOKSICILINA IZ TABLET Z NaHCO <sub>3</sub> .....	48
7.5 PROUČEVANJE OBLIKE IN VELIKOSTI TABLET PO KONČANEM 24 URNEM SPROŠČANJU .....	51
<b>8 SKLEP</b> .....	<b>54</b>
<b>9 LITERATURA</b> .....	<b>55</b>

# 1 POVZETEK

Infekcija želodca s *Helicobacter pylori* je ena izmed najpogostejših patogenih bakterijskih infekcij. Za zdravljenje je potrebna kombinacija večih antibiotikov in učinkovin, ki zmanjšujejo izločanje HCl. Med uporabljenimi antibiotiki je rezistenca na amoksicilin najmanjša, zato smo ga izbrali za vgradnjo v plavajoče tablete. V diplomskem delu smo proučevali kakšen vpliv na sproščanje in razgradnjo amoksicilina (AMX) ima ogrodje tablet, zlasti prisoten  $\text{NaHCO}_3$ .

Izdelali smo plavajoče tablete na osnovi ksantana z vgrajeno učinkovino amoksicilin trihidrat. Za proučevanje vpliva samega ogrodja na sproščanje vodotopne učinkovine smo namesto AMX v tablete vgradili enako količino pentoksifilina (PF), ki je prav tako vodotopna učinkovina, a stabilna v širokem pH območju, namesto  $\text{NaHCO}_3$  pa laktozo v enakem deležu.

Sproščanje učinkovine iz plavajočih tablet in hitrost splavanja tablet smo proučevali na napravi za analizo sproščanja 2 po USP v različnih medijih. Delež sproščenega AMX smo analizirali s HPLC, delež sproščenega PF pa spektrofotometrično.

Sproščanje in hitrost splavanja smo najprej proučevali na tabletah s PF. Iz ogrodja z laktozo in iz ogrodja z  $\text{NaHCO}_3$  se je sprostil ves PF. Tekom eksperimentalnega dela smo ugotovili, da je sproščanje iz ogrodja z laktozo nekoliko počasnejše kot iz ogrodja z  $\text{NaHCO}_3$ . Slednji s tvorbo mehurčkov  $\text{CO}_2$  razrahlja ogrodje in sproščanje je hitrejše. Sproščanje PF je potekalo nekoliko hitreje v mediju z višjo ionsko močjo. Pri zelo nizkem pH (pH 1,2) imata laktoza in  $\text{NaHCO}_3$  na sproščanje PF enak vpliv, tako pri nizki kot tudi pri visoki ionski moči. Pri pH 1,2 se tvori tanka gelska plast in je difuzija laktoze iz ogrodja tablet hitra, prav tako pa je iz ogrodja tablet hiter tudi prehod mehurčkov  $\text{CO}_2$  in je  $\text{NaHCO}_3$  v tem primeru tudi tvorilec por tako kot laktoza, zato je prehod ZU praktično enak. Na ogrodje ima tako enak vpliv zelo kisel pH 1,2 in/ali dodatek NaCl, ki smo ga medijem dodali za uravnavanje ionske moči.

Ugotovili smo, da je za doseganje plovnosti tablet nujno potreben dodatek  $\text{NaHCO}_3$ , saj tablete z laktozo niso splavale. Tablete, ki so splavale, so plavale vseh 24 ur preskusa.

Nato smo sproščanje učinkovine in hitrost splavanja proučevali še pri tabletah z AMX. Rezultate smo primerjali z rezultati sproščanja PF. Ugotovili smo, da AMX pri nizkem pH ni stabilen. Po približno 8 urah se je sprostilo tudi do 80 % AMX, po 24 urah pa je bil

delež sproščene AMX le še 60 %. Razliko lahko pripišemo razgradnji in ne nepopolnemu sproščanju AMX iz ogrodja tablet. Prav tako smo ugotovili, da je sproščanje AMX pri povišani ionsko moči nekoliko hitrejše, vendar ionska moč medija na sproščanje nima tako velikega vpliva kot na sproščanje PF, kar pa je s stališča terapije ugodno. Prav tako smo tudi pri AMX ugotovili, da ionska moč medija pri zelo nizkem pH (pH 1,2) nima vpliva na sproščanje, saj je sproščanje učinkovine pri nižji in višji ionski moči enako. Ker pa se AMX pri tem pH zelo hitro razgradi, lahko te rezultate sproščanja jemljemo zgolj informativno. Ne glede na veliko razgradnjo AMX pa je koncentracija v mediju prisotnega AMX vedno bistveno večja kot MIC<sub>90</sub> za *Helicobacter pylori* v želodcu. Ugotovili smo tudi, da je sproščanje PF iz tablet z laktozo bolj podvrženo spremembam v mediju, zlasti pH in dodatku NaCl, pri AMX pa medij vpliva v glavnem na razgradnjo kar zakrije vplive na ogrodje. Ionska moč medija na sproščanje AMX zlasti pri pH 3,0 nima vpliva, kar je ugodno. Tablete z AMX in z laktozo niso splavale, z dodatkom NaHCO<sub>3</sub> pa so plavale vseh 24 ur preskusa.

Med preskusi plavanja in sproščanja smo ugotovili, da tablete s ksantanom kot ogrodnim polimerom močno nabrekajo. Plavanje dosežemo z ustreznim razmerjem med ksantanom, AMX in NaHCO<sub>3</sub>. Zadostna velikost in čvrstost tablet skozi daljši čas tako predstavljajo eno od možnosti za podaljšan čas sproščanja AMX in zadrževanja farmacevtske oblike v želodcu, torej na mestu delovanja.

## 2 SEZNAM OKRAJŠAV

AMX	amoksicilin
FO	farmaceutvska oblika
GIT	gastrointestinalni trakt
GRT	gastric residence time = čas zadrževanja v želodcu
H. pylori	Helicobacter pylori
HBS	hydrodynamically balanced systems-hidrodinamično uravnotežen sistem
HPLC	high performance liquid chromatography = tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
(I)MMC	interdigestivni migrirajoči mioelektrični kompleks
IPČ	inhibitor protonske črpalke
MCC	mikrokristalna celuloza
Mg-stearat	magnezijev stearat
MIC <sub>90</sub>	minimalna inhibitorna koncentracija, pri kateri odmre 90 % vseh mikroorganizmov
M1	(medij 1) medij s pH 3,0 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
M2	(medij 2) medij s pH 3,0 HCl
M3	(medij 3) medij s pH 3,0 HCl + NaCl
M4	(medij 4) medij s pH 1,2 HCl
M5	(medij 5) medij s pH 1,2 HCl+NaCl
M6	(medij 6) medij s pH 3,0 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + NaCl
PF	pentoksifilin
PPK	površina pod krivuljo
rpm	število vrtljajev
SD	standardna deviacija
ZU	zdravilna učinkovina
XAN	ksantan
μ	ionska moč



## 3 UVOD

### 3.1 SISTEMI S PODALJŠANIM ČASOM ZADRŽEVANJA V ŽELODCU

GRT (gastric residence time) sistemi so sistemi s podaljšanim časom zadrževanja v želodcu. O sistemih govorimo zato, ker jih dostikrat ne moremo opisati z neko že znano farmacevtsko obliko (FO). GRT sistemi omogočajo peroralno terapijo z zdravilnimi učinkovinami z ozkim terapevtskim oknom v zgornjem delu gastrointestinalnega trakta, z zdravilnimi učinkovinami s slabo stabilnostjo v črevesju in slabo topnostjo pri višjih vrednostih pH. Omogočajo tudi lokalno delovanje učinkovin v želodcu, podaljšajo stik z membrano skozi katero poteka absorpcija iz lumna želodca do mesta infekcije v želodcu in tako povečajo učinkovitost učinkovin. To je še posebej pomembno pri terapiji proti mikroorganizmom, ki kolonizirajo želodčno sluznico, npr. *Helicobacter pylori*. Bakterija živi globoko v mukozni plasti želodca in za zadosten dostop učinkovine do bakterije je potrebno podaljšano, lokalno zadrževanje protimikrobnih učinkovin (1).

Najzanesljivejši način podaljšanja razpoložljivega časa za absorpcijo učinkovine je zadrževanje FO v želodcu oziroma upočasnitev njegovega praznjenja. Glavna funkcija želodca je, da začasno shranjuje hrano, omogoča njeno prebavo z izločanjem prebavnih encimov in jo počasi potiska skozi pilorus v tanko črevo. Zaradi majhne površine želodca je absorpcija v sistemski krvni obtok zanemarljiva. Najpomembnejši mesti za absorpcijo hranil in učinkovin sta jejunum in ileum. V kolonu se absorbira v glavnem samo voda, učinkovin pa zelo malo, razen tistih s ciljanim sproščanjem v kolonu..

Faktorji, ki vplivajo na praznjenje želodca ter s tem na zadrževanje FO v želodcu so :

- biološki faktorji: spol, starost, položaj telesa, spanje, indeks telesne mase, fizična aktivnost in nekatere bolezni (diabetes, Kronova bolezen)
- gostota, velikost in oblika FO
- sočasna aplikacija učinkovin, ki zmanjšujejo motiliteto stene GIT (antiholinergiki (atropin) in opiat)
- prisotnost hrane v želodcu, njena kalorična vrednost in pogostost hranjenja (1, 2).

Kadar želimo, da FO ostane v želodcu dlje časa, je dobro, da jo zaužijemo po obroku in vedno z dovolj tekočine (200 do 250 ml) (3).

Pri oblikovanju GRT sistemov ima pomembno vlogo razumevanje motilitete želodca, pilorusa in tankega črevesa. Gibanje na tešče se razlikuje od gibanja po hranjenju. V praznem želodcu poteka stalna motorična aktivnost v ciklikih, ki trajajo približno od 90 do 120 min. Vsak cikel je sestavljen iz 4 faz (I)MMC (Interdigestive Migrating Myoelectric Complex), ki si sledijo:

-faza 1 (45-60 min): ni želodčnih kontrakcij oz. jih je zelo malo

-faza 2 (30-45 min): kontrakcije, ki naraščajo v frekvenci in intenziteti

-faza 3 (5-15 min): kratka faza močnih kontrakcij in peristaltičnih valov, v tej fazi se iz želodca odstranijo neprebavljene trdne snovi, tudi farmacevtska oblika, če jo zaužijemo v tej fazi, gre skozi želodec

-faza 4 (0-5 min): želodec se umiri

Ob vnosu hrane se ciklična aktivnost prekine in motorična aktivnost želodca je podobna 2. fazi MMC, pojavijo se peristaltična gibanja, hrana se drobi, pilorus je odprt le toliko, da iz želodca lahko prehajajo le majhne količine hrane in delci, ki niso večji od 2 mm. Neprebavljena trdna hrana pa ostane v želodcu dokler spet ne pride do motorične aktivnosti na tešče. V tankem črevesu se vsebina meša, peristaltično gibanje podaljša bolj kalorična in mastna hrana (4).

Študije so pokazale, da se lahko čas zadrževanja FO v želodcu po hranjenju signifikantno poveča, saj je (I)MMC zadržan. Ugotovili so, da najboljša absorpcija učinkovin iz GIT poteka med prebavljanjem hrane, srednja v fazi 2 in 1, najslabša pa v 3 fazi cikla (I)MMC. Za večino učinkovin to pomeni, da se hitreje absorbirajo, če jih bolnik zaužije s hrano (3).

Zelo pomembna dejavnika pri razvoju GRT sistemov sta njihova velikost in gostota. Velikost je še posebej pomembna pri oblikovanju neprebavljivih trdnih eno-odmernih dostavnih oblik. Premer pilorusa pri človeku je  $12 \pm 7$  mm. Pilorus je odprt v stanju na tešče, po vnosu prve hrane pa se zapre in večji trdni delci se s tokom vračajo v sredino želodca. Delci s premerom manjšim od 7 mm se iz želodca učinkovito odstranjujejo. Za doseganje podaljšanega zadrževanja v želodcu je potreben premer delcev, ki je večji od 15 mm (1). Gostota določa položaj dostavnega sistema v želodcu. Sistemi z visoko gostoto potonejo na dno želodca. Sistemi z gostoto nižjo od želodčne vsebine pa plavajo na površini. Obe poziciji lahko preprečita prehod GRT sistema skozi pilorus (1).

Prav tako pa sta pomembna faktorja pri oblikovanju GRT sistemov tudi molekulska masa in lipofilnost učinkovine. Hidrofilne učinkovine zapustijo želodec z vodo, lipofilne pa z lipidi, ki pa želodec prehajajo najpočasneje. Pomembna je tudi ionizacija učinkovine, saj se pH v GIT spreminja. Da se učinkovine lahko absorbirajo morajo biti v neionizirani obliki, ki pa je odvisna od pKa učinkovin in pH v želodcu. Zato naj bi bile učinkovine neionizirane v pH območju med 1 in 6, prav tako pa morajo biti pri pogojih v želodcu stabilne (1).

Zaradi naštetih prednosti, ki so posledica podaljšanega zadrževanja FO v želodcu, so raziskovalci razvili že veliko sistemov, ki to omogočajo, vendar so v glavnem še vedno v fazi laboratorijskih raziskav. Ločimo različne vrste GRT dostavnih oblik s podaljšanim časom zadrževanja v želodcu: sistemi z visoko gostoto, plavajoči sistemi z nizko gostoto, superporozni hidrogeli, mukoadhezivni sistemi, magnetni sistemi, sistemi, ki v želodcu povečajo svoj volumen in sistemi, ki tvorijo različne geometrijske oblike (2, 3, 5, 6, 7).

### 3.1.1 PLAVAJOČI SISTEMI

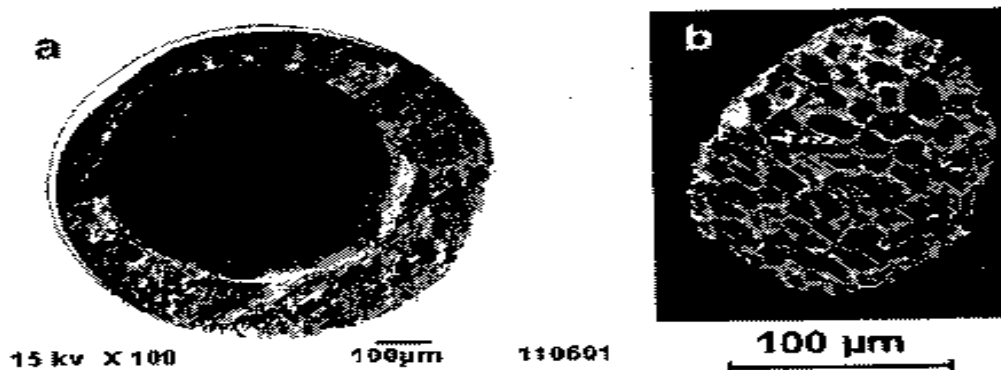
Plavajoči sistemi so sistemi, ki imajo nižjo gostoto kot je gostota želodčne vsebine. Plovnost teh sistemov omogoča podaljšano zadrževanje v želodcu, ne da bi le-ta vplivala na praznjenje želodca. Ti sistemi so močno odvisni od prisotnosti hrane v želodcu. Praznjenje želodca je namreč hitrejše v stanju na tešče, ob prisotnosti hrane pa se upočasni. Prav tako pa hrana v želodcu zagotavlja zadostno količino tekočine za njihovo plovnost (1, 4, 8, 9). Plavajoče sisteme lahko delimo v dve veliki skupini:

- sistemi, ki ne tvorijo plina po interakciji z želodčno tekočino
- sistemi, ki tvorijo plin po interakciji z želodčno tekočino (5)

- **Sistemi, ki ne tvorijo plina po interakciji z želodčno tekočino**

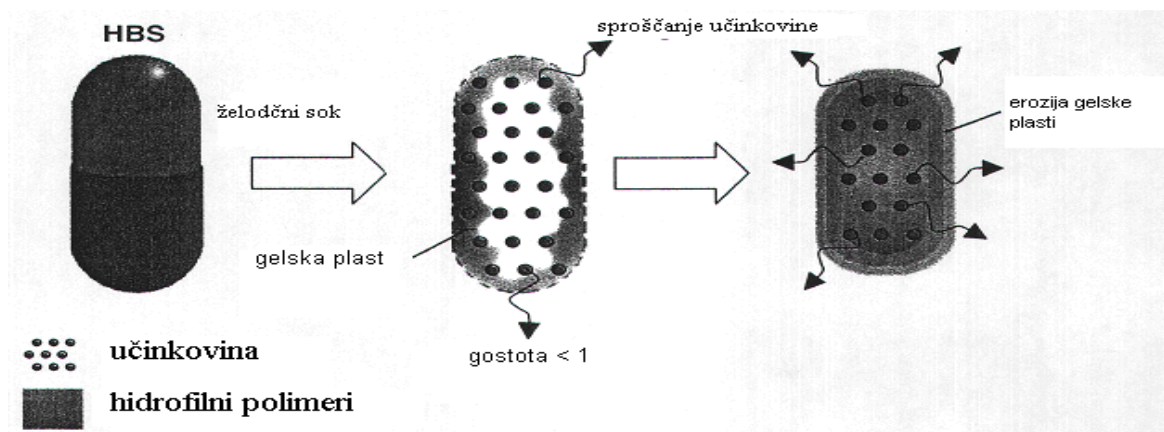
- **Sistemi z nizko gostoto** (slika 1): to so sistemi, ki zagotavljajo plovnost že ob prvem stiku z želodčnimi tekočinami, saj je njihova gostota manjša kot  $1 \text{ g/cm}^3$ . Narejeni so iz materialov z nizko gostoto, kot so razna olja in druge lipofilne sestavine ali praškov, ki tvorijo peno. Nizko gostoto lahko dosežemo tudi tako, da v jedro namesto oljne tekočine ujamemo zrak. Večina teh sistemov je več-enotnih, imenujemo jih tudi mikrobalozi (slika1), ker imajo jedro z nizko gostoto. Plovnost in sproščanje učinkovine sta odvisni od kakovosti polimera, razmerja med mehčali

in polimeri ter topila. Kot polimeri pri izdelavi teh mikrobalonov se najpogosteje uporabljajo polikarbonat, Eudragit S, acetat celuloze, kalcijev alginat, agar in metoksiliran pektin (1, 10, 11).



Slika 1: Mikrobaloni (a) in porozen delec pene (b) (1).

- **Hidrodinamično uravnoteženi sistemi** (hydrodynamically balanced systems-HBS): to so eno-enotne FO, ki vsebujejo enega ali več polimerov, ki v vodi nabrekajo in tvorijo gel in druge pomožne snovi (maščobne komponente). Najpogosteje uporabljamo hidroksipropilmetilcelulozo (HPMC), lahko pa tudi hidroksietilcelulozo (HEC), hidroksipropilcelulozo (HPC), natrijevo sol karboksimetilceluloze (NaCMC), agar, karagenane ali alginsko kislino (1, 5, 11). Polimeri so pomešani z učinkovino in običajno aplicirani v želatinskih kapsulah. Ob stiku z želodčnim sokom kapsula hitro razpade, pride do hidratacije in nabrekanja polimerov. Na površini nastane gelska pregrada z relativno gostoto manj kot 1. Na polimerne verige je adsorbiran zrak, ki se po nastanku gela ujame v rešetko v obliki mehurčkov in zniža gostoto celotnega sistema, kar omogoča plovnost. Suha notranjost teh sistemov deluje kot rezervoar za učinkovino. Sproščanje učinkovine je nadzorovano s koloidno gelsko plastjo, ki nastaja na površini (slika 2) (1).

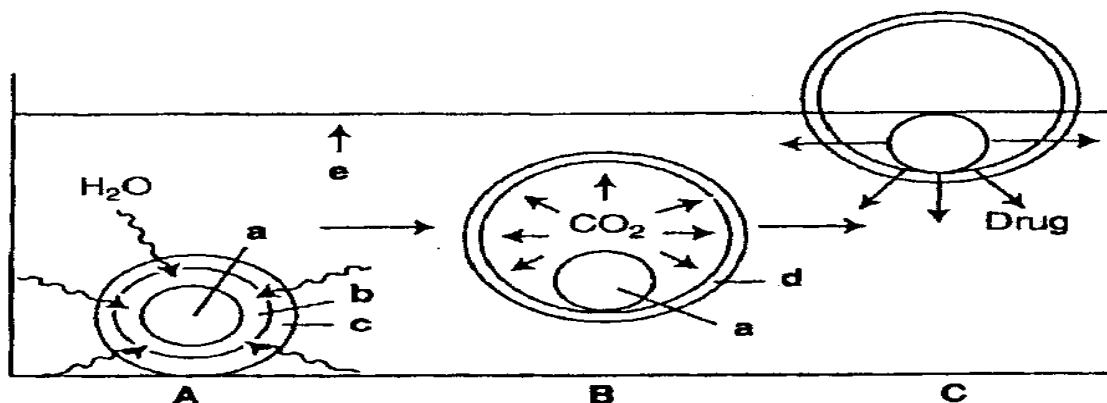


**Slika 2:** Primer hidrodinamsko uravnoteženega sistema. Pri nabrekanju polimera nastaja gelska polimerna plast. Sproščanje učinkovine je nadzorovano z erozijo gelske plasti in difuzijo (1).

