

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MARKO SIMONIČ

**DIPLOMSKA NALOGA**

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2011

Univerza v Ljubljani  
Fakulteta za farmacijo



MARKO SIMONIČ

**NAČRTOVANJE IN IZDELAVA DVOSLOJNIH TABLET S ČASOVNO ODVISNIM  
PULZNIM SPROŠČANJEM TEŽKO TOPNE MODELNE ZDRAVILNE  
UČINKOVINE**

**DEVELOPMENT AND FORMULATION OF BILAYER TABLETS WITH TIME  
DEPENDENT TWO PULSE DRUG DELIVERY OF A POORLY WATER-SOLUBLE  
DRUG**

Ljubljana, 2011

Diplomsko nalogo sem opravljajal na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm.

*»Čutiti hvaležnost in je ne izraziti je kot kupiti darilo in ga nikomur ne podariti.«*

*William Arthur Ward*

*V zadovoljstvo mi je bilo sodelovati z ljudmi, ki so me s predanostjo in ljubeznijo do dela, ki ga opravljajo, motivirali in mi pomagali.*

*Za strokovno pomoč, nasvete ter usmeritve pri raziskovalnem delu in izdelavi diplomskega dela se iskreno zahvaljujem mentorju izr. prof. dr. Odonu Planinšku, mag. farm.*

*Borutu Kovačiču, mag. farm. gre velika zahvala za vso pomoč in usmerjanje pri eksperimentalnem delu ter pomoč pri številnih strokovnih vprašanjih. Prav tako bi se rad zahvalil asist. dr. Iliji Iliču, mag. farm. in asist. dr. Rok Dreu, mag. farm. za vso pomoč pri procesih tabletiranja.*

*Posebna zahvala gre mojim prijateljicam in prijateljem, ki mi polepšajo marsikateri dan, najiskrenejša zahvala pa gre vsem mojim domačim in Neži, ki vedno verjamejo vame in me vzpodbujajo, ko je to najbolj potrebno. Hvala.*

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelal pod vodstvom mentorja izr. prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm.

Marko Simonič

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

Član diplomske komisije: doc. dr. Mitja Kos, mag. farm.

**VSEBINA**

<b>KAZALO SLIK .....</b>	<b>IV</b>
<b>POVZETEK .....</b>	<b>VI</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>VII</b>
<b>SEZNAM OKRAJŠAV .....</b>	<b>VIII</b>
<b>1 UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1 TRDNE DISPERZIJE.....	1
1.1.1 <i>Magnezijev aluminometasilikat (Neusilin US2®)</i> .....	2
1.2 PRIREJNO SPROŠČANJE .....	3
1.3 PULZIRAJOČI DOSTAVNI SISTEMI, KI TEMELJIJO NA OBLOGAH ZA NADZOROVANO SPROŠČANJE.....	5
1.3.1 <i>Enoodmerne FO za nadzorovano sproščanje</i> .....	6
1.3.2 <i>Večodmerne FO za nadzorovano sproščanje</i> .....	12
1.4 OBLAGANJE TRDNIH FARMACEVTSKIH OBLIK .....	15
1.4.1 <i>Oblaganje tablet s stiskanjem</i> .....	16
1.4.2 <i>OSDRC metoda za izdelavo obloženih tablet</i> .....	17
1.4.3 <i>Parametri, s katerimi lahko vplivamo na čas zakasnjene sproščanja pri obloženih tabletah, izdelanih po metodi oblaganja s stiskanjem</i> .....	18
1.5 MODELNA UČINKOVINA .....	21
<b>2 NAMEN DELA.....</b>	<b>22</b>
<b>3 MATERIALI IN METODE .....</b>	<b>23</b>
3.1 MATERIALI .....	23
3.2 APARATURE .....	25
3.3 METODE DELA .....	26
3.3.1 <i>Vrstična elektronska mikroskopija – SEM</i> .....	26
3.3.2 <i>Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC) - termična analiza</i> .....	26
3.3.3 <i>Določanje topnosti modelne učinkovine pri različnih pH vrednostih</i> .....	26
3.3.4 <i>Izdelava trdnih disperzij</i> .....	27
3.3.5 <i>Izdelava jedrnih tablet</i> .....	27
3.3.6 <i>Izdelava obloženih tablet s stiskanjem</i> .....	28
3.3.7 <i>Izdelava dvoplastnih tablet</i> .....	28
3.3.8 <i>Vrednotenje učinkovine, trdnih disperzij, jedrnih tablet, obloženih tablet in dvoslojnih tablet</i> .....	29
<b>4 REZULTATI IN RAZPRAVA.....</b>	<b>34</b>
4.1 FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI UČINKOVINE .....	34
4.1.1 <i>Morfologija delcev</i> .....	34