- **Sistemi, ki tvorijo plin po interakciji z želodčno tekočino**

- **Plavajoči sistemi, ki tvorijo plin** (slika 3): plavnost sistemov lahko dosežemo tudi s tvorbo mehurčkov plina, ki se ujamejo v gel nabreklega hidrokoloida, kar zniža gostoto celotnega sistema pod  $1 \text{ g/cm}^3$  (5, 9).  $\text{CO}_2$  se tvori *in situ* pri reakciji karbonatov ali bikarbonatov z želodčno kislino ali pa dodano citronsko ali vinsko kislino v FO. Alternativa tem sistemom je ogrodje združeno z ujetu tekočino, ki tvori plin pri telesni temperaturi (1).

Strokovnjaki so razvili različne plavajoče dostavne sisteme. Pri enoplastni plavajoči tableti je efervescentna snov dodana v ogrodje tablete, ki ga tvori hidrofilni polimer. Pri dvoplastnih plavajočih tabletah je ena plast odgovorna za plavanje (efervescentna plast), druga pa za podaljšano sproščanje učinkovine (nabrekajoči hidrofilni polimer) (5, 9, 11). Pri teh sistemih je lahko ločena tudi efervescentna plast. Kisle komponente so ločene od karbonatnih oziroma bikarbonatnih ionov in reakcija poteče šele, ko tekočina prodre do te plasti. Tako se doseže večja stabilnost teh sistemov (11, 12).



**Slika 3:** Proces mehanizma plovnosti pri več-enotnih peroralnih dostavnih sistemih. A: vstop vode v sistem, B: tvorba CO<sub>2</sub> in plavanje, C: raztapljanje zdravilne učinkovine, a: jedro s podaljšanim sproščanjem, b: peneča plast, c: nabrekajoča plast, d: razširjena nabrekajoča membrana (2).

- **Sistemi, ki so podobni splavu (raft forming systems):** pri teh sistemih v kapsule z učinkovino vgradimo mešanico natrijevega ali kalcijevega alginata in karbonate oziroma bikarbonate. Alginati v želodcu nabrekajo in tvorijo viskozno, kohezivno gelsko plast, v katero so ujeti mehurčki CO<sub>2</sub>, zato gelska plast plava na površini želodčne vsebine. Pogosto so vključeni tudi antacidi (aluminijev hidroksid, kalcijev karbonat), ki znižujejo kislost v želodcu in hkrati pripomorejo k premreževanju natrijevega alginata s kalcijevimi ali aluminijevimi ioni. Kapsula, v kateri je mešanica ZU in pomožnih snovi, v želodcu hitro razpade, vsebina kapsule se razprši in ustvari plovno plast na površini celotne želodčne vsebine. Ti sistemi se pogosto uporabljajo za zdravljenje gastroezofagalnega refluksa (1).

### 3.1.2 HITRO NABREKAJOČI SISTEMI

Takšne FO so lahko v obliki tablet ali kapsul, ki v stiku z želodčno tekočino nabrekajo in se toliko povečajo, da ne morejo skozi sfinkter pilorusa, katerega premer v odprtem stanju je  $12 \pm 7$  milimetrov (1, 5). FO mora do svoje največje velikosti nabrekniti že v prvih 20 minutah po zaužitju, da ne zapusti želodca s 3 fazo (I)MMC cikla (3).

### 3.1.3 SISTEMI Z VISOKO GOSTOTO

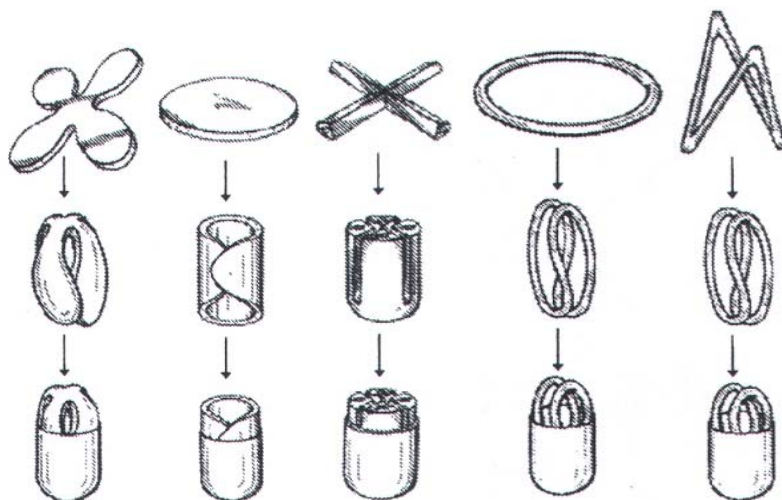
FO z visoko gostoto po prihodu v želodec potonejo na dno antruma, se ujamejo v želodčne gube in zoperstavijo peristaltičnim valovom želodčne stene. Gostota teh sistemov za bistveno podaljšanje časa zadrževanja v želodcu mora biti okoli  $2,5 \text{ g/cm}^3$ . V ta namen se v FO vgrajujejo težke, ne-reaktivne snovi kot so barijev sulfat, cinkov oksid, železov prah in titanov dioksid (1).

### 3.1.4 SUPERPOROZNI HIDROGELI

To so hidrogeli, ki ob prisotnosti vode zelo hitro nabrekajo in dosežejo svojo končno velikost v manj kot 1 minuti. V tem času se njihova velikost poveča več kot 100-krat (1, 7, 12). Običajni hidrogeli imajo velikost por med 10 nm in 10  $\mu\text{m}$ , absorpcija vode je počasna in lahko traja celo več ur, da dosežejo končno velikost. Velikost por pri superporoznih hidrogelih je večja od 100  $\mu\text{m}$ , pore so tudi po sušenju povezane in tvorijo kapilarne kanale. Zaradi zadostne mehanske trdnosti lahko superporozni hidrogeli v želodcu ostanejo tudi več ur, saj se zoperstavijo želodčnim kontrakcijam. To velja za stanje po hranjenju in tudi na tešče. Večina poskusov na psih je pokazala, da bi lahko ti sistemi predstavljali nov način za doseganje podaljšane zadrževanja v želodcu. Na ljudeh teh poskusov še niso izvedli. Po daljšem času naj bi ti superporozni hidrogeli v želodcu razpadli (1, 7).

### 3.1.5 SISTEMI RAZLIČNIH GEOMETRIJSKIH OBLIK

Pripravili so več sistemov različnih geometrijskih oblik: list deteljice, križ, paličico, okroglo ploščico, togi obroček, tetraeder, črko Y, pelete in jih napolnili v želatinske kapsule (slika 4) (1, 3).



Slika 4: Različne geometrijske oblike sistemov za podaljšano zadrževanje v želodcu (1).

Sistem, ki je stisnjen v kapsuli, se v želodcu razvije na ustrezno velikost, tako se podaljša čas zadrževanja v želodcu. Sistemi so narejeni iz biorazgradljivih polimerov, ki se v želodcu razgradijo in se po sproščanju ZU enostavno odstranijo iz želodca. V *in vivo* preizkusih na psih so ugotovili, da se v želodcu dovolj dolgo zadržijo le odprti tetraedri in togi obročki, a tega pri ljudeh niso mogli potrditi. Razvili pa so stisnjen sistem, ki se v želodcu razvije v obliko raztegnjenih rok, kar bi naj preprečevalo izhod iz želodca (3). Problem teh sistemov je, da v raztegnjenem stanju niso dovolj rigidni in jih peristaltični valovi izplavijo iz želodca ali pa se ne razprejo (1).

### **3.1.6 MUKOADHEZIVNI ALI BIOADHEZIVNI SISTEMI**

Osnova teh sistemov je sposobnost adhezije polimera na glikoproteine mukusa želodčne sluznice, kar pa omogoča lokalizirano dostavo učinkovine v lumen želodca (1). V večini primerov *in vivo* testov so ugotovili, da mukoadhezivni polimeri signifikantno ne upočasnijo prehoda FO skozi prebavni trakt. Razlog je najverjetneje stalno obnavljanje želodčne sluznice in nespecifičnost interakcij med polimeri in snovmi iz okolja. Polimeri se lahko vežejo tudi na druge snovi (hrana, želodčna sluz, ki prosto plava v želodcu) in zmanjšajo svojo sposobnost vzpostavitve interakcij z mukusom. Problematično pa je lahko tudi draženje zaradi tesnega stika s sluznico, zlasti če je učinkovina ulcerogena. Kljub temu pa strokovnjaki proučujejo različne bioadhezivne materiale, ki bi jih lahko uporabili za zdravljenje infekcij s *Helicobacter pylori* (3).

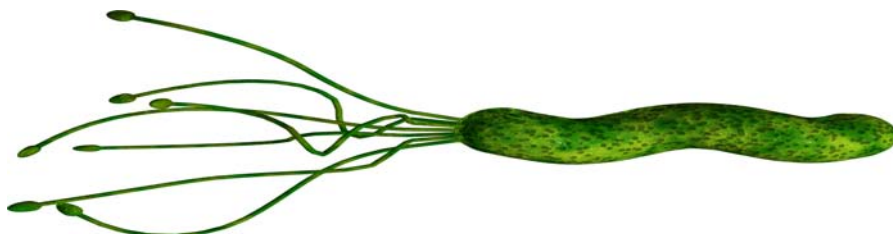
### **3.1.7 MAGNETNI SISTEMI**

Sistemi so oblikovani tako, da ima FO vgrajen majhen magnet, magnet pa je nameščen tudi na zunanji strani trebuha in tako drži sistem v želodcu. Učinkovitost teh sistemov so že preizkusili na ljudeh. Problem pri teh sistemih predstavlja natančna postavitev zunanjega magneta in omejitve pri sprejemljivosti sistema pri pacientih (1).



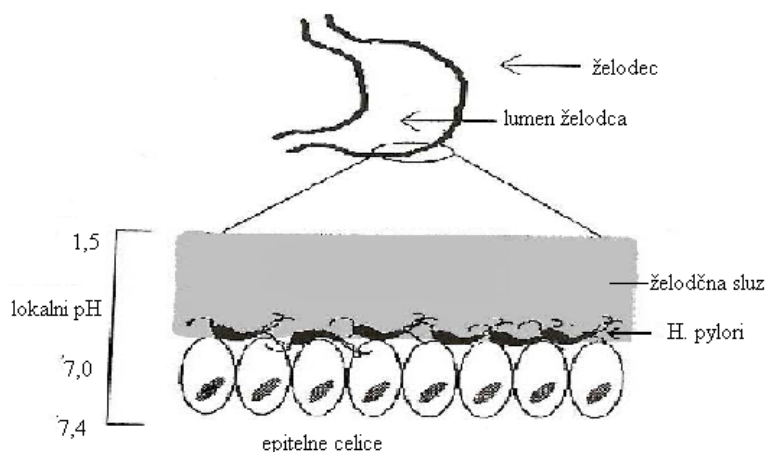
### 3.2 HELICOBACTER PYLORI

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) je 3 do 5  $\mu\text{m}$  dolga, po Gramu negativna, zapognjena ali spiralno zvita mikroaerofilna, neinvazivna bakterija. Giblje se lahko svedrasto s pomočjo 4 do 6 bičkov (slika 5) (13, 14, 15, 16).



Slika 5: *Helicobacter pylori* (17)

*H. pylori* kolonizira želodčno sluznico (slika 6) in sluznico dvanajstnika. Proizvaja številne beljakovine, ki povzročajo okvaro sluznice zgornjih prebavil in adhezivne snovi, ki omogočajo pritrnitev na epitelijske celice sluznice. Bakterije so prilagojene na kislo okolje, saj izločajo encim ureazo, ki razgrajuje sečnino prisotno v želodčnem soku na amonijak in bikarbonat. Ureaza tako z zvišanjem pH zagotavlja ugodne pogoje za preživetje bakterije (13, 14, 15).



Slika 6: Shematični prikaz lokacije *H. pylori* v želodcu (14).

Infekcija s *H. pylori* je ena izmed najpogostejših patogenih bakterijskih infekcij. Bakterija kolonizira želodčno sluznico pri polovici svetovnega prebivalstva. Nekaterim ljudem okužba s *H. pylori* ne povzroča težav, pri drugih pa je povezana z razvojem resnih obolenj želodca in dvanajstnika. Poleg dispepsije, gastritisa, razjede želodca in

dvanajstnika lahko pride tudi do razvoja raka in limforetikularnega tkiva v sluznici želodca (MALT: mucosa-associated lymphoid tissue) (13, 14, 15, 18).

Kolonizacija želodčne sluznice s *H. pylori* poveča izločanje gastrina in HCl in vedno povzroči gastritis. Ta se lahko razvije v kronični gastritis, ki se kaže kot disfunkcija bariere sluznice želodca. Poveča se prepustnost membrane za molekule z majhno in veliko molekulsko maso. *H. pylori* lahko povzroči tudi zmanjšano sintezo mucina, saj inhibira UDP-galaktoziltransferazo. Zmanjša se delež zaščitne plasti, ki jo tvori mucin, kar vodi v poškodbe sluznice. Infekcije *H. pylori* inducirajo apoptozo epitelijskih celic. Lahko pride tudi do razvoja raka na dvanajstniku. Zaradi infekcij, ki jih povzroča *H. pylori* in zmanjšane debeline zaščitne bariere mukusa, se zmanjša sposobnost za vzdrževanje nevtralnega pH ob epitelijskih celicah v prisotnosti želodčne kisline, zato pride do korozivnega učinka na celice (1).

### 3.2.1 Zdravljenje okužb s *H. pylori*

Terapija z enim antibiotikom pri zatiranju infekcij, ki jih povzroča *H. pylori*, ni učinkovita, saj le majhna koncentracija učinkovine doseže bakterijo, ki se nahaja globoko v sluznici želodca. Prav tako so te učinkovine nestabilne pri nizkem pH in se v želodcu zadržujejo le kratek čas. Potrebna je kombinacija večih antibiotikov in učinkovin, ki zmanjšujejo sekrecijo HCl (inhibitorji protonske črpalke ali selektivni antagonisti histaminskih-2 receptorjev), vendar pa tudi to ni vedno popolnoma učinkovito. Problem pri zdravljenju je tudi rezistenca *H. pylori* na veliko antibiotikov, sprejemljivost bolnikov in neželeni učinki zdravil (13). Kot antibiotiki se največkrat uporabljajo metronidazol, klaritromicin in AMX. Poleg teh so v uporabi še nitroimidazoli, fluorokinoloni, rifampicini, nitrofurani in bizmutove soli (19).

Za zdravljenje okužb s *H. pylori* so uvedli stalne režime zdravljenja (preglednica I). Prvi režim je 7-14 dnevna trojna terapija s kombinacijo inhibitorjev protonske črpalke in dveh antibiotikov (klaritromicin in AMX ali metronidazol). Ta terapija je uspešna pri 80-90 % vseh okužb. Če se okužba spet pojavi, sledi sekundarna terapija s štirimi učinkovinami: inhibitorji protonske črpalke, bizmutovim subcitratom, metronidazolom in tetraciklinom (15, 19, 20).

**Preglednica I:** Trenutne smernice za zdravljenje okužb s *H. pylori* (15, 19, 20, 34).

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

\* terapija odobrena s strani FDA

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

Vse te terapije so zelo zapletene, saj je potrebno jemati veliko število zdravil v različnih časovnih intervalih. To zmanjša sodelovanje bolnikov in zaradi tega je terapija manj uspešna. Za izboljšanje sprejemljivosti bolnikov skušajo v eno tableto vgraditi več različnih učinkovin (14). V zadnjem času potekajo predvsem raziskave, ki so namenjene daljšemu zadrževanju FO in s tem učinkovine v želodcu. Tako se izboljša učinek antibiotika, omogoči manj pogosto aplikacijo zdravil in izboljša sodelovanje bolnikov (1, 5, 11, 12, 13, 14, 16).

Veliko sevov *H. Pylori* je že razvilo rezistenco na nekatere antibiotike, kar je problem predvsem pri pogosto uporabljenima klaritromicinu in metronidazolu. Za zdaj je rezistenca na tretji uporabljen antibiotik AMX še razmeroma nizka (do 30 %) (19).

### 3.2.2 Plavajoče farmacevtske oblike s podaljšanim časom zadrževanja v želodcu, ki delujejo proti *Helicobacter pylori*

GRT sistemi se v terapiji *H. pylori* izdelujejo z namenom povečanja učinkovitosti učinkovin. Bakterija živi globoko v sluznici želodca, med sluzjo in epitelijem, zato je potrebno lokalno delovanje učinkovin. Dosežemo ga s podaljšanim zadrževanjem učinkovin v želodcu, saj na tak način podaljšamo tudi sproščanje učinkovin.

Nekaj primerov dostavnih sistemov, ki so v razvojni fazi:

~ Raft-forming sistem s triklosanom: sistem je bil izdelan z granuliranjem zmesi učinkovine, alginske kisline, Na-bikarbonata in Ca-karbonata, ki ji je bila dodana citronska

kislina in stiskanjem v tableto. Ob stiku želodčne kisline in soli karbonata oz. bikarbonata je prišlo do penjenja in ujetja zraka zato je sistem splaval. V *in vivo* študijah so ugotovili, da je pH želodca zaradi infekcije *H. pylori* pri nekaterih pacientih lahko povišan (pH do 6) in zato je sposobnost penjenja zmanjšana, posledično pa tudi plovnost sistema. Da so se temu izognili, so citronsko kislino dodali kar v zmes, nato granulirali in stisnili tablete (1).

~ plavajoč sistem, ki tvori plin, sestavljen iz troplastnih tablet: ena plast je nabrekala in tvorila plin (polietilen oksid, HPMC, Na-bikarbonat/Ca-karbonat), drugi plasti se je povečal volumen, vsebovala pa je tudi učinkovine ( tetraciklin hidroklorid, metronidazol), tretja plast pa se je hitro raztapljala (bizmutove soli). V *in vitro* študijah (0,1 M raztopina HCl, 37°C) so ugotovili podaljšano sproščanje učinkovin 6-7 ur. Sistem je splaval po 17 min in je plaval do nekje 28 min. Podatkov o *in vivo* študijah ni (1).

~ polikarbonatni mikrobalozi, ki so bili pripravljene s tehniko odparevanja topila iz emulzije tipa o/v in so vsebovali antiureazne učinkovine (acetohidroksamska kislina). *H. pylori* izloča ureazo, ki hidrolizira ureo prisotno v želodčnem soku, do amoniaka in bikarbonata in si s tem zagotovi ugodne razmere za preživetje. Inhibitorji ureaze bakteriji preprečujejo, da bi se zaščitila pred nizkim pH. Tako se izognemo rezistenci *H. pylori* na antibiotike. V *in vivo* študijah so živalim aplicirali mikrobaloze z antiureazami, sočasno pa drugi skupini še raztopino antiureaz. Ugotovljeno je bilo, da je aktivnost proti *H. pylori* pri mikrobalozih 10 krat večja kot pri raztopini učinkovine (1).

~ kombinacija bioadhezivnega in plavajočega sistema: s tvorbo CO<sub>2</sub> so dosegli plovnost in z uporabo holestiramina bioadhezivni učinek. Ionsko izmenjevalne smole so napolnili z bikarbonatom in acetohidroksamsko kislino ter obložili z acetatom celuloze. V *in vivo* študijah na živalih je bilo ugotovljeno, da je sistem izkazoval plovne in bioadhezivne lastnosti. Zato bi lahko bil še bolj učinkovit pri zdravljenju infekcij *H. pylori* (1).

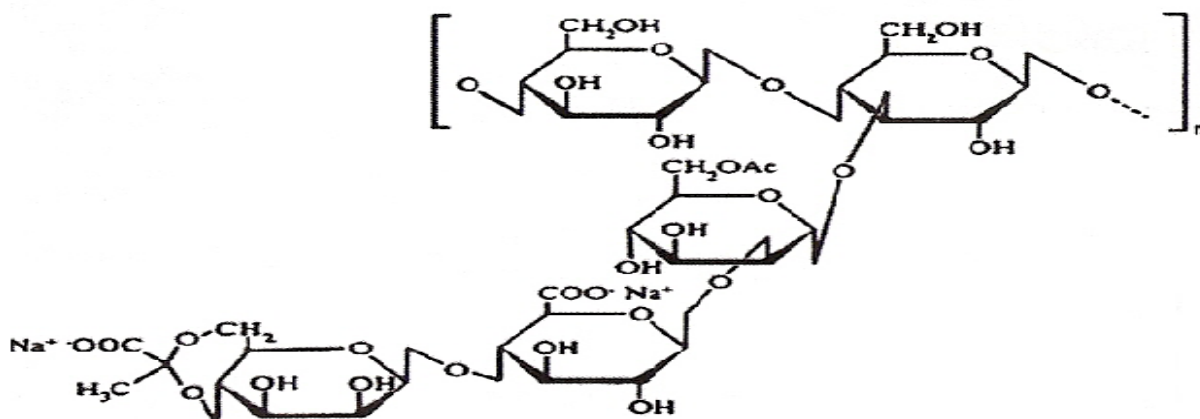
~ plavajoči sistem z AMX, ki je *in situ* tvoril gel iz alginata: dobre plavajoče lastnosti so dosegli z uporabo Ca-karbonata. Ob stiku s kislim medijem se je Ca-karbonat začel peniti, sproščati CO<sub>2</sub> in kalcijeve ione. Geliranje plavajočega sistema in prečno premreževanje s kalcijevimi ioni je povzročilo nastanek gelske bariere na površini sistema. Sproščeni CO<sub>2</sub> se je ujel v gelsko bariero in omogočil plovnost. *In vivo* študije so bile izvedene na

mongoliskih gerbilih, ki so bili okuženi s *H. pylori*, izoliranim iz pacienta z želodčnim ulkusom. Živali so bile razdeljene v 3 skupine. Ena skupina je 3 dni zaporedoma peroralno dobivala plavajoči sistem z AMX, ki tvori gel, druga skupina je dobivala raztopino AMX in tretja, kontrolna skupina, je dobivala placebo plavajoči sistem, ki *in situ* tvori gel. Ugotovili so, da je bila oblika z AMX, ki *in situ* tvori gel, enako učinkovita kot raztopina AMX, pri bistveno nižjih koncentracijah. Pri odmerku 10 in 40 mg/kg je bila bakterija učinkovito odstranjena iz želodca gerbilov. Podaljšano zadrževanje sistema v želodcu je omogočilo visoko koncentracijo AMX, ki je dosegla bakterijo v sluznici želodca. Učinek terapije so preverili s kultiviranjem bakterije in PCR. Potrdili so, da je odmerek AMX v plavajočem sistemu, ki je potreben za popolno odstranitev bakterije iz želodca, 10 krat manjši kot pri raztopini AMX (13).

### 3.3 KSANTAN (Xanthan gum)

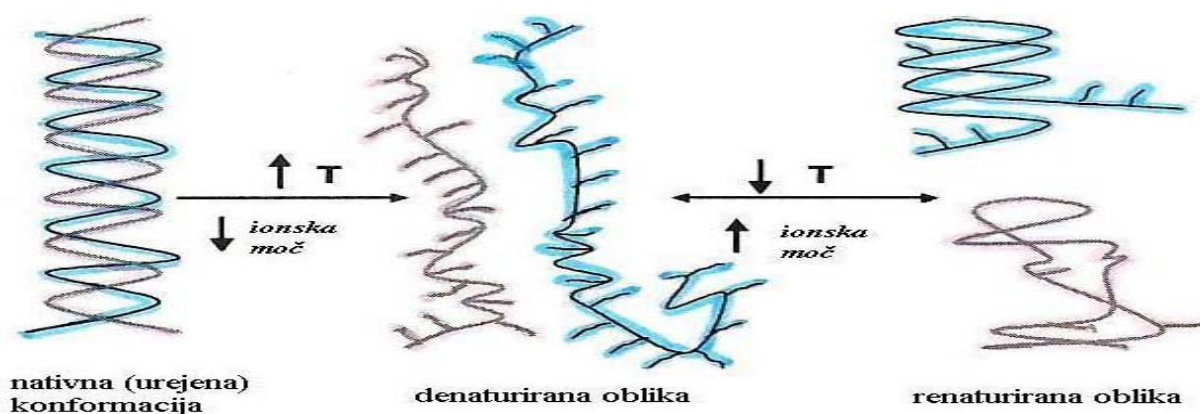
Ksantan je naravni mikrobní eksopolisaharid, ki ga pridobivajo v bioreaktorjih z aerobno fermentacijo z bakterijo *Xanthomonas campestris*. Ksantan bakterijo obda v obliki kapsule in ji omogoča preživetje v težkih pogojih. Ščiti jo pred visoko temperaturo, sončno svetlobo, bakteriofagi in izsušitvijo (21, 22).

Molekulska masa ksantana je približno  $2 \times 10^6$  g/mol. Je heteropolisaharid, katerega osnovni skelet tvorijo  $\beta$ -D-glukozne enote, povezane z  $\beta$ -1-4 vezmi. Stranska veriga, ki je pripeta na C3 mesto vsake druge glukoze, je trisaharid sestavljen iz  $\alpha$ -D-manoze,  $\beta$ -D-glukuronske kisline in terminalne  $\beta$ -D-manoze. Na terminalno manozo je lahko na mestu 4 in 6 pripet piruvat. Manoza, pripeta na osnovno verigo, je lahko na mestu 6 acetilirana (slika 7). Količina acetiliranih manoz in manoz s piruvatnim ostankom je odvisna od pogojev fermentiranja in seva bakterije. Glukuronska in piruvična kislina dajeta ksantanu anionski značaj (21, 22, 23, 24, 25, 26, 27).



Slika 7: Primarna struktura ksantana (27).

V vodnih raztopinah tvori ksantan več različnih konformacij, vendar dokončne potrditve katere so te konformacije, še ni. Predpostavljajo da se pri nizki temperaturi in visoki ionski moči ( $\mu \geq 0,1 \text{ M}$ ) nahaja v nativni (urejeni) konformaciji (slika 8). Gre za dvojno desnosučno vijačnico, ki je stabilizirana z nekovalentnimi vezmi. Z višanjem temperature in nižanjem ionske moči ksantan ireverzibilno prehaja v denaturirano (neurejeno) konformacijo, kjer dvojna vijačnica razpade na enojni verigi. Ob ohlajanju in višanju ionske moči poteče tvorba rigidne vijačnice, ki jo tvori ena sama molekula ksantana. Ta struktura je v primerjavi z nativno konformacijo bistveno manj popolna, saj ostane veliko zavojev ali delov verig, ki prosto segajo iz osnovne strukture. Taki obliki pravimo renaturirana konformacija (22, 23, 26, 28).

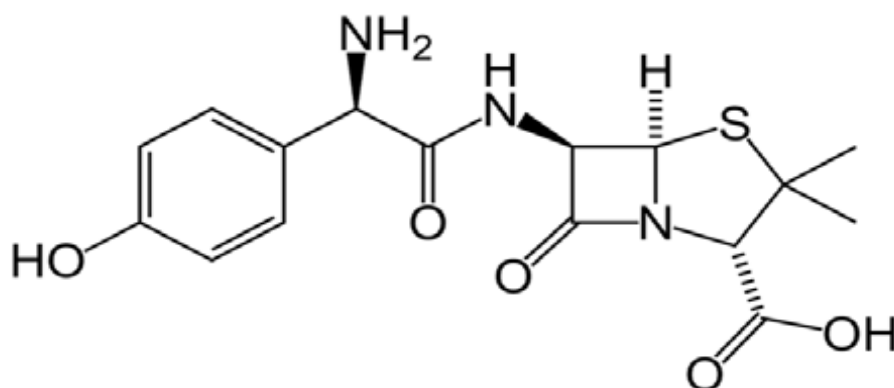


Slika 8: Nativna konformacija ksantana. Vpliv temperature in ionske moči na strukturne spremembe ksantana v raztopini (22).

Ksantan je zelo dobro topen v vodi pri vseh temperaturah. V vodnih sistemih je kemijsko stabilen v širokem temperaturnem intervalu (10-90°C) in pH območju 3-12. Pri višjih pH vrednostih pride do delne deacetilacije stranskih verig. V bolj kislem mediju je ksantan v kislinski neionizirani obliki, saj so stranske verige protonirane. Prisotnost soli in encimov ne zmanjša njegove stabilnosti. S kationskimi površinsko aktivnimi snovmi, polimeri in konzervansi praviloma ni združljiv, saj je anionski polimer (29).

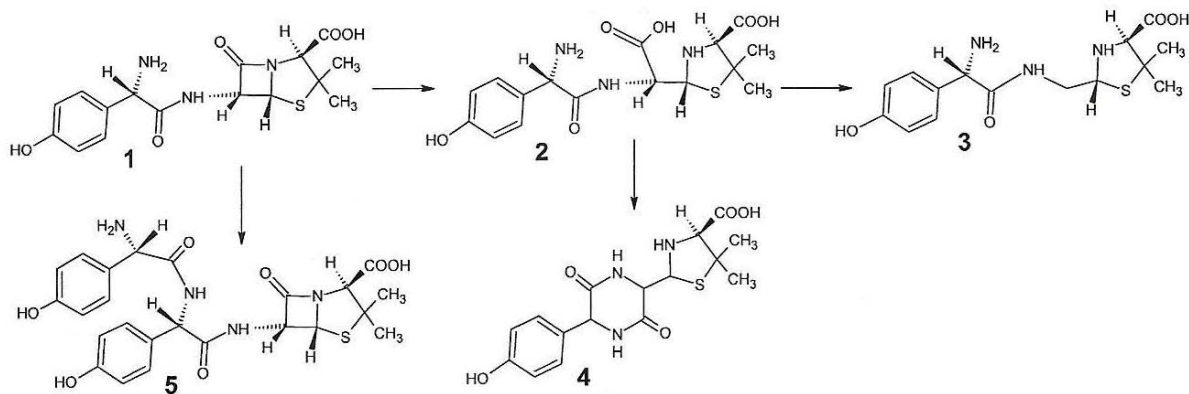
### 3.4 AMOKSICILIN

Amoksicilin (AMX) je širokospektralni, polsintezni  $\beta$ -laktamski antibiotik, ki spada v skupino penicilinov (13). Je bel oziroma skoraj bel kristalinični prašek, ki je v vodi in etanolu slabo topen. Njegova topnost v vodi je 4,0 g/l in se spreminja s pH, saj je AMX amfoterna spojina (30). Nestabilen je v razredčenih kislinah in razredčenih raztopinah alkalijskih hidroksidov (31). Razgradnja v kislem je prikazan na sliki 10.



Slika 9: Strukturna formula amoksicilina (33).

Kemijsko je AMX 6-[2-(p-hidroksifenil)acetamido]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabicyklo-[3.2.0]-heptan-2-karboksilna kislina (slika 9) (30, 31). Njegova empirična formula je  $C_{16}H_{19}N_3O_5S$  in molekulska masa 365,41 g/mol. Molekulska masa AMX trihidrata je 419,45 g/mol (32).



**Slika 10:** Hidroliza AMX v kislem. Razgradnja se začne z odpiranjem 4-členskega  $\beta$ -laktamskega obroča, kot produkt nastane amoksicilin penicilojska kislina (spojina 2), ki se nato razgradi po dveh poteh. Z dekarboksilacijo nastane amoksicilin penilojska kislina (spojina 3) ali pa se iz amoksicilin penicilojske kisline tvori stabilen 6-členski obroč, ki vodi do nastanka diketopiperazin amoksicilina (spojina 4). V kislem lahko pride tudi do intermolekularne reakcije dveh molekul AMX, produkt reakcije je 4-hidroksifenilglicil amoksicilin (spojina 5) (36).

AMX so sintetizirali tako, da so na 6-aminopenicilinsko kislino (6-APA) vezali stransko verigo (hidroksifenilglicil). S tem so dosegli, da je učinkovina bolj stabilna v želodčnem soku in ji tudi razširili spekter delovanja. AMX je dosti bolj odporen na inaktivacijo z želodčno kislino kot nekateri drugi penicilini (ampicilin, benzilpenicilini), zato ga lahko damo tudi peroralno (34). Izvedli so poskuse, s katerimi so dokazali, da je AMX obstojen v pH območju med 2 in 8. Ugotovili so, da pri pH 2 razpade 50 % AMX po 19 urah, v umetnem želodčnem soku (dodatek pepsina) pa po 15 urah. Pri višjem pH poteka razgradnja še počasneje. Prav tako znanstveniki trdijo, da je stabilnost AMX v želodcu zadostna za vzdrževanje antibakterijske koncentracije (35). AMX je aktiven proti Gram-pozitivnim in tudi Gram-negativnim mikroorganizmom. Učinkovitost terapije z  $\beta$ -laktami je odvisna od časa, ko so koncentracije v krvi večje od minimalne inhibitorne koncentracije (MIC). AMX deluje baktericidno. Veže se na bakterijske beljakovine in zavira nastanek sten bakterijskih celic (37, 38, 39).



## 4 NAMEN DELA

V diplomski nalogi bomo izdelali dve seriji plavajočih tablet na osnovi ksantana z laktozo. V eno serijo bomo kot učinkovino vgradili amoksisicilin trihidrat, v drugo pa pentoksifilin. Izdelali bomo tudi dve seriji plavajočih tablet na osnovi ksantana z  $\text{NaHCO}_3$  in prav tako v eno serijo vgradili amoksisicilin trihidrat, v drugo pa pentoksifilin. Izdelali bomo farmacevtsko obliko, ki bi bila primerna za zdravljenje okužb z bakterijo *Helicobacter pylori* v želodcu.

Izdelanim plavajočim tabletam bomo ovrednotili enakomernost mase in trdnost tablet po Ph. Eur. 6<sup>th</sup> Ed. Preskuse sproščanja učinkovine in hitrost splavanja tablet bomo izvajali na napravi za analizo sproščanja 2 po USP v medijih z različnim pH in ionsko močjo. Delež sproščenega amoksisicilina bomo analizirali s HPLC, delež sproščenega pentoksifilina pa spektrofotometrično.

Najprej bomo spremljali sproščanje vodotopnega pentoksifilina iz tablet z laktozo. Nato bomo spremljali še sproščanje iz tablet z  $\text{NaHCO}_3$  in ugotavljali vpliv slednjega na ogrodje iz ksantana in posledično na sproščanje učinkovine. Nato bomo proučevali še sproščanje amoksisicilina iz tablet z laktozo in iz tablet z  $\text{NaHCO}_3$ . Rezultate sproščanja za amoksisicilin bomo primerjali z rezultati sproščanja pentoksifilina. Na osnovi opravljenega dela bomo poskušali ovrednotiti vpliv sestave ogrodja na sproščanje vodotopnih učinkovin.

## 5 EKSPERIMENTALNO DELO

### 5.1 MATERIALI IN NAPRAVE

#### 5.1.1 Snovi za izdelavo tablet

- pentoksifilin (MM=278,3 g/mol), Krka, Novo mesto, Slovenija
- amoksicilin trihidrat (MM=419,4 g/mol), Lek, Ljubljana, Slovenija
- ksantan (xanthan gum), Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Nemčija
- natrijev hidrogenkarbonat, Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- laktoza, Lek, Ljubljana, Slovenija
- mikrokristalna celuloza (MCC), Lek, Ljubljana, Slovenija
- magnezijev stearat, Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija

#### 5.1.2 Reagenti za pripravo medijev za preskus raztapljanja in mobilne faze za HPLC analizo

- kalijev dihidrogenfosfat, Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- kalijev hidroksid, Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- acetonitril (Acetonitrile gradient grade for liquid chromatography), Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- fosforna kislina (85%), Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- klorovodikova kislina, Titrisol za pripravo 1 M HCl, Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- natrijev klorid, Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija

#### 5.1.3 Naprave

- spektrofotometer, HP 8453 UV-Visible spectroscopy system, Hewlett Packard, Nemčija
- sistem za tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC), črpalka K-1001, Knauer, Berlin, Nemčija; UV detektor, K-2501 Knauer, Berlin, Nemčija; avtomatski injektor Midas Spark, Nizozemska; kolona, Phenomenex, Luna C18 (2) 100 A, 250×4,60 mm, 5 µm delci; programska oprema Barspec Data System, Version No. 1.26, Barspec Systems, Izrael

- hidravlična tabletirka, SP 300, Kilian & Co., KG, Staufen, Nemčija
- naprava za merjenje trdnosti tablet, Vanderkamp, VK 200 Tablet hardness tester, Varian, ZDA
- sistem za preskušanje raztapljanja z vesli (USP 2), VK 7000, VanKel, New Jersey, ZDA; avtomatski vzorčevalnik, VK 8000, VanKel, New Jersey, ZDA
- celulozni acetatni filtri, velikost por 0,45  $\mu\text{m}$ , Sartorius Stedium Biotech GmbH, Nemčija
- filtri full Flow, velikost por 10  $\mu\text{m}$ , Varian, ZDA
- ultrazvočna kadička, Sonis 4, Iskra, Kranj, Slovenija
- magnetno mešalo, RCT basic, IKA, Nemčija
- magnetno mešalo Tehnika Rotamix 560 MH, Slovenija
- pH meter, MA 234, Mettler Toledo, pH/Ion Analyzer, Schwerzenbach, Švica
- precizna tehtnica, Mettler Toledo AG 245, Schwerzenbach, Švica

## 5.2 PRIPRAVA VZORCEV

### 5.2.1 Priprava medijev za preskuse raztapljanja

#### - Izdelava medija pH 3,0 (medij 1)

Natehtali smo 5,444 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,04 mola) in ga kvantitativno prenesli v litrsko bučo. Dodali smo približno 900 ml prečiščene vode in bučo pretresli, da se je raztopil ves  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Tako pripravljene raztopine smo z 1M  $\text{H}_3\text{PO}_4$  uravnali pH na  $3,0 \pm 0,05$ . Po uravnavi pH smo bučo dopolnili s prečiščeno vodo do oznake in vsebino dobro premešali. Pripravljen medij je imel ionsko moč  $\mu=0,04$  M.

#### - Izdelava medija pH 3,0 (medij 2)

Litrsko bučo smo približno do polovice napolnili s prečiščeno vodo. S pipeto smo odpipetirali 1ml 1M HCl (0,001 mola) in jo prelili v bučo. Vsebino smo dopolnili do oznake s prečiščeno vodo, dobro pretresli in izmerili pH medija. Pripravljen medij je imel pH  $3,0 \pm 0,05$  in ionsko moč  $\mu=0,001$  M.

**- Izdelava medija pH 3,0 z dodatkom NaCl (medij 3)**

Litrsko bučo smo približno do polovice napolnili s prečiščeno vodo. S pipeto smo odpipetirali 1ml 1M HCl (0,001 mola) in jo prelili v bučo, dodali 11,69 g NaCl (0,2 mola), vsebino dopolnili s prečiščeno vodo ter močno pretresli, da se je raztopil ves NaCl in izmerili pH. Pripravljen medij je imel pH  $3,0 \pm 0,05$  in ionsko moč  $\mu = 0,2$  M.

**- Izdelava medija pH 1,2 (medij 4)**

Litrsko bučo smo približno do polovice napolnili s prečiščeno vodo. Z merilnim valjem smo odmerili 80ml 1M HCl (0,08 mola) in jo prelili v bučo. Vsebino smo dopolnili s prečiščeno vodo in z 0,1M raztopino HCl uravnali pH na  $1,2 \pm 0,05$ . Pripravljen medij je imel ionsko moč  $\mu = 0,08$  M.

**- Izdelava medija pH 1,2 z dodatkom NaCl (medij 5)**

Litrsko bučo smo približno do polovice napolnili s prečiščeno vodo. Z merilnim valjem smo odmerili 80ml 1M HCl (0,08 mola) jo prelili v bučo in dodali 11,69 g NaCl (0,2 mola). Vsebino smo dopolnili s prečiščeno vodo do volumna približno 900 ml in močno pretresli. Tako pripravljeni raztopini smo z 0,1M raztopino HCl uravnali pH na  $1,2 \pm 0,05$ . Po uravnavi pH smo bučo dopolnili s prečiščeno vodo do oznake in vsebino dobro pretresli. Pripravljen medij je imel ionsko moč  $\mu = 0,28$  M.

**- Izdelava medija pH 3,0 z dodatkom NaCl (medij 6)**

Natehtali smo 5,444 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,04 mola) in 11,69 g NaCl (0,2 mola) in ju kvantitativno prenesli v litrsko bučo. Dodali smo približno 900 ml prečiščene vode in bučo pretresli, da se je raztopil ves  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in NaCl. Tako pripravljeni raztopini smo z 1M  $\text{H}_3\text{PO}_4$  uravnali pH na  $3,0 \pm 0,05$ . Po uravnavi pH smo bučo dopolnili s prečiščeno vodo do oznake in vsebino dobro premešali. Pripravljen medij je imel ionsko moč  $\mu = 0,24$  M.

**Preglednica II:** Oznaka, sestava, pH in ionska moč medijev, ki smo jih uporabili pri preskusih, preračunano za volumen 1 L. Medijem 1, 4, 5 in 6 smo pH uravnali z dodatkom kisline.

oznaka medija	sestava medija	pH medija	ionska moč (M)
medij 1 (M1)	prečiščena voda + 5,444 g $\text{KH}_2\text{PO}_4$	3,0	0,04
medij 2 (M2)	prečiščena voda + 1 ml 1M HCl	3,0	0,001
medij 3 (M3)	prečiščena voda + 1 ml 1M HCl + 11,69 g NaCl	3,0	0,2
medij 4 (M4)	prečiščena voda + 80 ml 1M HCl	1,2	0,08
medij 5 (M5)	prečiščena voda + 80 ml 1M HCl + 11,69 g NaCl	1,2	0,28
medij 6 (M6)	prečiščena voda + 5,444 g $\text{KH}_2\text{PO}_4$ + 11,69 g NaCl	3,0	0,24

### 5.2.2 Izdelava tablet

Z metodo direktnega tabletiranja smo izdelali dve seriji tablet z učinkovino pentoksifilin in dve seriji tablet z učinkovino amoksicilin trihidrat. Vsaka tableta je vsebovala 100 mg pentoksifilina (PF) oziroma 100 mg amoksicilina (AMX). Kot polimerni nosilni sistem smo uporabili ksantan (XAN), dodali smo tudi druge pomožne snovi : natrijev hidrogenkarbonat, mikrokristalno celulozo (MCC), magnezijev stearat in laktozo. Sestava izdelanih serij tablet je prikazana v preglednici III.