---

4.1.2	<i>Topnost modelne učinkovine</i> .....	35
4.1.3	<i>Raztapljanje kristalne oblike učinkovine</i> .....	36
4.2	MORFOLOGIJA DELCEV NEUSILINA US2.....	36
4.3	IZDELAVA TRDNIH DISPERZIJ .....	37
4.3.1	<i>Termična analiza trdne disperzije</i> .....	37
4.3.2	<i>Preskus raztapljanja kristalne učinkovine, učinkovine iz trdne disperzije in fizikalne zmesi</i> ..	38
4.4	IZDELAVA JEDRNIH TABLET.....	41
4.4.1	<i>Vrednotenje jedrnih tablet</i> .....	41
4.4.2	<i>Preskus raztapljanja učinkovine iz jedrnih tablet</i> .....	42
4.5	IZDELAVA OBLOŽENIH TABLET.....	44
4.5.1	<i>Vpliv mase polimera HPC v oblogi na začetek sproščanja učinkovine iz obloženih tablet</i> .....	44
4.5.2	<i>Vpliv viskoznosti polimera HPC na začetek sproščanja učinkovine iz obloženih tablet</i> .....	45
4.5.3	<i>Vpliv sile stiskanja pri izdelavi obloženih tablet na začetek sproščanja učinkovine</i> .....	48
4.5.4	<i>Položaj jedrne tablete v obloženi tableti</i> .....	49
4.6	IZDELAVA DVOSLOJNIH TABLET.....	52
4.6.1	<i>Preskus raztapljanja učinkovine iz dvoslojnih tablet</i> .....	53
4.6.2	<i>Preskus raztapljanja učinkovine iz dvoslojne tablete v simuliranih in-vivo pogojih</i> .....	54
<b>5</b>	<b>SKLEP</b> .....	<b>56</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>58</b>