**Preglednica III:** Sestava 500 mg tablet. V tabeli je navedena masa za amoksicilin trihidrat, ki ustreza masi 100 mg amoksicilina (aktivna komponenta). Vse vrednosti so v miligramih (mg).

Serija	AMX $\times$ 3H <sub>2</sub> O	PENTOKSIFILIN	KSANTAN	NaHCO <sub>3</sub>	MCC	Mg-STEARAT	LAKTOZA
1	/	100,0	187,2	/	103,8	5,2	103,8
2	114,8	/	180,2	/	100,0	5,0	100,0
3	/	100,0	187,2	103,8	103,8	5,2	/
34*	114,8	/	180,2	100,0	100,0	5,0	/

\*oznaka: serija 34 je iz prejšnje diplomske naloge (40)

Vsakokrat smo pripravili 15 g tabletne mase, kar je zadoščalo za izdelavo 30 tablet. Zmes prahov smo homogenizirali z mešanjem v pateni. Ročno smo raztehtali po 500 mg (od 497 mg do 508 mg) tabletne mase in tablete stisnili na hidravlični tabletirki Kilian SP 300. Vedno smo uporabljali okrogel pečat s premerom 12 mm in ravno površino. Do

zelene trdnosti tablet smo prišli s spreminjanjem položaja pečatov. Z višanjem ali nižanjem položaja zgornjega pečata smo spreminjali razdaljo med pečatoma in tako izdelali tablete z ustrežno trdnostjo.

Izdelanim serijam tablet smo določili trdnost in enakomernost mase ter spremljali sproščanje zdravilne učinkovine.

## **5.3 METODE**

### **5.3.1 DOLOČANJE FARMACEVTSKO – TEHNOLOŠKIH PARAMETROV TABLET**

#### **5.3.1.1 Enakomernost mase**

Preskus enakomernosti mase smo izvajali po predpisu, navedenem v Ph. Eur. 6th Ed, v poglavju 2.9.5. Stehtali smo 20 tablet in izračunali povprečno maso. Pri tabletah težjih od 250 mg lahko največ dve tableti po masi odstopata od povprečja za več kot 5 % , nobena tableta pa ne sme po masi odstopati od povprečja za več kot 10 %. Kot rezultat smo podali povprečno maso, najmanjšo in največjo maso tablet ter standardno deviacijo.

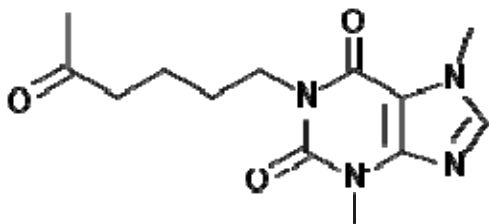
#### **5.3.1.2 Trdnost tablet**

Preskus smo izvedli po predpisu navedenem v Ph. Eur. 6th Ed, v poglavju 2.9.8. Trdnost tablet smo določili na napravi za merjenje trdnosti. Tableto smo položili med mirujoči in gibljivi del naprave. Merili smo najmanjšo silo, izraženo v Newton-ih (N), pri kateri je tableta počila ali se poškodovala. Zaradi omejenega števila tablet smo trdnost določili na manjšem številu tablet kot ga predpisuje farmakopeja. Kot rezultat smo podali povprečno vrednost trdnosti, najmanjšo in največjo trdnost ter standardno deviacijo.

### **5.3.2 IZDELAVA UMERITVENIH PREMICE ZA PENTOKSIFILIN**

Količino sproščenega PF smo določali v šestih različnih medijih, zato smo pripravili umeritvene premice za vsak medij posebej. Za posamezni medij smo pripravili dve osnovni raztopini PF s približno enako koncentracijo 0,10 mg/ml ( $3,59 \times 10^{-4}$ M). Natančno

smo natehtali 10 mg PF ( $3,59 \times 10^{-5}$  mola) in natehte kvantitativno prenesli v 100 ml bučko ter dopolnili do oznake z ustreznim medijem. Iz vsake osnovne raztopine smo z ustreznim redčenjem pripravili nove raztopine s koncentracijami od približno 0,02000 mg/ml ( $7,19 \times 10^{-5}$ M) do 0,00500 mg/ml ( $1,8 \times 10^{-5}$ M). Tem raztopinam smo s pomočjo spektrofotometra in računalniškega programa (UV-Visible ChemStation Software 8453 HP) izmerili absorbanco pri valovni dolžini 274 nm in izračunali umeritveno premico ter kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije ( $R^2$ ).



Slika 11: Strukturna formula pentoksifilina (33).

### 5.3.3 IZDELAVA UMERITVENIH PREMICE ZA AMOKSICILIN

Količino sproščenega AMX smo določali v šestih različnih medijih, zato smo pripravili umeritvene premice za vsak medij posebej. Za posamezni medij smo pripravili dve osnovni raztopini AMX s približno enako koncentracijo 0,20 mg/ml. Natančno smo natehtali 23-24 mg amoksicilin trihidrata ( $5,6 \times 10^{-5}$  mola), kar ustreza 20-21 mg AMX. Natehte smo kvantitativno prenesli v 100 ml bučko ter dopolnili do oznake z ustreznim medijem. Bučko smo za nekaj minut postavili v ultrazvočno kadičko, da se je ves AMX raztopil. Iz vsake osnovne raztopine smo z ustreznim redčenjem pripravili nove raztopine s koncentracijami od približno 0,0020mg/ml ( $5,47 \times 10^{-6}$ M) do 0,20 mg/ml ( $5,47 \times 10^{-4}$ M). Tem raztopinam smo s HPLC metodo (metoda je opisana pod 5.3.6) določili površino pod krivuljo (PPK). S pomočjo linearne regresije smo izračunali umeritveno premico ter kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije ( $R^2$ ). Pripravljene raztopine smo za 24 h shranili pri sobni temperaturi in jim nato s HPLC ponovno določili PPK ter izračunali novo umeritveno premico. Ugotovili smo, da se zaradi nestabilnosti AMX v določenih medijih umeritvena premica po 24 urah spremeni.

### 5.3.4 PRESKUS RAZTAPLJANJA IN DOLOČANJE HITROSTI SPLAVANJA TABLET

Preskuse raztapljanja smo izvajali na napravi 2 po USP. Gre za napravo z veslastim mešalom (Paddle Apparatus) (slika 12). Sproščanje smo izvajali 24 ur pri konstantni temperaturi 37°C in konstantni hitrosti vrtenja mešal (rpm=50). Volumen medija za sproščanje je bil vedno 800 ml kar je zadostovalo za vzdrževanje sink pogojev. Hitrost splavanja smo določili tako, da smo opazovali, kdaj so se tablete pojavile na površini medija (čas splavanja). Z avtomatskim vzorčevalnikom smo v naprej določenih časovnih intervalih odvezemali 5 ml vzorce skozi 10 µm filtre. Časovni odvzemi so bili sledeči: 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16 in 24 ur. Odvzetega medija nismo nadomeščali, saj je bila topnost učinkovin kljub odvzetemu mediju ustrezna.. Med preskusom je prišlo tudi do izhlapevanja medija, kar smo upoštevali pri izračunih.



Slika 12: Naprava za sproščanje 2 po USP.

### 5.3.5 UV SPEKTROSKOPSKA ANALIZA SPROŠČENEGA PENTOKSIFILINA

S pomočjo spektrofotometra smo pri 274 nm izmerili absorbanco in nato iz umeritvene premice izračunali koncentracijo oziroma maso sproščene PF ob odvzemu n-tega vzorca (enačba 2). Pri izračunu smo upoštevali zmanjšanje volumna medija zaradi izhlapevanja in odvzeme vzorcev (enačba 1).



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

1/

$V_n$  - dejanski volumen medija po vzorčenju

$V_0$  - začetni volumen medija (800 ml)

$n$  - število vzorcev

$V_{vz}$  - volumen odvzetega vzorca (5 ml)

$t_n$  - čas ob odvzemu  $n$ -tega vzorca

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

Z upoštevanjem dejanskega volumna medija po vzorčenju ter koncentracije sproščene učinkovine smo izračunali maso sproščenega PF. Tej masi smo prišteli še maso PF, ki smo ga odvzeli s posameznimi odvzemi vzorcev (enačba 2).

$$m_{nPF} = C_{nPF} \times V_n + \sum C_{nPF} \times V_{vz} \quad / \text{enačba}$$

2/

$m_{nPF}$  - masa raztopljenega PF v mediju ob  $n$ -tem vzorcu

$C_{nPF}$  - koncentracija PF v mediju ob  $n$ -tem vzorcu

Iz dejanske mase raztopljenega PF in teoretične mase PF v tableti smo izračunali delež sproščenega PF (enačba 3).

$$X_{nPF} = (m_{nPF} / m_{0PF}) \times 100 \quad / \text{enačba}$$

3/

$X_{nPF}$  - delež sproščenega PF on  $n$ -tem jemanju vzorca

$m_{0PF}$  - teoretična masa PF v tableti (100mg)

### 5.3.6 HPLC ANALIZA SPROŠČENEGA AMOKSICILINA

Koncentracijo sproščenega AMX smo določali s HPLC analizo. Iz PPK smo s pomočjo umeritvene premice izračunali koncentracije sproščene učinkovine v vsaki časovni točki. Iz podatkov v literaturi (40) smo povzeli naslednje parametre HPLC analize in podatke za izračun deleža sproščenega AMX:

- mobilna faza je bila sestavljena iz raztopine A in acetonitrila za HPLC v volumskem razmerju 96 : 4. Raztopina A je bil fosfatni pufer s pH 5,0. Pripravili

smo ga tako, da smo 6,8001 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  raztopili v 1000 ml visoko prečiščene vode in raztopini uravnali pH na  $5,0 \pm 0,1$  s 45 % (w/w) raztopino kalijevega hidroksida. Raztopini A smo nato dodali ustrezno količino acetonitrila za HPLC. To raztopino smo dobro premešali in odzračili v ultrazvočni kadički.

- UV detekcija je potekala pri valovni dolžini 230 nm
- hitrost pretoka mobilne faze 1,5 ml/min
- volumen injiciranega vzorca 20  $\mu\text{l}$
- uporabili smo kolono z dolžino 25 cm in notranjim premerom 4,6 mm ter velikostjo delcev 5  $\mu\text{m}$  (kolona, Phenomenex, Luna C18 (2) 100 A, 250 $\times$ 4,60 mm, 5  $\mu\text{m}$ )
- pri izračunu koncentracije sproščene učinkovine smo upoštevali zmanjšanje volumna medija zaradi izhlapevanja in odvzeme vzorcev (enačba 4)

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

4/

$V_n$  - dejanski volumen medija po vzorčenju

$V_0$  - začetni volumen medija (800 ml)

$n$  - število vzorcev

$V_{vz}$  - volumen odvzetega vzorca (5 ml)

$t_n$  - čas ob odvzemu n-tega vzorca

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

Iz umeritvene premice smo izračunali koncentracije sproščenega AMX ob določenem času. Z upoštevanjem dejanskega volumna medija po vzorčenju ter koncentracije sproščene učinkovine smo izračunali maso sproščenega AMX. Tej masi smo prišteli še maso AMX, ki smo ga odvzeli s posameznimi odvzemi vzorcev (enačba 5). Iz dejanske mase raztopljenega AMX in teoretične mase AMX v tableti smo izračunali delež sproščenega AMX (enačba 6).

$$m_n = C_n \times V_n + \sum C_n \times V_{vz} \quad \text{/enačba}$$

5/

$m_n$  - masa raztopljenega AMX v mediju ob n-tem vzorcu

$C_n$  - koncentracija AMX v mediju ob n-tem vzorcu

$$X_n = (m_n/m_0) \times 100$$

/enačba

6/

$X_n$  - delež sproščene AMX ob n-tem jemanju vzorca

$m_0$  - teoretična masa AMX v tableti (100mg)

## 6 REZULTATI

### 6.1 FARMACEVTSKO-TEHNOLOŠKO VREDNOTENJE OGRODNIH TABLET

Ustreznost izdelanih tablet smo preverjali z nekaterimi farmakopejskimi zahtevami. Določili smo enakomernost mase in trdnost tablet.

#### 6.1.1 Enakomernost mase

Preskus enakomernosti mase za vse izdelane serije tablet smo izvedli po Ph. Eur. 6<sup>th</sup> Ed. in rezultate predstavili v preglednici IV. Teoretična masa tablet je bila 500 mg.

**Preglednica IV:** Enakomernost mas za posamezno serijo tablet (n=20). Podana je najmanjša, največja in povprečna masa tablet ter vrednost standardne deviacije (SD) in relativne standardne deviacije (RSD). Natančna sestava tablet je podana v preglednici III.

Serijska	Najmanjša masa (mg)	Največja masa (mg)	Povprečna masa (mg)	SD (mg)	RSD (%)
1	499	504	501,0	1,49	0,30
2	500	505	501,8	1,93	0,38
3	500	504	502,0	1,67	0,33
34	498	504	501,6	1,95	0,39

Vse serije tablet ustrezajo preskusu enakomernosti mase, saj nobena tableta po masi od povprečja ne odstopa za več, kot je predpisano.

#### 6.1.2 Trdnost tablet

Preskus trdnosti smo določili vsem serijam tablet po Ph. Eur. 6<sup>th</sup> Ed. in rezultate predstavili v preglednici V. Naš cilj je bil izdelati tablete s trdnostjo okrog 50 N, kar nam je uspelo, tudi standardne deviacije so bile ustrezne.

**Preglednica V:** Trdnost za posamezno serijo tablet (n=10). Tableto smo položili med mirujoči in gibljivi del naprave v vodoravni položaj. Podana je najmanjša, največja in povprečna trdnost tablet ter vrednost standardne deviacije (SD) in relativne standardne deviacije (RSD). Natančna sestava tablet je podana v preglednici III.

Serijska	Najmanjša trdnost (N)	Največja trdnost (N)	Povprečna trdnost (N)	SD (N)	RSD (%)
1	50,1	57,9	53,59	2,32	4,32
2	48,0	57,9	51,53	2,82	5,47
3	49,0	59,1	53,30	3,04	5,70
34	44,1	49,8	46,05	2,15	4,67

## 6.2 ENAČBE UMERITVENIH PREMICE ZA PENTOKSIFILIN

**Preglednica VI:** Absorbance (A) za znane koncentracije PF v medijih 1 in 6.  $C_0$  je koncentracija osnovne raztopine (mg/ml). Natančna sestava medijev 1 in 6 je podana v preglednici II.

Redčenje	MEDIJ 1				MEDIJ 6			
	1. paralelka		2. paralelka		1. paralelka		2. paralelka	
	C(mg/ml)	A	C(mg/ml)	A	C(mg/ml)	A	C(mg/ml)	A
1/20	0,0050	0,1770	0,0051	0,1797	0,0050	0,1741	0,0050	0,1677
2/25	0,0081	0,2777	0,0081	0,2938	0,0080	0,2807	0,0080	0,2888
1/10	0,0101	0,3477	0,0101	0,3785	0,0100	0,3539	0,0100	0,3390
3/20	0,0152	0,5282	0,0152	0,5630	0,0150	0,5217	0,0151	0,5108
5/25	0,0203	0,7039	0,0203	0,7349	0,0201	0,7056	0,0201	0,6953
5/20	0,0253	0,8887	0,0253	0,8991	0,0251	0,8833	0,0251	0,8486
$C_0$	0,1013		0,1014		0,1003		0,1004	

**Preglednica VII:** Absorbance (A) za znane koncentracije PF v medijih 2 in 3.  $C_0$  je koncentracija osnovne raztopine (mg/ml). Natančna sestava medijev 2 in 3 je podana v preglednici II.

Redčenje	MEDIJ 2				MEDIJ 3			
	1. paralelka		2. paralelka		1. paralelka		2. paralelka	
	C(mg/ml)	A	C(mg/ml)	A	C(mg/ml)	A	C(mg/ml)	A
1/20	0,0051	0,1862	0,0052	0,1846	0,0052	0,1846	0,0052	0,1854
2/25	0,0082	0,2992	0,0083	0,2981	0,0084	0,2969	0,0083	0,2985
1/10	0,0103	0,3709	0,0104	0,3708	0,0104	0,3728	0,0104	0,3722
3/20	0,0154	0,5571	0,0157	0,5564	0,0157	0,5588	0,0157	0,5589

5/25	0,0206	0,7314	0,0209	0,7445	0,0209	0,7461	0,0209	0,7442
5/20	0,0257	0,9135	0,0261	0,9288	0,0261	0,9198	0,0261	0,9285
C <sub>0</sub>	0,1030		0,1044		0,1045		0,1044	

**Preglednica VIII:** Absorbance (A) za znane koncentracije PF v medijih 4 in 5. C<sub>0</sub> je koncentracija osnovne raztopine (mg/ml). Natančna sestava medijev 4 in 5 je podana v preglednici II.

Redčenje	MEDIJ 4				MEDIJ 5			
	1.paralelka		2.paralelka		1.paralelka		2.paralelka	
	C(mg/ml)	A	C(mg/ml)	A	C(mg/ml)	A	C(mg/ml)	A
1/20	0,0051	0,1735	0,0052	0,1803	0,0051	0,1765	0,0050	0,1752
2/25	0,0081	0,2797	0,0083	0,2881	0,0082	0,2845	0,0080	0,2788
1/10	0,0102	0,3500	0,0103	0,3594	0,0102	0,3546	0,0100	0,3458
3/20	0,0153	0,5245	0,0155	0,5370	0,0153	0,5324	0,0150	0,5177
5/25	0,0204	0,7011	0,0206	0,7143	0,0205	0,7140	0,0201	0,6871
5/20	0,0255	0,8715	0,0258	0,8877	0,0256	0,8877	0,0251	0,8505
C <sub>0</sub>	0,1019		0,1032		0,1023		0,1005	

**Preglednica IX:** Enačba umeritvenih premic za PF v različnih medijih.

	Enačba umeritvene premice
medij 1	$C = k_1 \times A$ $k_1 = 2,8178 \times 10^{-2} \text{ mg/ml}; R^2 = 0,9995$
medij 2	$C = k_1 \times A$ $k_1 = 2,8068 \times 10^{-2} \text{ mg/ml}; R^2 = 0,9999$
medij 3	$C = k_1 \times A$ $k_1 = 2,8134 \times 10^{-2} \text{ mg/ml}; R^2 = 0,9999$
medij 4	$C = k_1 \times A$ $k_1 = 2,9043 \times 10^{-2} \text{ mg/ml}; R^2 = 0,9999$
medij 5	$C = k_1 \times A$ $k_1 = 2,9032 \times 10^{-2} \text{ mg/ml}; R^2 = 0,9999$
medij 6	$C = k_1 \times A$ $k_1 = 2,8872 \times 10^{-2} \text{ mg/ml}; R^2 = 0,9997$

### 6.3 ENAČBE UMERITVENIH PREMICE ZA AMOKSICILIN

**Preglednica X:** Površine pod krivuljo (PPK) za znane koncentracije AMX v medijih 1 in 6. C<sub>0</sub> je koncentracija osnovne raztopine (mg/ml). Natančna sestava medijev je podana v preglednici II.

	MEDIJ 1				MEDIJ 6			
	1.paralelka		2.paralelka		1.paralelka		2.paralelka	
	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK
1/20	0,0020	3527	0,0020	3126	0,0021	3471	0,0020	3444
2/25	0,0040	6866	0,0040	7324	0,0044	7408	0,0041	6050

1/10	0,0101	18233	0,0101	17477	0,0103	18754	0,0102	18645
3/20	0,0202	34315	0,0202	34636	0,0206	37140	0,0204	36171
5/25	0,0504	83748	0,0504	86942	0,0514	90709	0,0510	89082
5/20	0,1009	171516	0,1008	172532	0,1028	179598	0,1019	175002
C <sub>0</sub>	0,2018	338399	0,2017	337808	0,2056	352684	0,2039	348223

**Preglednica XI:** Površine pod krivuljo (PPK) za znane koncentracije AMX v medijih 1 in 6 po 24 urah. C<sub>0</sub> je koncentracija osnovne raztopine (mg/ml). Natančna sestava medijev je podana v preglednici II.

	MEDIJ 1 po 24 urah				MEDIJ 6 po 24 urah			
	1.paralelka		2.paralelka		1.paralelka		2.paralelka	
	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK
1/20	0,0020	3159	0,0020	2862	0,0021	3014	0,0020	2990
2/25	0,0040	6294	0,0040	6751	0,0044	6524	0,0041	5247
1/10	0,0101	16580	0,0101	15832	0,0103	16364	0,0102	16253
3/20	0,0202	42853	0,0202	42864	0,0206	32459	0,0204	31699
5/25	0,0504	76709	0,0504	79985	0,0514	79662	0,0510	78049
5/20	0,1009	157924	0,1008	159257	0,1028	158070	0,1019	154055
C <sub>0</sub>	0,2018	309514	0,2017	309803	0,2056	311211	0,2039	306304

**Preglednica XII:** Površine pod krivuljo (PPK) za znane koncentracije AMX v medijih 2 in 3. C<sub>0</sub> je koncentracija osnovne raztopine (mg/ml). Natančna sestava medijev je podana v preglednici II.

	MEDIJ 2				MEDIJ 3			
	1.paralelka		2.paralelka		1.paralelka		2.paralelka	
	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK
1/20	0,0020	3516	0,0021	3594	0,0021	3689	0,0021	3705
2/25	0,0040	7239	0,0041	6993	0,0042	7585	0,0042	7567
1/10	0,0101	17943	0,0103	18730	0,0104	18118	0,0104	17712
3/20	0,0201	35713	0,0206	36516	0,0208	37230	0,0208	37475
5/25	0,0503	88512	0,0514	90675	0,0520	91165	0,0521	92151
5/20	0,1006	175261	0,1028	178211	0,1040	182468	0,1041	181107
C <sub>0</sub>	0,2012	340483	0,2056	347605	0,2080	358888	0,2083	357914

**Preglednica XIII:** Površine pod krivuljo (PPK) za znane koncentracije AMX v medijih 2 in 3 po 24 urah. C<sub>0</sub> je koncentracija osnovne raztopine (mg/ml). Natančna sestava medijev je podana v preglednici II.

	MEDIJ 2 po 24 urah				MEDIJ 3 po 24 urah			
	1.paralelka		2.paralelka		1.paralelka		2.paralelka	
	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK
1/20	0,0020	3201	0,0021	3219	0,0021	3351	0,0021	3370
2/25	0,0040	6500	0,0041	6342	0,0041	6897	0,0042	6888
1/10	0,0101	16366	0,0103	16766	0,0104	16378	0,0104	16216
3/20	0,0201	32107	0,0206	32903	0,0208	33917	0,0208	34037
5/25	0,0503	80062	0,0514	82237	0,0520	83427	0,0521	83930

5/20	0,1006	159297	0,1028	162167	0,1040	167084	0,1041	166156
C <sub>0</sub>	0,2012	310773	0,2056	316998	0,2080	329813	0,2083	329085

**Preglednica XIV:** Površine pod krivuljo (PPK) za znane koncentracije AMX v medijih 4 in 5. C<sub>0</sub> je koncentracija osnovne raztopine (mg/ml). Natančna sestava medijev je podana v preglednici II.

	MEDIJ 4				MEDIJ 5			
	1.paralelka		2.paralelka		1.paralelka		2.paralelka	
	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK
1/20	0,0020	3345	0,0020	3258	0,0021	3261	0,0020	2971
2/25	0,0040	6592	0,0041	6497	0,0041	6630	0,0041	5668
1/10	0,0101	16454	0,0101	15971	0,0103	16157	0,0101	15099
3/20	0,0202	31802	0,0203	31852	0,0206	31806	0,0203	30218
5/25	0,0505	77113	0,0508	76095	0,0516	76473	0,0507	72766
5/20	0,1010	148239	0,1015	146366	0,1032	146733	0,1015	139783
C <sub>0</sub>	0,2020	286668	0,2030	282414	0,2065	282146	0,2030	270641

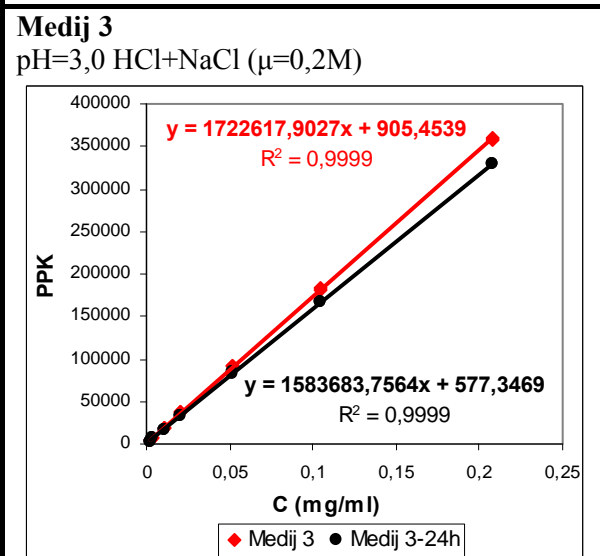
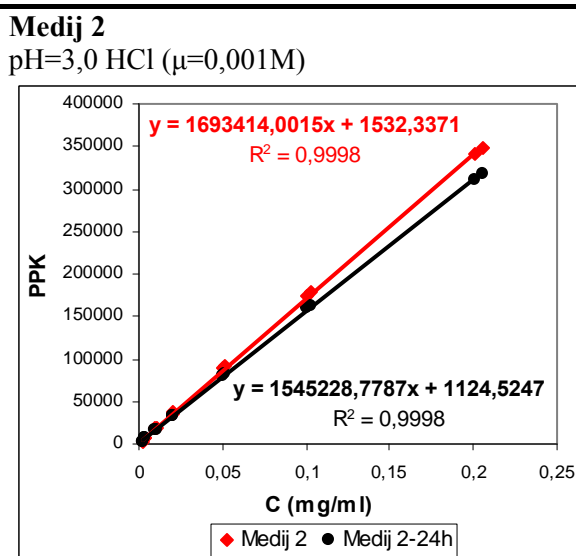
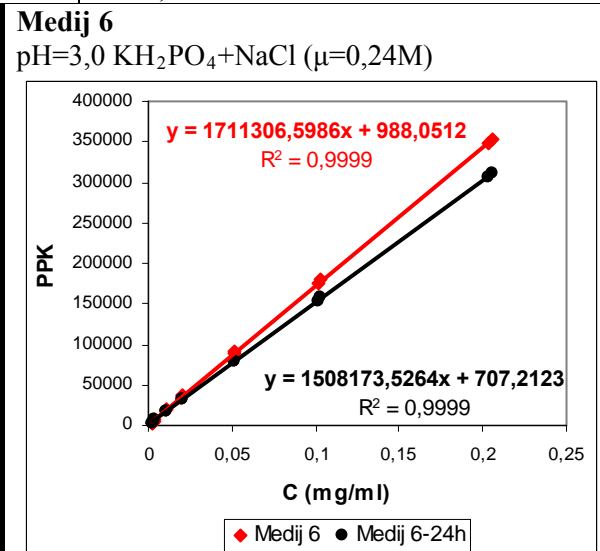
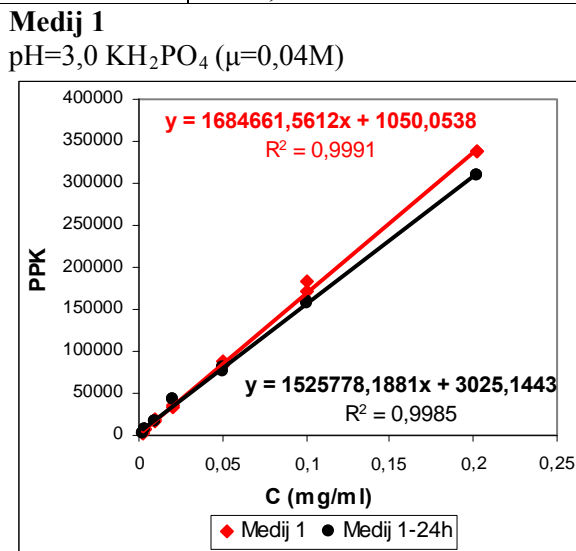
**Preglednica XV:** Površine pod krivuljo (PPK) za znane koncentracije AMX v medijih 4 in 5 po 24 urah. C<sub>0</sub> je koncentracija osnovne raztopine (mg/ml). Natančna sestava medijev je podana v preglednici II.

	MEDIJ 4 po 24 urah				MEDIJ 5 po 24 urah			
	1.paralelka		2.paralelka		1.paralelka		2.paralelka	
	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK	C(mg/ml)	PPK
1/20	0,0020	536	0,0020	477	0,0021	507	0,0020	462
2/25	0,0040	990	0,0041	978	0,0041	988	0,0041	918
1/10	0,0101	2518	0,0101	2463	0,0103	2632	0,0101	2482
3/20	0,0202	4884	0,0203	4872	0,0206	5239	0,0203	5049
5/25	0,0505	12072	0,0508	11849	0,0516	12739	0,0507	12358
5/20	0,1010	23374	0,1015	23112	0,1032	24878	0,1015	23868
C <sub>0</sub>	0,2020	46186	0,2030	45407	0,2065	48493	0,2030	46686

**Preglednica XVI:** Enačba umeritvenih premic za AMX v različnih medijih.

	Enačba umeritvene premice	Enačba umeritvene premice po 24 urah
medij 1	$PPK = 1684661,56 \times C + 1050,05$ $C = (PPK - 1050,05) / 1684661,56;$ $R^2 = 0,9991$	$PPK = 1525778,17 \times C + 3025,14$ $C = (PPK - 3025,14) / 1525778,17$ $R^2 = 0,9985$
medij 2	$PPK = 1693414,01 \times C + 1532,34$ $C = (PPK - 1532,34) / 1693414,01$ $R^2 = 0,9998$	$PPK = 1545228,78 \times C + 1124,52$ $C = (PPK - 1124,52) / 1545228,78$ $R^2 = 0,9998$
medij 3	$PPK = 1722617,90 \times C + 905,45$ $C = (PPK - 905,45) / 1722617,90$ $R^2 = 0,9999$	$PPK = 1583683,76 \times C + 577,35$ $C = (PPK - 577,35) / 1583683,76$ $R^2 = 0,9999$
medij 4	$PPK = 1402715,26 \times C + 2581,94$ $C = (PPK - 2581,94) / 1402715,26$ $R^2 = 0,9994$	$PPK = 225760,55 \times C + 231,08$ $C = (PPK - 231,08) / 225760,55$ $R^2 = 0,9997$

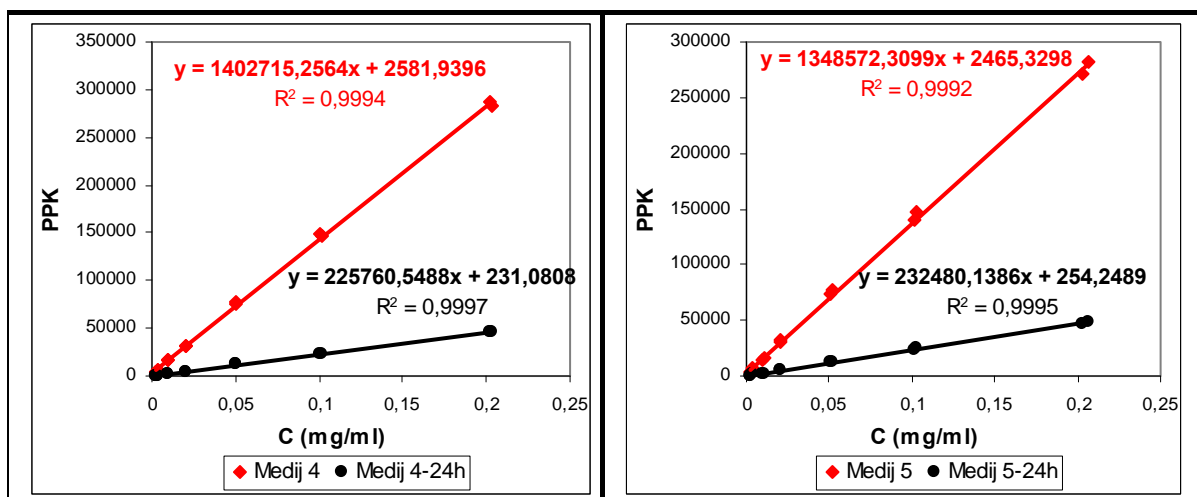
medij 5	$PPK = 1348572,31 \times C + 2465,33$ $C = (PPK - 2465,33) / 1348572,31$ $R^2 = 0,9992$	$PPK = 232480,14 \times C + 254,2489$ $C = (PPK - 254,2489) / 232480,14$ $R^2 = 0,9992$
medij 6	$PPK = 1711306,60 \times C + 988,05$ $C = (PPK - 988,05) / 1711306,60$ $R^2 = 0,9999$	$PPK = 1508173,53 \times C + 707,21$ $C = (PPK - 707,21) / 1508173,53$ $R^2 = 0,9999$



**Medij 4**  
pH=1,2 HCl (μ=0,08M)

**Medij 5**  
pH=1,2 HCl+NaCl (μ=0,24M)





**Slika 13:** Umeritvene premice sveže pripravljenih raztopin AMX v različnih medijih. Prikazane so tudi umeritvene premice AMX po 24 urah.

## 6.4 REZULTATI SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IN AMOKSICILINA TER ČASA SPLAVANJA TABLET

**Preglednica XVII:** Delež sproščenega pentoksifilina in amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju s pH 3,0  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (M1). Natančna sestava serij je podana v preglednici III.

M1	SERIJA 1		SERIJA 2		SERIJA 3		SERIJA 34	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	9,29	1,70	2,04	0,19	9,10	0,33	5,44	0,09
1	13,53	0,65	3,90	0,43	15,59	0,61	8,82	0,30
2	22,35	2,04	7,46	0,76	27,65	1,50	14,30	0,29
4	35,63	2,13	14,57	2,58	41,10	1,37	23,68	1,37
6	45,46	3,51	19,06	1,95	50,32	3,18	32,45	1,62
8	53,54	2,33	30,40	2,75	59,15	2,79	41,60	4,86
12	67,45	1,90	43,45	3,38	83,20	3,70	53,37	4,90
16	76,59	2,02	49,04	4,88	88,22	1,37	63,32	8,28
24	93,15	1,47	58,08	6,31	93,29	0,39	64,85	1,73

**Preglednica XVIII:** Hitrost splavanja tablet v mediju 1.

M1	Serija 1		Serija 2		Serija 3		Serija 34	
	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)
					87,4	4,09	13,3	1,74
	Lebdijo na dnu posode,		Lebdijo na dnu posode,		Plavajo vseh 24 ur poskusa.		Plavajo vseh 24 ur poskusa.	

	splavajo na površino medija.	splavajo na površino medija.		
--	------------------------------	------------------------------	--	--

**Preglednica XIX:** Delež sproščene pentoksifilina in amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju s pH 3,0 HCl (M2). Natančna sestava serij je podana v preglednici III.

M2	SERIJA 1		SERIJA 2		SERIJA 3		SERIJA 34	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	5,74	0,95	0,46	0,03	9,67	1,16	7,26	0,09
1	9,48	0,19	1,35	0,10	15,99	0,88	14,36	0,31
2	15,28	0,59	3,54	0,20	25,66	0,92	24,32	1,34
4	25,82	0,54	7,95	0,36	40,59	0,65	41,08	3,50
6	34,38	0,59	11,98	0,36	54,30	3,19	55,32	5,97
8	41,12	0,51	18,42	3,91	60,56	2,72	65,55	3,61
12	54,91	0,39	27,45	0,74	71,84	2,76	48,81	2,68
16	65,39	0,75	35,72	0,85	89,08	0,17	43,48	6,01
24	83,94	1,70	53,42	0,55	94,85	1,98	38,85	2,86

**Preglednica XX:** Hitrost splavanja tablet v mediju 2.

M2	Serija 1		Serija 2		Serija 3		Serija 34	
	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)
							61,5	5,94
	Tablete ostanejo na dnu posode negibne vseh 24 ur.		Tablete ostanejo na dnu posode negibne vseh 24 ur.		Tablete se prilepijo na dno posode in vseh 24 ur ostanejo na dnu.		Plavajo vseh 24 ur poskusa.	

**Preglednica XXI:** Delež sproščene pentoksifilina in amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju s pH = 3,0 HCl + NaCl (M3). Natančna sestava serij je podana v preglednici III.

M3	SERIJA 1		SERIJA 2		SERIJA 3		SERIJA 34	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	/	/	2,41	0,25	11,55	0,90	8,92	0,62
1	17,58	2,12	4,21	0,18	17,81	1,36	15,33	0,34
2	27,81	3,40	7,61	0,33	29,27	0,49	26,89	0,15
4	46,25	2,74	13,83	0,33	49,21	0,41	45,50	1,27
6	57,70	1,70	18,14	0,46	64,22	1,78	60,77	2,00
8	66,25	0,68	22,78	0,57	76,18	1,67	73,19	1,68
12	86,06	6,48	33,36	1,05	89,57	2,58	53,94	6,71
16	89,86	2,96	38,56	1,08	93,30	1,17	46,76	2,33
24	98,84	2,50	48,12	1,48	98,36	0,99	45,13	1,10

**Preglednica XXII:** Hitrost splavanja tablet v mediju 3.

M3	Serija 1		Serija 2		Serija 3		Serija 34	
	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)
							74,3	5,09
	Tablete lebdijo na dnu posode vseh 24 ur.		Tablete se prilepijo na dno posode in vseh 24 ur ostanejo na dnu.		Tablete po 6 urah začnejo lebdeti na dnu posode in vseh 24 ur ostanejo na dnu.		Plavajo vseh 24 ur poskusa.	

**Preglednica XXIII:** Delež sproščene pentoksifilina in amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju s pH = 1,2 HCl (M4). Natančna sestava serij je podana v preglednici III.

M4	SERIJA 1		SERIJA 2		SERIJA 3		SERIJA 34	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	12,54	0,60	12,44	0,12	/	/	12,47	0,38
1	19,31	1,01	15,84	1,12	24,90	0,30	17,07	0,51
2	28,94	1,90	19,48	1,42	29,92	0,52	19,83	0,88
4	42,88	1,41	25,11	3,56	43,27	1,32	19,55	1,11
6	53,34	1,40	16,15	1,40	51,27	1,78	15,02	1,83
8	61,26	2,19	12,23	0,94	64,09	1,31	13,57	1,37
12	74,41	2,35	10,70	1,18	79,84	3,75	11,93	0,26
16	80,85	2,01	7,93	1,33	85,93	2,84	8,58	0,38
24	95,45	0,88	2,60	0,32	93,38	2,14	4,46	1,12

**Preglednica XXIV:** Hitrost splavanja tablet v mediju 4.

M4	Serija 1		Serija 2		Serija 3		Serija 34	
	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)
					24,2	6,17	11,2	2,05
	Tablete se prilepijo na dno posode in vseh 24 ur ostanejo na dnu.		Tablete vseh 24 ur poskusa lebdi na dnu posode.		Plavajo vseh 24 ur poskusa.		Plavajo vseh 24 ur poskusa.	

**Preglednica XXV:** Delež sproščene pentoksifilina in amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju s pH 1,2 HCl + NaCl (M5). Natančna sestava serij je podana v preglednici III.

M5	SERIJA 1		SERIJA 2		SERIJA 3		SERIJA 34	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	11,77	0,12	12,46	0,77	11,13	0,05	11,68	0,43
1	18,30	0,49	15,26	1,21	17,54	0,45	17,07	0,35
2	28,02	1,21	19,42	1,07	25,85	0,10	20,82	0,75
4	38,98	1,55	23,73	1,14	40,46	0,88	20,69	1,06
6	55,09	3,56	19,42	0,26	51,48	1,80	16,33	1,16
8	63,26	2,51	15,51	0,55	62,42	0,79	14,43	0,95
12	76,69	5,46	11,27	0,82	77,29	1,27	11,56	0,45
16	84,87	2,00	6,86	0,62	90,10	0,56	8,11	0,55
24	95,09	2,45	1,81	0,40	94,24	0,64	5,17	1,12

**Preglednica XXVI:** Hitrost splavanja tablet v mediju 5.

M5	Serija 1		Serija 2		Serija 3		Serija 34	
	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)
					17,3	3,93	6,4	0,78
	Tablete se prilepijo na dno posode in vseh 24 ur ostanejo na dnu.		Tablete vseh 24 ur poskusa lebdi na dnu posode.		Plavajo vseh 24 ur poskusa.		Plavajo vseh 24 ur poskusa.	

**Preglednica XXVII:** Delež sproščene pentoksifilina in amoksicilina v odvisnosti od časa v mediju s pH 3,0  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + NaCl (M6). Natančna sestava serij je podana v preglednici III.

M6	SERIJA 1		SERIJA 2		SERIJA 3		SERIJA 34	
Čas (h)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)	Delež sproščene učinkovine (%)	SD (%)
0,5	11,28	0,64	2,72	0,12	10,38	0,31	6,01	0,18
1	17,91	2,09	4,76	0,41	17,37	0,46	9,57	0,56
2	27,10	2,22	8,97	1,28	28,78	1,59	15,65	0,39
4	46,81	2,68	15,74	2,11	48,04	1,92	24,94	0,83
6	64,44	1,32	21,30	2,89	61,25	2,04	33,28	1,81
8	76,46	1,62	29,77	2,84	74,85	2,64	40,59	2,25
12	90,50	0,86	41,42	3,81	91,21	2,13	52,80	2,93
16	93,41	2,16	47,72	4,92	95,65	0,57	61,47	2,35
24	95,78	0,22	56,79	4,31	97,50	0,48	67,10	1,47

**Preglednica XXVIII:** Hitrost splavanja tablet v mediju 6.

M6	Serija 1		Serija 2		Serija 3		Serija 34	
	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)	Povprečen čas splavanja (min)	SD (%)
					122,0	8,54	13,5	0,45
	Tablete se prilepijo na dno posode nato začnejo lebdeti na dnu posode in tam ostanejo vseh 24 ur.		Tablete vseh 24 ur poskusa lebdijo na dnu posode.		Plavajo vseh 24 ur poskusa.		Plavajo vseh 24 ur poskusa.	