## KAZALO SLIK

SLIKA 1: <i>PRIČAKOVANO IN VITRO SPROŠČANJE (LEVO) IN PLAZEMSKÉ KONCENTRACIJE (DESNO) PULZIRAJOČIH DOSTAVNIH SISTEMOV; HITRO IN KVANTITATIVNO SPROŠČANJE PO ZAKASNITVENEM ČASU (NA VRHU), DVOPULZNO (SREDINA) IN PODALJŠANO OZ. ZADRŽANO SPROŠČANJE (NA DNU) PO ZAKASNITVENEM ČASU. ....</i>	5
SLIKA 2: <i>MEHANIZEM SPROŠČANJA UČINKOVINE IZ TABLET Z ERODIRAJOČO OBLOGO. ....</i>	6
SLIKA 3: <i>EDEN IZMED PRVIH DOSTAVNIH SISTEMOV ZA DVOPULZNO SPROŠČANJE UČINKOVINE, OBLOŽENA TRIPLASTNA TABLETA. A - UČINKOVINA ZA TAKOJŠNJE SPROŠČANJE, B - BARIERA IZ HPMC ZA KONTROLO ZAKASNJENEGA SPROŠČANJA, C - DRUGI, ZAKASNJENI PULZ SPROŠČANJA UČINKOVINE, D – ZA VODO NEPROSPUSTNA OBLOGA EC (27,28). ....</i>	7
SLIKA 4: <i>MEHANIZEM SPROŠČANJA UČINKOVINE IZ TABLET OBLOŽENIH Z OBLOGO, KI POČI (20). ....</i>	8
SLIKA 5: <i>MODEL COER-24 (20): (A) UČINKOVINA, (B) POLIMER, KI NABREKA, (C) HIDROFILNA POLIMERNA OBLOGA, (D) SEMIPERMEABILNA OSMOTSKA MEMBRANA, (E) LASERSKO ZVRTANE LUKNJE. ....</i>	9
SLIKA 6: <i>DOSTAVNI SISTEMI ZA NADZOROVANO SPROŠČANJE, KI TEMELJI NA ČEPIH. ....</i>	10
SLIKA 7: <i>SHEMATIČNI PRIKAZ PLOVAJOČEGA DOSTAVNEGA SISTEMA S PULZIRAJOČIM SPROŠČANJEM. A - PLAST ZA POVEČEVANJE VZGONA (NATRIJEV BIKARBONAT, CARBOPOL<sup>®</sup> 934P IN METHOCEL<sup>®</sup> K4M), B - OBLOGA, KI ZAGOTAVLJA ZAKASNJENO SPROŠČANJE, C - JEDRO Z UČINKOVINO ZA HITRO SPROŠČANJE (65). ....</i>	12
SLIKA 8: <i>PRIMER PELETE ZA DOSEGO DVOPULZNEGA SPROŠČANJA UČINKOVINE TER NJEN BIMODALNI PLAZEMSKI KONCENTRACIJSKI PROFIL (66). ....</i>	13
SLIKA 9: <i>SHEMATIČNI PRIKAZ IZDELAVE TABLET S STISKANJEM OBLOGE. ....</i>	16
SLIKA 10: <i>PRIKAZ IZDELAVE OBLOŽENIH TABLET Z METODO OSDRC (78). ....</i>	18
SLIKA 11: <i>VPLIV MASE HPC V OBLOGI NA ČAS ZAČETKA SPROŠČANJA UČINKOVINE (36). ....</i>	19
SLIKA 12: <i>VPLIV VIZKOZNOSTI HPC V OBLOGI NA SPROŠČANJE UČINKOVINE IZ JEDRNE TABLETE (36). ....</i>	19
SLIKA 13: <i>VPLIV SILE STISKANJA PRI IZDELAVI TABLET NA ČAS ZAČETKA SPROŠČANJA. DEBELINE STRANSKIH ROBOV OBLOGE SO BILE (○) 0 MM (BREZ OBLOGE), (●) 0.5 MM, (▲) 1.0 MM IN (■) 2.0 MM. PODATKI PRIKAZUJEJO SREDNJO VREDNOST +/- STANDARDNO DEVIACIJO (78). ....</i>	20
SLIKA 14: <i>MODELNA UČINKOVINA (81). ....</i>	21
SLIKA 15: <i>DVOPLASTNE TABLETE ZA DVOPULZNO SPROŠČANJE. ....</i>	29
SLIKA 16: <i>NAPRAVA 3 PO PH. EUR. 7<sup>TH</sup> (LEVO) IN PLOVAJOČE OBLOŽENE TABLETE V CILINDRIH MED TESTOM SPROŠČANJA (DESNO). ....</i>	32
SLIKA 17: <i>ELEKTRONSKO MIKROSKOPSKA SLIKA KRISTALNE STRUKTURE MODELNE UČINKOVINE; 10000 X POVEČAVA. ....</i>	34
SLIKA 18: <i>ELEKTRONSKO MIKROSKOPSKA SLIKA AMORFNE STRUKTURE MODELNE UČINKOVINE. ....</i>	34
SLIKA 19: <i>DSC KRIVULJI KRISTALNE IN AMORFNE OBLIKE UČINKOVINE. ....</i>	35
SLIKA 20: <i>RAZTAPLJANJE 25 MG UČINKOVINE PRI RAZLIČNIH PH (1.2, 4.5, 6.8 IN 7.4) V 250 ML MEDIJA (+ 5 G/L SDS). ....</i>	36
SLIKA 21: <i>ELEKTRONSKO MIKROSKOPSKA SLIKA NEUSILIN US2; POVEČAVA 2000 X. ....</i>	37