## 7 RAZPRAVA

Infekcija želodca s *H. pylori* je ena izmed najpogostejših patogenih bakterijskih infekcij. Za zdravljenje je potrebna kombinacija večih antibiotikov in učinkovin, ki zmanjšujejo izločanje HCl. Terapij je več, najpogostejše kombinacije pa so predstavljene v preglednici I, kjer je razvidno, da so odmerki antibiotikov zelo visoki. Pri našem delu smo se odločili, da bomo v plavajoče tablete vgradili po 100 mg AMX. AMX je učinkovina z razmeroma nizko minimalno inhibitorno koncentracijo, ki uniči 90 % vseh sevov *H. pylori* ( $MIC_{90} = 0,06 \mu\text{g/ml}$ ) (16). Ker pričakujemo, da bodo plavajoče tablete ostale v želodcu dlje časa in tam počasi sproščale zdravilno učinkovino, je precej verjetno, da bo koncentracija učinkovine na mestu infekcije presegla  $MIC_{90}$  kljub manjšemu odmerku. Poleg tega strokovnjaki predvidevajo, da je absorpcija antibiotika direktno skozi mukusno plast iz lumna želodca do mesta, kjer se nahaja bakterija, boljši način za zdravljenje okužb s *H. pylori*, kot pa absorpcija skozi bazolateralno membrano (13). Z zmanjšanim odmerkom tako pričakujemo manjšo možnost pojava neželenih stranskih učinkov ter bolj učinkovito zdravljenje.

Izdelana diplomska naloga je nadaljevanje in nadgradnja diplomske naloge Črnič A. (40). Tema njene diplome je obsegala proučevanje vpliva pomožnih snovi na raztapljanje AMX, njegovo stabilnost in razgradne produkte ter vgrajevanje AMX v plavajoče tablete.

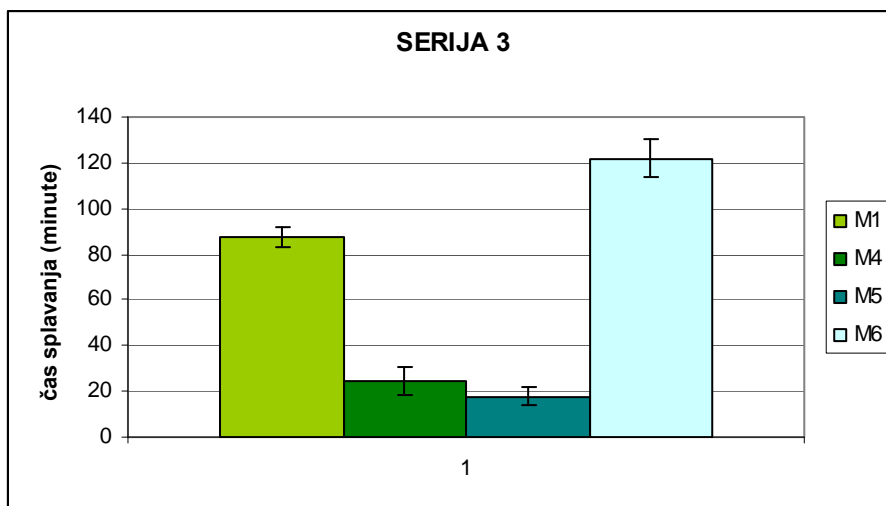
Na osnovi njene diplome ni bilo mogoče ugotoviti, kakšen vpliv na sproščanje in razgradnjo AMX ima ogrodje tablet, zlasti prisoten  $\text{NaHCO}_3$ . Za vrednotenje vpliva samega ogrodja na sproščanje vodotopne učinkovine smo namesto AMX v tablete vgradili enako količino PF, ki je učinkovina stabilna v širokem pH območju, namesto  $\text{NaHCO}_3$  pa laktozo v enakem deležu.

Preskuse sproščanja in plavanja tablet smo izvajali na napravi za analizo sproščanja 2 po USP v različnih medijih s pH 1,2 in pH 3,0. Ker AMX pri zelo kislem pH ni stabilen (39) in ker se pri okužbi s *H. pylori* vrednosti pH v želodcu povečajo in lahko narastejo celo do vrednosti pH 6,0 (1), smo veliko preskusov opravili pri pH 3,0. Pri pH 1,2 pa smo vrednotili bolj vplive na ogrodje.

## **7.1 PROUČEVANJE VPLIVA MEDIJA NA PLOVNE LASTNOSTI TABLET**

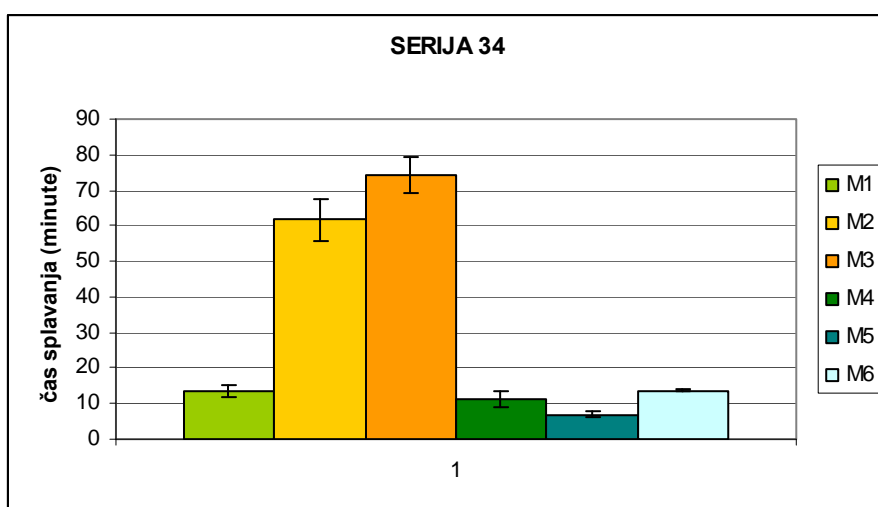
Izdelanim tabletam z laktozo in z  $\text{NaHCO}_3$  smo določali čas, ki je potreben, da tablete splavajo na površje medija (čas splavanja) pri konstantni hitrosti vrtenja mešal  $\text{rpm}=50$ . Zanimalo nas je kakšna je razlika v hitrosti splavanja v medijih z različnim pH in različno ionsko močjo (slika 14 in 15). Ugotovili smo, da je najpomembnejši dejavnik za doseganje plovnosti  $\text{NaHCO}_3$ , saj tablete z laktozo niso splavale. Z razpadom  $\text{NaHCO}_3$  se v kislem mediju tvorijo mehurčki, ki se ujamejo v gelsko mrežo in povzročijo, da tableta splava.

Tablete s PF in  $\text{NaHCO}_3$ , serije 3 (slika 14), so v mediju s pH 1,2 HCl splavale v 24,2 min, po dodatku NaCl v medij pa se je čas splavanja skrajšal na 17,3 min. Tablete so plavale vseh 24 ur preskusa. V mediju s pH 3,0 HCl in HCl + NaCl se tablete niso pojavile na površini medija, ampak so vseh 24 ur lebdele na dnu posode. Medij je bil premalo kisel zato se ni tvorilo dovolj mehurčkov  $\text{CO}_2$ , da bi tablete splavale. V mediju s pH 3,0  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  so tablete splavale šele po daljšem času 87,4 min, ko je nastalo dovolj mehurčkov  $\text{CO}_2$ . Po dodatku NaCl v medij se je čas splavanja podaljšal na 122 min, kar je sicer nenavadno, saj običajno dodatek NaCl čas splavanja skrajša. Tablete so plavale vseh 24 ur preskusa.



**Slika 14:** Primerjava časa splavanja tablet serije 3 v različnih medijih pri rpm=50 (v mediju 2 in 3 se tablete niso pojavile na površini medija, ampak so lebdele na dnu posode, zato na grafu niso prikazane). Sestava tablet serije 3 je podana v preglednici III. Sestava medijev je podana v preglednici II.

Tablete z AMX in  $\text{NaHCO}_3$ , serije 34 (slika 15), so izkazovale največjo hitrost splavanja v mediju s pH 1,2 HCl + NaCl in sicer ja čas splavanja znašal 6,4 min. V mediju s pH 3,0 HCl so splavale v 11,3 min. V mediju s pH 3,0 HCl in HCl + NaCl je bil čas splavanja bistveno daljši kot v ostalih medijih in je znašal več kot 60 min. V mediju s pH 3,0  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + NaCl je bil čas splavanja neodvisen od medija za raztapljanje. Tablete so v vseh medijih plavale vseh 24 ur preskusa, v mediju s pH 3,0 HCl so se v 24 urah popolnoma razgradile.



**Slika 15:** Primerjava časa splavanja tablet serije 34 v različnih medijih pri rpm=50. Sestava tablet serije 34 je podana v preglednici III. Sestava medijev je podana v preglednici II.

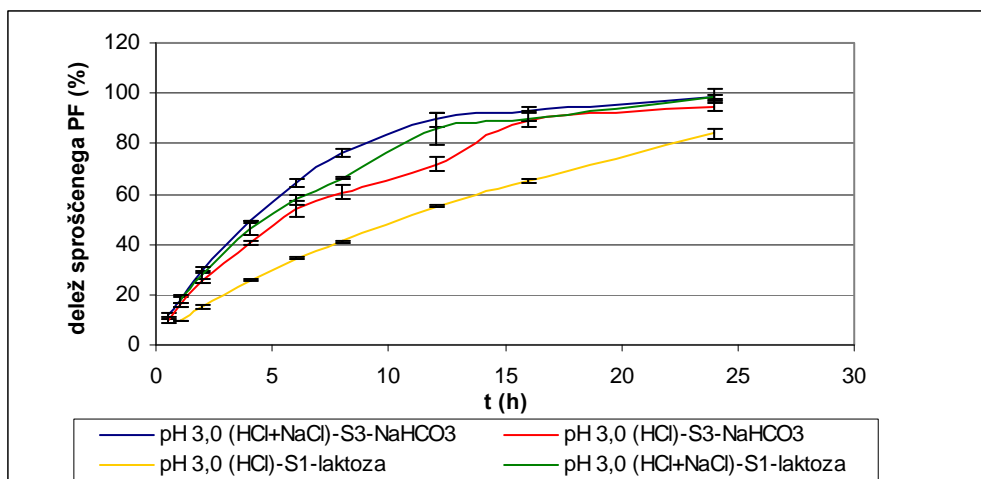


V primerjavi s tabletami, ki so vsebovale PF, so tablete z AMX splavale hitreje, razlog je najverjetneje v različnih relativnih gostotah učinkovin.

## **7.2 PROUČEVANJE SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IZ OGRODNIH TABLET SERIJ 1 IN 3**

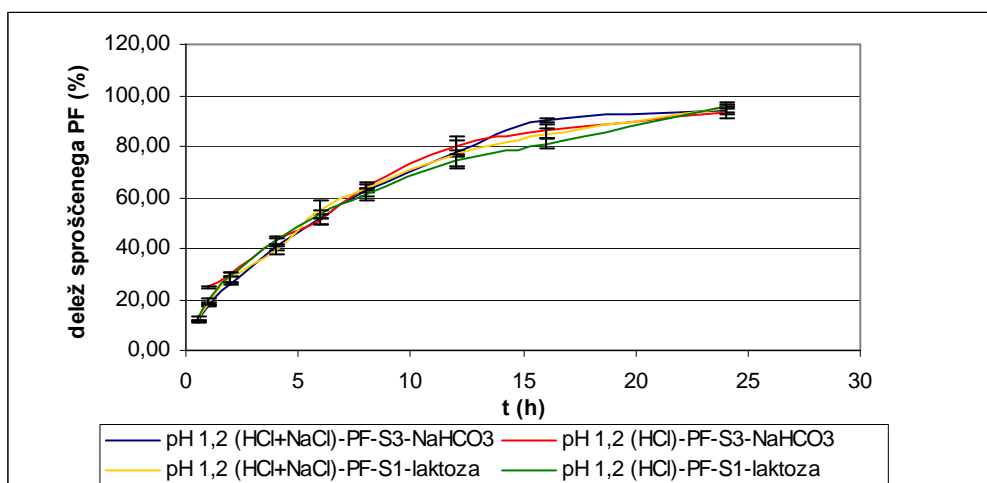
Serijska 1 predstavlja tablete s podaljšanim sproščanjem PF z naslednjo sestavo: 100 mg PF, ksantan, laktoza, MCC in Mg-stearat. Serijska 3 predstavlja tablete s podaljšanim sproščanjem PF s sestavo: 100 mg PF, ksantan, NaHCO<sub>3</sub>, MCC in Mg-stearat (preglednica III). Izdelane tablete so ustrezale preskusu enakomernosti mase, prav tako je bila ustrezna tudi trdnost. Pri plovnih lastnostih se tablete s PF niso izkazale, zlasti tiste ki so vsebovale laktozo. Ob dodatku NaHCO<sub>3</sub> (serijska 3) so se plovne lastnosti pokazale le v mediju s pH 3,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (M1), pH 3,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + NaCl (M6), pH 1,2 HCl (M4) in pH 1,2 HCl + NaCl (M5).

Sproščanje PF iz tablet serij 1 in 3 smo izvajali v šestih medijih, ki so se razlikovali glede na ionsko moč in pH: pH 3,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (M1), pH 3,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + NaCl (M6), pH 3,0 HCl (M2), pH 3,0 HCl + NaCl (M3), pH 1,2 HCl (M4) in pH 1,2 HCl + NaCl (M5) (natančna sestava medijev je podana v preglednici II) in primerjali rezultate sproščanja PF. Ugotavljali smo vpliv sestave ogrodja na sproščanje učinkovine. Rezultati sproščanja PF v mediju s pH 3,0 (HCl) in pH 3,0 (HCl in NaCl) so prikazani na sliki 16. Sproščanje tablet z laktozo (serijska 1) smo naprej izvedli v mediju s HCl (M2), nato pa smo mediju dodali NaCl in s tem povečali ionsko moč medija. Ugotovili smo, da je sproščanje PF iz tablet z laktozo pri povečani ionski moči hitrejše. Medij s pH 3 HCl ima zelo majhno ionsko moč. Gre za zelo razredčeno HCl, zato se tablete obnašajo kot v vodi, ogrodje tablete močno nabreka, tvori se debela gelska plast in sproščanje je zelo počasno. NaCl poveča ionsko moč medija, spremeni se konformacija ksantana, zato tablete manj nabrekajo, gelska plast se stanjša, sproščanje PF pa pospeši. Nato smo v obeh medijih izvedli še sproščanje tablet serije 3 z NaHCO<sub>3</sub>. Sproščanje PF iz teh tablet je bilo v obeh medijih hitrejše kot iz tablet z laktozo. NaHCO<sub>3</sub> s tvorbo CO<sub>2</sub> razrahlja ksantanski gel in PF se lahko hitreje sprošča iz ogrodja. Dodatek NaCl k mediju bistveno bolj vpliva na sproščanje PF iz tablet serije 1 kot serije 3.



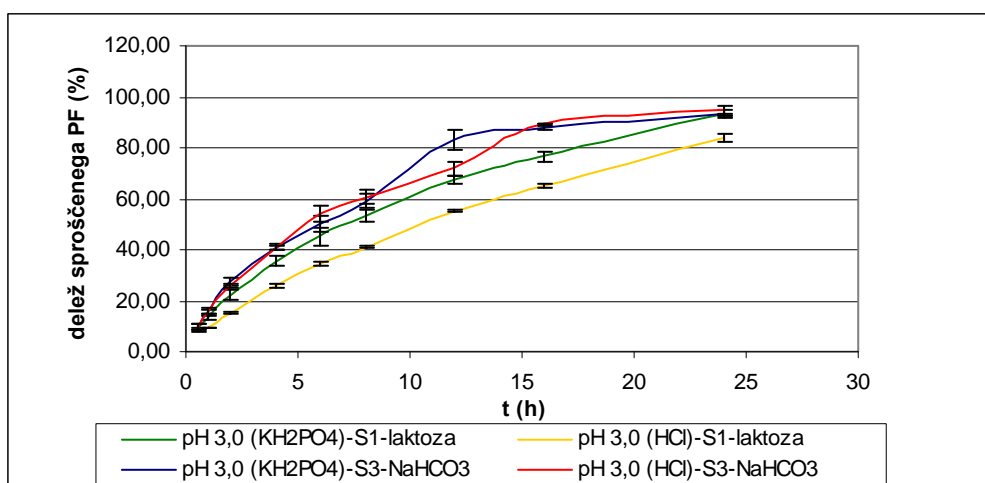
**Slika 16:** Primerjava sproščanja PF iz tablet serije 1 in serije 3 v mediju 2 in 3. Sestava tablet serije 1 in 3 je podana v preglednici III. Sestava medija 2 in 3 je podana v preglednici II.

Sproščanje tablet z laktozo in tablet z  $\text{NaHCO}_3$  smo izvedli tudi v mediju s pH 1,2 HCl (M4) in v istem mediju s povečano ionsko močjo (HCl + NaCl) (M5). S slike 17 je razvidno, da v zelo kislem mediju poteka sproščanje PF iz obeh serij tablet enako, kar pomeni, da imata pri nizkem pH laktoza in  $\text{NaHCO}_3$  enak vpliv na sproščanje PF. Prav tako ni opaziti razlike pri sproščanju v mediju z višjo ionsko močjo. Ksantan je anionski polimer, kjer v zelo kislem mediju  $\text{COO}^-$  skupine postanejo neionizirane, zato ksantan manj nabreka. Podoben učinek ima dodatek NaCl v medij, kjer  $\text{Na}^+$  senčijo naboj na verigah, odboj med verigami je manjši in verige manj nabrekajo. Na podlagi rezultatov sklepamo, da so  $\text{COO}^-$  skupine pri pH 1,2 neionizirane, zato dodatek NaCl dodatno ne pospeši sproščanja PF.



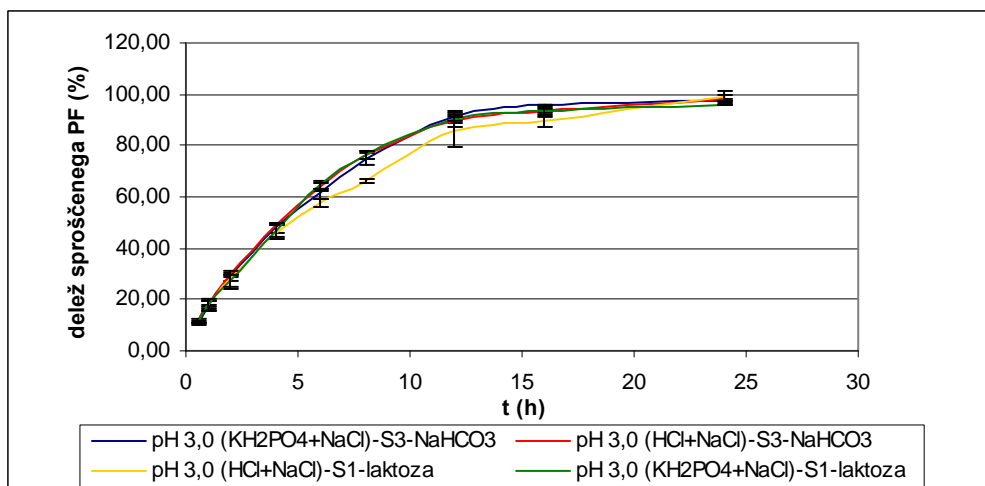
**Slika 17:** Primerjava sproščanja PF iz tablet serije 1 in serije 3 v mediju 4 in 5. Sestava tablet serije 1 in 3 je podana v preglednici III. Sestava medija 4 in 5 je podana v preglednici II.

Primerjali smo sproščanje PF v mediju s pH 3  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (M1) in pH 3,0 HCl (M2). Medija se razlikujeta po sestavi in ionski moči. Iz tablet z laktozo se je PF v mediju 1 sproščal nekoliko hitreje, saj je ionska moč tega medija višja v primerjavi s HCl. Sproščanje PF je še hitreje potekalo iz tablet z  $\text{NaHCO}_3$ , kar kaže, da ta substanca bolj razkrajja gelsko plast in PF se lahko iz ogrodja sprošča hitreje (slika 18). Prav tako pa se zaradi produktov reakcije  $\text{NaHCO}_3$  s kislino,  $\text{Na}^+$  in  $\text{CO}_2$ , lokalno poveča ionska moč, ki prav tako pospeši sproščanje. Ta razlaga sovpada tudi z rezultati splavanja, saj tablete z laktozo niso splavale v nobenem mediju, tablete serije 3 z  $\text{NaHCO}_3$  so v mediju 1 plavale vseh 24 ur, v mediju 2 pa so se skoraj popolnoma razgradile (slika 29).



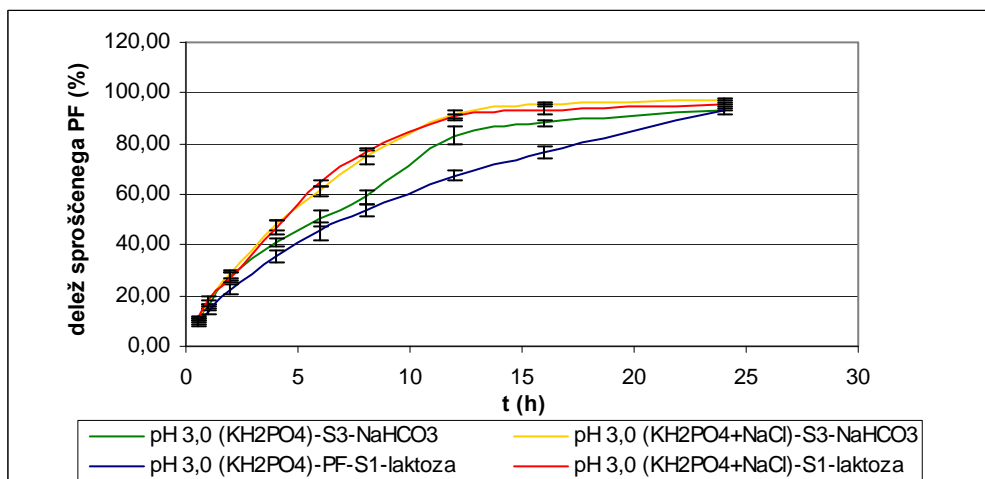
**Slika 18:** Primerjava sproščanja PF iz tablet serije 1 in serije 3 v mediju 1 in 2. Sestava tablet serije 1 in 3 je podana v preglednici III. Sestava medija 1 in 2 je podana v preglednici II.

Sproščanje PF iz tablet z laktozo serije 1 smo primerjali v medijih s pH 3,0 z višjo ionsko močjo HCl + NaCl (M3) in  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + NaCl (M6) (slika 19). Ugotovili smo, da je sproščanje PF iz tablet z laktozo v obeh medijih enako. Nato smo v teh medij izvedli še sproščanje tablet z  $\text{NaHCO}_3$  serije 3. Tudi v tem primeru je bilo sproščanje PF v obeh medijih enako. Ionska moč okrog 0,2 daje enak učinek na sproščanje PF kot zelo kisel medij pH 1,2. Tako laktoza kot  $\text{NaHCO}_3$  imata na sproščanje PF pri povečani ionski moči enak vpliv.



**Slika 19:** Primerjava sproščanja PF iz tablet serije 1 in serije 3 v mediju 3 in 6. Sestava tablet serije 1 in 3 je podana v preglednici III. Sestava medija 3 in 6 je podana v preglednici II.

Vpliv dodatka NaCl na sproščanje PF iz tablet serije 1 in 3 smo ugotavljali tudi pri pH 3,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (M1) in KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + NaCl (M6). S slike 20 je razvidno, da je sproščanje PF ponovno hitrejše v mediju z dodanim NaCl, saj pH 3,0 le delno navtralizira COO<sup>-</sup> skupine, dodatek NaCl pa spremeni konformacijo ksantana, zato tablete nabrekajo manj, gelska plast je tanjša in sproščanje PF hitrejše. Na sproščanje PF imajo tako pri pH 3,0 največji vpliv v mediju dodani ioni.



**Slika 20:** Primerjava sproščanja PF iz tablet serije 1 in serije 3 v mediju 1 in 6. Sestava tablet serije 1 in 3 je podana v preglednici III. Sestava medija 1 in 6 je podana v preglednici II.

S slik 16, 17, 18, 19, 20 je razvidno, da se iz obeh ogrodij serije 1 in serije 3 v 24 urah sprosti 100 % učinkovine. Ogrodje zadrži sproščanje PF, ki je vodotopna učinkovina, vsaj

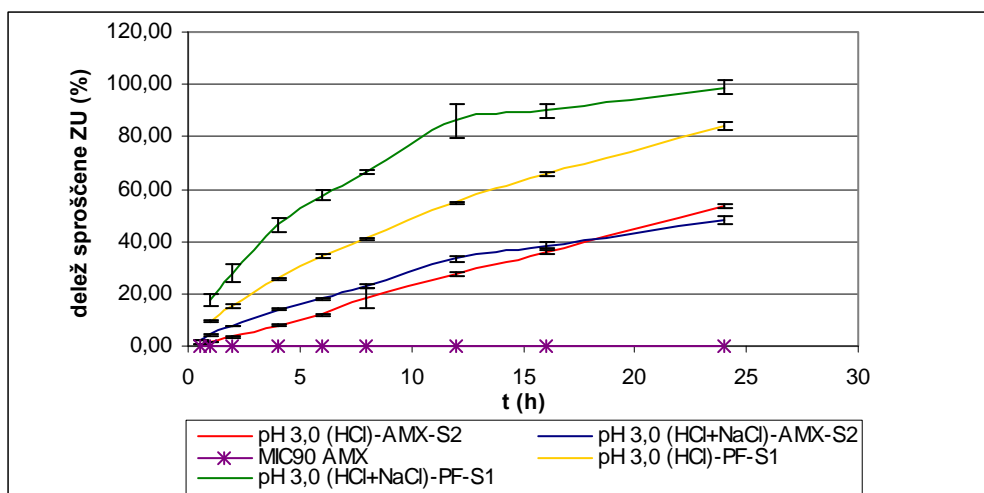
14 ur, pri nižji ionski moči, pa več kot 24 ur. Sproščanje iz ogrodja z laktozo je nekoliko počasnejše kot iz ogrodja z  $\text{NaHCO}_3$ . Med 14 in 16 uro se iz ogrodja z  $\text{NaHCO}_3$  sprosti vsa učinkovina, saj se ob stiku z medijem tvorijo mehurčki  $\text{CO}_2$ , ki razrahljajo plašč tablete, zato ima medij do učinkovine hitrejši dostop. Iz ogrodij z laktozo se vsa učinkovina sprosti v 15 do 20 urah. Prav tako smo ugotovili, da je količina  $\text{NaHCO}_3$  ustrežna, saj v tej količini še ne deluje razgrajevalno in ohranja integriteto ogrodja enako kot ogrodje z laktozo. Dodatek  $\text{NaHCO}_3$  pa je potreben za doseganje plovnosti, saj tablete z laktozo niso plavale. Poudariti je še potrebno, da ima na ogrodje in posledično na sproščanje PF enak vpliv zelo kisel pH 1,2 in/ali dodatek  $\text{NaCl}$ .

### **7.3 PRIMERJAVA SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IN AMOKSICILINA IZ TABLET Z LAKTOZO**

Serija 2 predstavlja tablete s podaljšanim sproščanjem AMX z naslednjo sestavo: 114,8 mg amoksicilin trihidrat (ustreza 100 mg AMX), ksantan, laktoza, MCC in Mg-stearat (preglednica III). Izdelane tablete so ustrezale preskusu enakomernosti mase, prav tako je bila ustrezna tudi trdnost. Pri plovnih lastnostih se tablete PF in AMX z laktozo niso izkazale, saj v nobenem mediju niso splavale.

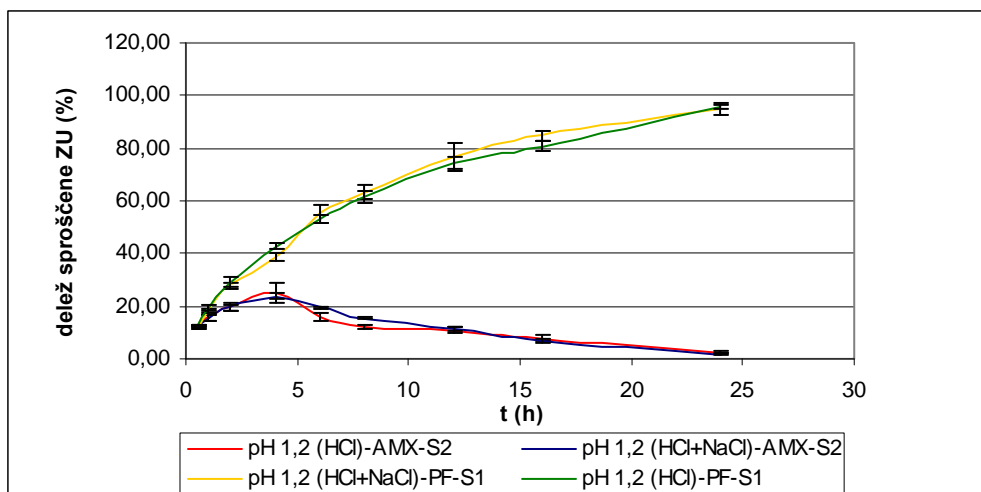
Sproščanje tablete iz serij 1 in 2 smo izvedli v različnih medijih glede na ionsko moč in pH: pH 3,0  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (M1), pH 3,0  $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{NaCl}$  (M6), pH 3,0  $\text{HCl}$  (M2), pH 3,0  $\text{HCl} + \text{NaCl}$  (M3), pH 1,2  $\text{HCl}$  (M4) in pH 1,2  $\text{HCl} + \text{NaCl}$  (M5) (natančna sestava medijev je podana v preglednici II) in primerjali sproščanje PF in AMX. Rezultati sproščanja ZU iz tablet serije 1 in 2 v mediju s pH 3,0  $\text{HCl}$  (M2) in  $\text{HCl} + \text{NaCl}$  (M3) so prikazani na sliki 21. Že prej smo izvedli sproščanje PF in ugotovili, da se je v 24 urah sprostil ves PF in da je sproščanje nekoliko hitrejše v mediju z višjo ionsko močjo. Nato smo izvedli še sproščanje AMX iz tablet z laktozo v obeh medijih. Ugotovili smo, da se je v 24 urah sprostito okrog 50 % AMX, kar je manj v primerjavi s PF, vedeti pa moramo, da se AMX relativno hitro razgradi. Delež sproščene učinkovine je tako zagotovo večji kot 50 %, saj so se tablete z AMX v 24 urah skoraj povsem razgradile. Ne glede na veliko razgradnjo AMX pa je koncentracija v mediju prisotnega AMX vedno bistveno večji kot  $\text{MIC}_{90}$  za *H. pylori*.

Prav tako smo ugotovili, da je sproščanje pri povišani ionsko moči nekoliko hitrejše, vendar ionska moč medija na sproščanje AMX nima tako velikega vpliva, kot na sproščanje PF. Najverjetnejši vzrok za to je v tem, da je stopnja razgradnje AMX zelo velika. Kar se sprosti, se sproti razgradi in je zato vpliv NaCl zanemarljiv. Vpliv NaCl na ogrodje lahko ocenimo iz sproščanja PF in ne iz sproščanja AMX.



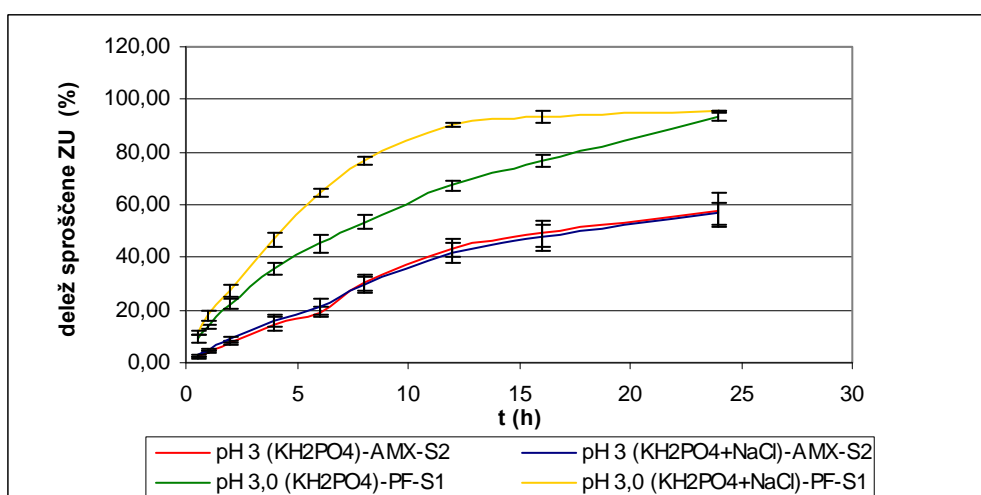
**Slika 21:** Primerjava sproščanja PF iz tablet S1 in AMX iz tablet S2 v mediju 2 in 3. Sestava tablet serije 1 in 2 je podana v preglednici III. Sestava medija 2 in 3 je podana v preglednici II.

Primerjali smo sproščanje AMX iz tablet serije 2 in PF iz tablet serije 1 v mediju s pH 1,2 HCl (M4) in HCl + NaCl (M5). Ponovno smo opazili, da ionska moč medija pri zelo nizkem pH nima vpliva na sproščanje, saj je sproščanje učinkovine pri nižji in višji ionski moči enako. Prav tako, pa je iz grafov razvidno, da se je v 24 urah sprostilo 100 % PF, medtem ko se je AMX sprostilo bistveno manj oziroma se je v mediju hitro razgradil (slika 22). Razgradnja AMX v mediju pH 1,2 je tako velika, da te tablete pri tako kislem pH niso primerne za podaljšano sproščanje. Po podatkih v literaturi (1) so pri okužbi s *H. pylori* vrednosti pH v želodcu višje in je verjetnost, da bi prišlo do situacije z zelo kislo želodčno vsebino zelo majhna. Tablete z laktozo serije 1 in serije 2 niso splavale, so pa v mediju 2 po 24 urah skoraj popolnoma razpadle (slika 28 in 29).



**Slika 22:** Primerjava sproščanja PF iz tablet S1 in AMX iz tablet S2 v mediju 4 in 5. Sestava tablet serije 1 in 2 je podana v preglednici III. Sestava medija 4 in 5 je podana v preglednici II.

Sproščanje AMX in PF smo primerjali v mediju s pH 3,0  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (M1) in  $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{NaCl}$  (M6) (slika 23). Ugotovili smo, da se je v 24 urah sprostil ves PF in da sproščanje poteka hitreje pri povišani ionski moči. V 24 urah se je sprostil okrog 50 % vgrajenega AMX. Iz rezultatov dobljenih s sproščanjem PF lahko sklepamo, da vzrok za manjši delež sproščenega AMX ni v ogrodju, ampak je vzrok v nestabilnosti AMX tako kot v mediju pH 3,0 HCl. Ne glede na veliko razgradnjo AMX pa je koncentracija v mediju prisotnega AMX vedno bistveno večji kot  $\text{MIC}_{90}$  H. pylori v želodcu. Prav tako je iz grafov razvidno, da na sproščanje AMX ionska moč medija nima nobenega vpliva. Vzrok za to je enak kot pri sproščanju AMX v HCl medijih pH 3,0.



**Slika 23:** Primerjava sproščanja PF iz tablet S1 in AMX iz tablet S2 v mediju 1 in 6. Sestava tablet serije 1 in 2 je podana v preglednici III. Sestava medija 1 in 6 je podana v preglednici II.

Zaključimo lahko, da je sproščanje PF iz tablet z laktozo podvrženo spremembam v mediju, zlasti pH in dodatku NaCl. V primeru AMX pa se vpliv medija kaže v glavnem na razgradnjo, medtem ko ionska moč medija na sproščanje AMX nima vpliva, kar je ugodno.

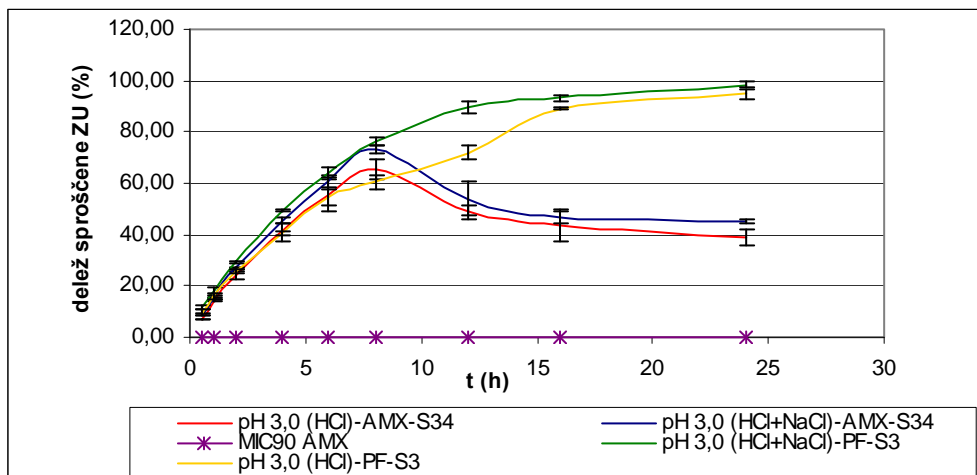
#### **7.4 PRIMERJAVA SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IN AMOKSICILINA IZ TABLET Z NaHCO<sub>3</sub>**

Serijska 34 predstavlja tablete s podaljšanim sproščanjem AMX z naslednjo sestavo: 114,8 mg amoksicilin trihidrat (ustreza 100 mg AMX), ksantan, NaHCO<sub>3</sub>, MCC in Mg-stearat (preglednica III). NaHCO<sub>3</sub> smo dodali z namenom izboljšanja plovnih lastnosti. To nam je v primeru AMX tudi uspelo, medtem ko pri tabletah s PF v tej sestavi v vseh medijih plovnosti nismo dosegli. Plovne lastnosti tablet s PF bi lahko izboljšali z optimizacijo sestave ogrodja, vendar to ni bil namen našega dela. Tudi tablete serije 34 so ustrezale preskusu enakomernosti mase, prav tako je bila ustrezna tudi trdnost.

Sproščanje tablet iz serij 3 in 34 smo izvajali v različnih medijih glede na ionsko moč in pH: pH 3,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (M1), pH 3,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + NaCl (M6), pH 3,0 HCl (M2), pH 3,0 HCl + NaCl (M3), pH 1,2 HCl (M4) in pH 1,2 HCl + NaCl (M5) (natančna sestava medijev je podana v preglednici II) in primerjali sproščanje PF in AMX. Rezultati sproščanja ZU iz tablet serije 3 in 34 v mediju s pH 3,0 HCl (M2) in HCl + NaCl (M3) so prikazani na sliki 24. Sproščanje tablet serije 3 smo najprej izvedli v mediju s HCl (M2), nato pa smo mediju dodali NaCl in s tem povečali ionsko moč medija, kar se odraža kot hitrejše sproščanje PF, saj tablete manj nabrekajo, gelska plast pa se stanjša. V 24 urah se je sprostil ves PF. Nato smo v obeh medijih izvedli še sproščanje AMX iz tablet z NaHCO<sub>3</sub>. Prvih 8 ur poteka sproščanje AMX praktično enako kot sproščanje PF, nato pa se kaže razgradnja AMX, zato koncentracija sproščenega AMX pade. Kot v vseh ostalih primerih, smo koncentracijo AMX spremljali prvih 8 ur sproti, v času 12, 16 in 24 ur pa šele naslednji dan in je bila zato razgradnja AMX še večja kot bi bila, če bi koncentracijo izmerili sproti, zato vrednosti za te čase niso povsem pravilne. Opazimo lahko, da se je v prvih 8 urah sprostil že 80 % AMX, po 24 urah pa le še 40 %. V 24 urah se je zagotovo sprostil ves AMX, saj so se tablete po 24 urah skoraj popolnoma razgradile (slika 28). Po

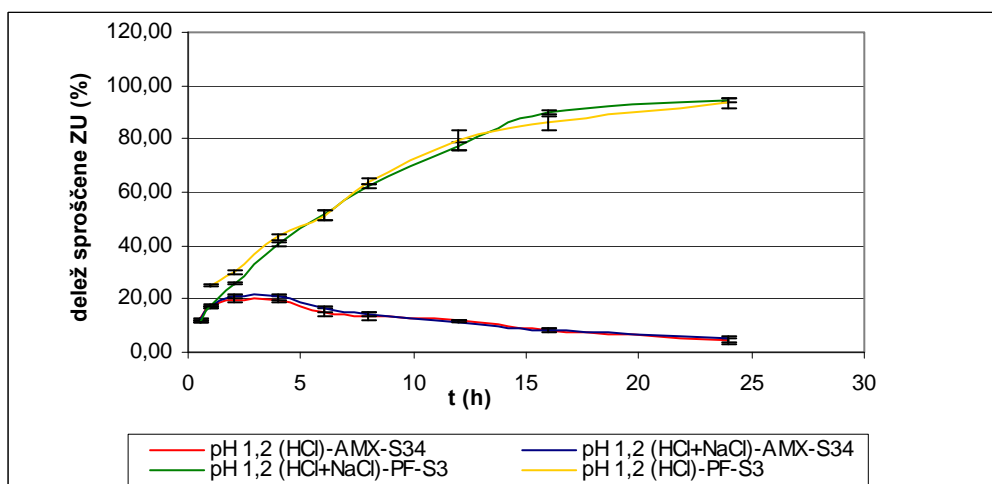


24 urah lahko torej samo ugotovimo, kakšna je še koncentracija nerazgrajenega AMX. Slednja je kljub veliki razgradnji še vedno nad MIC<sub>90</sub> za *H. pylori* v želodcu (slika 24).



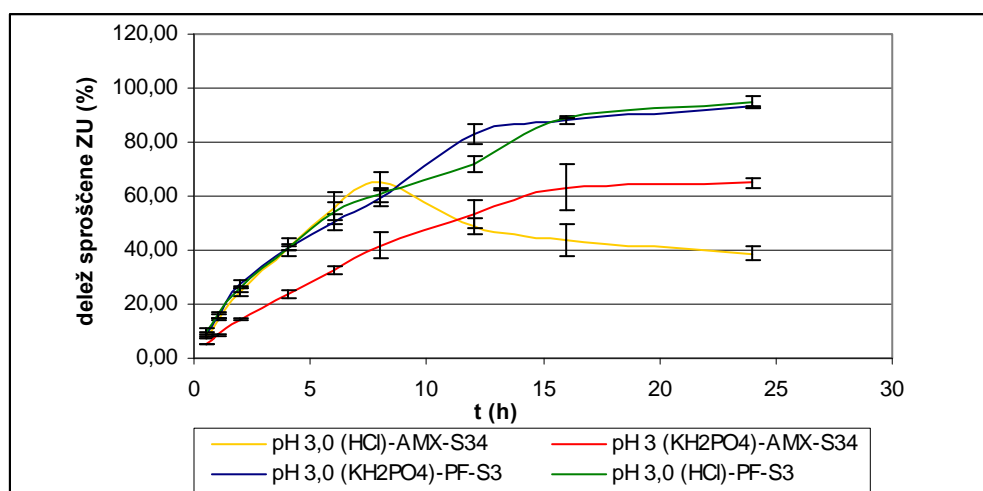
**Slika 24:** Primerjava sproščanja PF iz tablet S3 in AMX iz tablet S34 v mediju 2 in 3. Sestava tablet serije 3 in 34 je podana v preglednici III. Sestava medija 2 in 3 je podana v preglednici II.

Sproščanje tablet PF in tablet AMX z NaHCO<sub>3</sub> smo izvedli tudi v mediju s pH 1,2 HCl (M4) in v mediju s povečano ionsko močjo (HCl + NaCl) (M5). Ugotovili smo, da pri zelo nizkem pH ionska moč medija nima vpliva na sproščanje PF in enako lahko ugotovimo za AMX (slika 25). V 24 urah se je sprostil ves PF, za AMX pa lahko vidimo, da se zelo hitro razgradi. Ker je verjetnost za tako nizek pH pri okužbi s *H. pylori* majhna, so ti rezultati zgolj informativni.

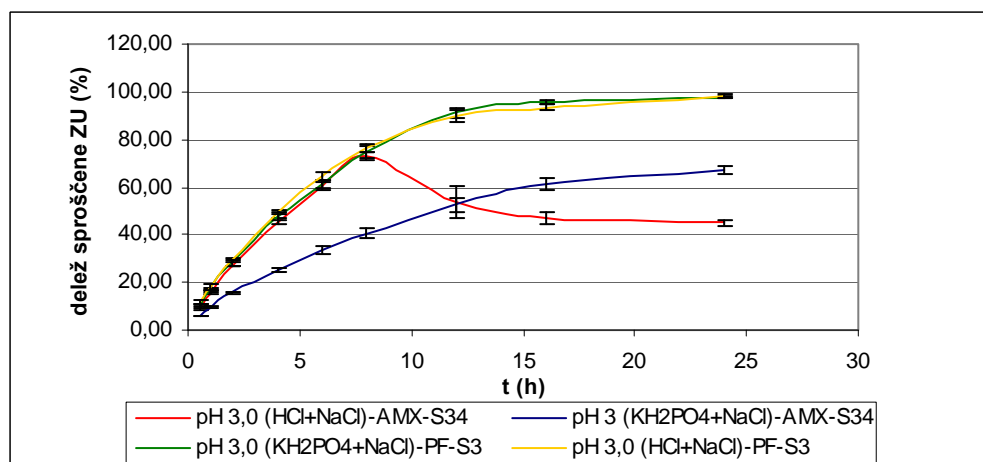


**Slika 25:** Primerjava sproščanja PF iz tablet S3 in AMX iz tablet S34 v mediju 4 in 5. Sestava tablet serije 3 in 34 je podana v preglednici III. Sestava medija 4 in 5 je podana v preglednici II.

Primerjali smo tudi sproščanje PF in AMX v mediju s pH 3,0  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in pH 3,0 HCl (slika 26). Zanimivo je, da se je PF iz tablet z  $\text{NaHCO}_3$  sproščal v obeh medijih enako. Možno je, da zaradi produktov reakcije  $\text{NaHCO}_3$  s kislino, lokalno ionska moč toliko naraste, da se tudi v HCl sproščanje pospeši. Iz tablet z laktozo je sproščanje pri pH 3,0 HCl bistveno počasnejše. Učinek  $\text{Na}^+$  ionov je možno opaziti tudi pri tabletah z AMX. V mediju s HCl je sproščanje prvih 8 ur potekalo enako hitro, nato pa opazimo razgradnjo AMX. Zanimivo pa je zelo upočasnjeno sproščanje AMX v mediju s  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Kaj je razlog temu niti ne vemo. Ena od možnosti je, da so v tem mediju tablete z AMX splavale že po 13,3 min, zato je bila ena stran tablete vedno manj omočena z medijem in sproščanje je potekalo počasneje. Enako lahko ugotovimo tudi za rezultate v mediju z višjo ionsko močjo (slika 27).














**Slika 26:** Primerjava sproščanja PF iz tablet S3 in AMX iz tablet S34 v mediju 1 in 2. Sestava tablet serije 3 in 34 je podana v preglednici III. Sestava medija 1 in 2 je podana v preglednici II.










**Slika 27:** Primerjava sproščanja PF iz tablet S3 in AMX iz tablet S34 v mediju 3 in 6. Sestava tablet serije 3 in 34 je podana v preglednici III. Sestava medija 3 in 6 je podana v preglednici II.

## **7.5 PROUČEVANJE OBLIKE IN VELIKOSTI TABLET PO KONČANEM 24 URNEM SPROŠČANJU**

Po končanem 24 urnem sproščanju smo vizualno ocenili obliko in velikost tablet (slika 28 in 29). Med preskusi plavanja in sproščanja smo ugotovili, da tablete s ksantanom kot ogrodnim polimerom močno nabrekajo. Ta lastnost predstavlja eno od možnosti za zadrževanje FO v želodcu, saj tablete zaradi svoje velikosti v želodcu ostanejo dlje časa. Tablete serije 34 v mediju s pH 3,0 HCl (M2) imajo najmanj čvrsto ogrodje, saj se v 24 urah popolnoma razgradijo. Manj čvrsto ogrodje smo opazili tudi pri seriji 2, seriji 1 in seriji 3 v tem mediju. Tablete serije 1, 2, 3 in 34 v medijih s pH 3,0  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (M1), pH 3,0  $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{NaCl}$  (M6), pH 1,2 HCl (M4) in pH 1,2 HCl + NaCl (M5) ohranijo čvrsto, nabreklo, okroglo obliko tudi po 24 urnem preskusu sproščanja. Tablete serije 1 in serije 2 v vseh medijih izrazito nabrekajo, saj se volumen tablet poveča tudi za več kot 100 %. Izrazito povečanje volumna smo pri seriji 3 in seriji 34 opazili v mediju s pH 3,0 HCl (M2) in pH 3,0 HCl + NaCl (M3).

	SERIJA 34	SERIJA 2
MEDIJ 1 pH=3,0 (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	 A photograph showing two tablets on a ruler. The left tablet is small and round. The right tablet is significantly larger and more irregular in shape. Handwritten text above reads "MEDIJ 1 SERIJA 34 AMX".	 A photograph showing two tablets on a ruler. The left tablet is small and round. The right tablet is significantly larger and more irregular in shape. Handwritten text above reads "MEDIJ 1 SERIJA 2 AMX".
MEDIJ 2 pH=3,0 (HCl)	Tablete se popolnoma razgradijo po 24 urah.	 A photograph showing two tablets on a ruler. The left tablet is small and round. The right tablet is significantly larger and more irregular in shape. Handwritten text above reads "MEDIJ 2 SERIJA 2 AMX".
MEDIJ 3 pH=3,0 (HCl + NaCl)	 A photograph showing two tablets on a ruler. The left tablet is small and round. The right tablet is significantly larger and more irregular in shape. Handwritten text above reads "MEDIJ 3 SERIJA 34 AMX".	 A photograph showing two tablets on a ruler. The left tablet is small and round. The right tablet is significantly larger and more irregular in shape. Handwritten text above reads "MEDIJ 3 SERIJA 2 AMX".
MEDIJ 4 pH=1,2 (HCl)	 A photograph showing two tablets on a ruler. The left tablet is small and round. The right tablet is significantly larger and more irregular in shape. Handwritten text above reads "MEDIJ 4 SERIJA 34 AMX".	 A photograph showing two tablets on a ruler. The left tablet is small and round. The right tablet is significantly larger and more irregular in shape. Handwritten text above reads "MEDIJ 4 SERIJA 2 AMX".
MEDIJ 5 pH=1,2 (HCL + NaCl)	 A photograph showing two tablets on a ruler. The left tablet is small and round. The right tablet is significantly larger and more irregular in shape. Handwritten text above reads "MEDIJ 5 SERIJA 34 AMX".	 A photograph showing two tablets on a ruler. The left tablet is small and round. The right tablet is significantly larger and more irregular in shape. Handwritten text above reads "MEDIJ 5 SERIJA 2 AMX".
MEDIJ 6 pH=3,0 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + NaCl	 A photograph showing two tablets on a ruler. The left tablet is small and round. The right tablet is significantly larger and more irregular in shape. Handwritten text above reads "MEDIJ 6 SERIJA 34 AMX".	 A photograph showing two tablets on a ruler. The left tablet is small and round. The right tablet is significantly larger and more irregular in shape. Handwritten text above reads "MEDIJ 6 SERIJA 2 AMX".

**Slika 28:** Oblika in velikost tablet s AMX serije 2 in 34 v različnih medijih po končanem 24 urnem sproščanju na napravi 2 po USP.

	SERIJA 3	SERIJA 1
MEDIJ 1 pH=3,0 (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 10 mm in diameter, and the right one is approximately 13 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 1 SERIJA 3 PF".	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 8 mm in diameter, and the right one is approximately 11 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 1 SERIJA 1 PF".
MEDIJ 2 pH=3,0 (HCl)	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 8 mm in diameter, and the right one is approximately 11 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 2 SERIJA 3 PF".	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 13 mm in diameter, and the right one is approximately 16 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 2 SERIJA 1-PF".
MEDIJ 3 pH=3,0 (HCl +NaCl)	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 13 mm in diameter, and the right one is approximately 16 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 3 SERIJA 3 PF".	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 15 mm in diameter, and the right one is approximately 18 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 3 SERIJA 1-PF".
MEDIJ 4 pH=1,2 (HCl)	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 10 mm in diameter, and the right one is approximately 13 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 4 SERIJA 3 PF".	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 13 mm in diameter, and the right one is approximately 16 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 4 SERIJA 1 PF".
MEDIJ 5 pH=1,2 (HCL + NaCl)	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 17 mm in diameter, and the right one is approximately 20 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 5 SERIJA 3 PF".	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 14 mm in diameter, and the right one is approximately 17 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 5 SERIJA 1 PF".
MEDIJ 6 pH=3,0 KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + NaCl	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 4 mm in diameter, and the right one is approximately 7 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 6 SERIJA 3 PF".	 Two white, circular tablets are shown on a ruler. The left tablet is approximately 7 mm in diameter, and the right one is approximately 10 mm. Handwritten text above them reads "MEDIJ 6 SERIJA 1PF".

**Slika 29:** Oblika in velikost tablet s PF serije 1 in 3 v različnih medijih po končanem 24 urnem sproščanju na napravi 2 po USP.

## 8 SKLEP

Ugotovili smo, da je za doseganje plovnosti tablet potreben dodatek  $\text{NaHCO}_3$ , saj tablete z laktozo niso splavale. Količina  $\text{NaHCO}_3$  v tabletah je bila ustrezna, saj v tej količini še ni deloval razgrajevalno in je ohranjal integriteto ogrodja enako kot laktoza.

Na podlagi preučevanja sproščanja PF iz tablet z laktozo in  $\text{NaHCO}_3$  lahko zaključimo, da se je iz obeh ogrodij serije 1 in serije 3 v 24 urah sprostilo 100 % PF. PF se je hitreje sproščal pri višji ionski moči medija, saj se je z dodatkom  $\text{NaCl}$  spremenila konformacija ksantana, zato so tablete manj nabrekale, gelska plast se je stanjšala, sproščanje PF pa povečalo. Sproščanje je hitreje potekalo tudi iz tablet z  $\text{NaHCO}_3$ , saj je le-ta razrahljal ksantanski gel in PF se je iz ogrodja lahko sproščal hitreje. Prav tako se je zaradi produkta reakcije  $\text{NaHCO}_3$  s kislino lokalno povečala ionska moč, ki je pospešila sproščanje. Pri zelo nizkem pH 1,2 ionska moč medija ni vplivala na sproščanje PF, saj so  $\text{COO}^-$  skupine ksantana pri pH 1,2 neionizirane, zato dodatek  $\text{NaCl}$  dodatno ni pospešil sproščanja PF. Poudariti je še potrebno, da ima na ogrodje in posledično na sproščanje PF enak vpliv zelo kisel pH 1,2 in/ali dodatek  $\text{NaCl}$ . Prav tako lahko zaključimo, da ionska moč okrog 0,2 daje enak učinek na sproščanje PF kot zelo kisel medij pH 1,2.

Na podlagi preučevanja sproščanja PF in AMX iz tablet z laktozo in  $\text{NaHCO}_3$  lahko zaključimo, da je sproščanje PF iz tablet z laktozo podvrženo spremembam v mediju, zlasti pH in dodatku  $\text{NaCl}$ . V primeru AMX pa se vpliv medija kaže v glavnem na razgradnjo in zakrije vplive na ogrodje. Ionska moč medija na sproščanje AMX nima vpliva, kar je ugodno. Vpliv  $\text{NaCl}$  na ogrodje lahko tako ocenimo iz sproščanja PF in ne iz sproščanja AMX, saj tekom sproščanja AMX stalno poteka razgradnja. Pri nizkem pH pa se AMX zelo hitro razgradi, kar se kaže v zmanjšanju koncentracije, vendar pa je koncentracija v mediju prisotnega AMX kljub razgradnji vedno nad  $\text{MIC}_{90}$  za *H. pylori* v GIT. Tako kot PF se je tudi AMX hitreje sproščal iz tablet z  $\text{NaHCO}_3$ . V 24 urah se je iz tablet sprostil ves PF, iz tablet z AMX pa se je po približno 8 urah sprostilo približno 80 % AMX, po 24 urah pa je bila izmerjena koncentracija AMX le še okrog 60 % celokupne. Razliko lahko pripišemo razgradnji AMX, ne pa neustreznemu sproščanju iz ogrodja tablet. Zaključimo lahko, da so plavajoče tablete z AMX na osnovi ksantana primerne za podaljšan čas dostave antibiotika na mesto infekcije v želodcu.

## 9 LITERATURA

1. Bardonet PL, Faivre V, Pugh WJ, Pugh JC, Piffaretti JC, Falson F: Gastroretentive dosage forms: Overview and special case of *Helicobacter pylori*. *Journal of Controlled Release* 2006; 111: 1-18
2. Streubel A, Siepmann J, Bodmeier R: Gastroretentive drug delivery systems. A review. *Expert Opinion* 2006; 3: 217-233
3. Baumgartner S: Vpliv gibanja prebavnega trakta na potovanje farmacevtskih oblik in absorpcijo učinkovin. *Farmacevtski vestnik* 2003; 54: 573-581
4. Shojaei A H, Berner B: Gastric Retentive Dosage Forms; 6: 173-201
5. Arora S, Ali J, Ahuja A, Khar RK, Baboota S: Floating Drug Delivery Systems: A Review. *Pharmaceutical Science and Technology* 2005; 6: 372-390
6. Whitehead L, Fell JT, Collett JH, Sharma HL, Smith AM: Floating dosage forms: an *in vivo* study demonstrating prolonged gastric retention. *Journal of Controlled Release* 2000; 64: 39-51
7. Chen J, Blevins WE, Park H, Park K: Gastric retention properties of superporous Hydrogel composites. *Journal of Controlled Release* 2000; 64: 39-41
8. Ishak RAH, Awad GAS, Mortada ND, Nour SAK: Preparation, *in vitro* and *in vivo* evaluation of stomach-specific metronidazole-loaded alginate beads as local anti-*Helicobacter pylori* therapy. *Journal of Controlled Release* 2007; 119: 207-214
9. Hilton AK, Deasy PB: *In vitro* and *in vivo* evaluation of oral sustained-release floating dosage form of amoxicillin trihydrate. *International Journal of Pharmaceutics* 1992; 57: 215-222
10. Tang YD, Venkatraman SS, Boey FYC, Wang Lw: Sustained release of hydrophobic and hydrophilic drugs from a floating dosage form. *International Journal of Pharmaceutics* 2007; 336, 159-165
11. Singh BN, Kim KH: Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. *Journal of Controlled Release* 2000; 63: 235-259
12. Hwang SJ, Park H, Park K: Gastric Retentive Drug Delivery Systems, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 1998; 15: 243-284

13. Rajinikanth PS, Balasubramaniam J, Mishra B: Development and evaluation of a novel floating in situ gelling system of amoxicilin for eradication of *Helicobacter pylori*. *International journal of pharmaceutics* 2007; 335: 114-122
14. Yang L, Eshraghi J, Fassihi R: A new intragastric delivery system for the treatment of *Helicobacter pylori* associated gastric ulcer: in vitro evaluation. *Journal of Controlled Release* 1999; 57: 215-222
15. Majumdar D, Bebb J, Atherton J: *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcers. *Medicine* 2007; 35; 204-209
16. Tadakazu T, Yoshiharu M: Preparation of amoxicillin intragastric buoyant sustained-release tablets and the dissolution characteristics. *Journal of Controlled Release* 2006; 110: 581-586
17. [http://www.expasy.ch/spotlight/images/sptlt05\\_1.jpg](http://www.expasy.ch/spotlight/images/sptlt05_1.jpg) (17.11.2008)
18. Rajinikanth PS, Mishra B: Floating in situ gelling system for stomach site-specific delivery of clarithromycin to eradicate *H. pylori*. *Journal of Controlled Release*. 2008; 125: 33-41
19. Gerrits MM, van Vliet AHM, Kuipers EJ, Kusters JG: *Helicobacter pylori* and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. *The Lancet Infectious Diseases*, 2006; 6: 699-709
20. Selgrad M, Malfertheiner P: New strategies for *helicobacter pylori* eradication. *Current Opinion in Pharmacology* 2008; 8; 1-5
21. Giannouli I, Morris ER: Cryogelation of xanthan. *Food Hydrocolloids* 2005; 17: 495-501
22. Rozman B, Baumgartner S, Gašperlin M: Interakcije ksantana in semenske sluzi rožičevca v vodnih sistemih. *Farmacevtski vestnik* 2005; 56: 109-114
23. Medved M: Priprava polimernih kompleksov med ksantanom in hitosanom. *Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo*, 2007
24. Bresolin TMB, Milas M, Rinaudo M, Ganter JLMS: Xanthan-galactomannan interactions as related to xanthan conformations. *International Journal of Biological Macromolecules* 1998; 23: 263-275
25. Capron I, Brigand G, Muller G: Thermal denaturation and renaturation of fermentation broth of xanthan: rheological consequences. *International Journal of Biological Macromolecules* 1998; 23: 215-225



26. Sovinc N: Prednosti sinergizma med ksantanom in semensko sluzjo rožičevca za izdelavo tablet s podaljšanim sproščanjem. Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, 2006
27. Baumgartner S, Pavli M, Kristl J: Effect of calcium ions on the gelling and drug release characteristics of xanthan matrix tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2008; 69: 698-707
28. Zibelnik T: Uporaba z aluminijevimi ioni premreženega ksantana za izdelavo tablet s podaljšanim sproščanjem. Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2006
29. Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ: *Handbook of Pharmaceutical Excipients* 4th Ed. American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press 2003; 108-111, 123-124, 297-300, 552-555, 691-693
30. *The Merck Index*, 13th Ed. Merck Publishing, ZDA 2001; 96
31. *European Pharmacopeia*, 5th Ed. strassbourg, Council of Europe 2007; 990-994
32. *The United States Pharmacopeia*, 28th Ed. United States Pharmacopeial Convention, Inc., ZDA 2005; 143-148
33. <http://en.wikipedia.org/wiki> (22.02.2010)
34. Krajnc U: Načrtovanje, izdelava in vrednotenje plavajočih tablet na osnovi ksantana. Diplomska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2007
35. Erah PO, Goddarh AF, Barrett DA, Shaw PN, Spiller RC: The stability of amoxicilin, claritromycin and metronidazole in gastric juice: relevance to the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1997; 39: 5-12
36. Nagele E, Moritz R: Structure Elucidation of Degradation Products of the Antibiotic Amoxicillin with Ion Trap MS and Accurate Mass Determination by ESI TOF. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 2005; 16: 1670-1676
37. De Baere S, De Backer P: Quantitative determination of amoxicillin in animal feed using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Analytica Chimica Acta* 2007; 586: 319-325
38. Liu H, Wang H, Sunderland VB: An isocratic ion exchange HPLC method for the simultaneous determination of flucloxacillin and amoxicillin in a pharmaceutical formulation for injection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2005; 37: 395-398

39. Reyns T, Cherlet M, De Baere S, De Backer P, Croubels S: Rapid method for the quantification of amoxicillin and its major metabolites in pig tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with emphasis on stability issues. *Journal of Chromatography* 2008; 861: 108-116
40. Črnič A: Proučevanje sproščanja amoksicilina iz dvoplastnih plavajočih tablet na osnovi ksantana. *Diplomska naloga*, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2008