SLIKA 22: DSC KRIVULJE KRISTALNE OBLIKE UČINKOVINE (ČRNA KRIVULJA), UČINKOVINE V FIZIKALNI ZMESI (RDEČA KRIVULJA) IN V TD (MODRA KRIVULJA). PRI SLEDNJIH DVEH JE RAZMERJE MED UČINKOVINO IN NEUSILINOM 1:4. ....	38
SLIKA 23: RAZTAPLJANJE 25 MG KRISTALNE OBLIKE UČINKOVINE, 25 MG UČINKOVINE IZ TRDNE DISPERZIJE (TD) IN 25 MG UČINKOVINE IZ FIZIKALNE ZMESI (FZ) V 250 Ml MEDIJA PRI PH 1.2 (+ 5 G/L SDS). ....	39
SLIKA 24: RAZTAPLJANJE 25 MG KRISTALNE OBLIKE UČINKOVINE, 25 MG UČINKOVINE IZ TRDNE DISPERZIJE (TD) IN 25 MG UČINKOVINE IZ FIZIKALNE ZMESI (FZ) V 250 Ml MEDIJA PRI PH 4.5 (+ 5 G/L SDS). ....	39
SLIKA 25: RAZTAPLJANJE 25 MG KRISTALNE OBLIKE UČINKOVINE, 25 MG UČINKOVINE IZ TRDNE DISPERZIJE (TD) IN 25 MG UČINKOVINE IZ FIZIKALNE ZMESI (FZ) V 250 Ml MEDIJA PRI PH 6.8 (+ 5 G/L SDS). ....	40
SLIKA 26: RAZTAPLJANJE 25 MG KRISTALNE OBLIKE UČINKOVINE, 25 MG UČINKOVINE IZ TRDNE DISPERZIJE (TD) IN 25 MG UČINKOVINE IZ FIZIKALNE ZMESI (FZ) V 250 Ml MEDIJA PRI PH 7.4 (+ 5 G/L SDS). ....	40
SLIKA 27: RAZTAPLJANJE 25 MG UČINKOVINE IZ 125 MG TD IN 125 MG FZ TER JEDRNIH TABLET IZDELANIH IZ TD IN FZ V 250 Ml MEDIJA PRI PH 1.2 (+ 5 G/L SDS). ....	43
SLIKA 28: RAZTAPLJANJE 25 MG UČINKOVINE IZ 125 MG TD IN 125 MG FZ TER JEDRNIH TABLET IZDELANIH IZ TD IN FZ V 250 Ml MEDIJA PRI PH 4.5 (+ 5 G/L SDS). ....	43
SLIKA 29: VPLIV RAZLIČNIH MAS OBLOGE NA ČAS ZAKASNITVE SPROŠČANJA UČINKOVINE V OBLOŽENI TABLETI V FOSFATNEM MEDIJU S PH 6.8 (+ 5 G/L SDS). ....	45
SLIKA 30: SPROŠČANJE 25 MG UČINKOVINE IZ JEDRNIH TABLET, OBLOŽENIH S 350 MG POLIMERA HPC EF, HF IN MF V FOSFATNEM PUFRU S PH 6.8 (+5 G/L SDS) ....	46
SLIKA 31: ODVISNOST ČASOV ZAKASNITVE SPROŠČANJA UČINKOVINE IZ OBLOŽENIH TABLET (MASA OBLOGE 350 MG) OD VISKOZNOSTI POLIMERA HPC. ....	46
SLIKA 32: VPLIV SILE STISKANJA NA ZGORNJEM PEČATU NA SPROŠČANJE UČINKOVINE IZ OBLOŽENIH TABLET V FOSFATNEM PUFRU S PH 6.8 (+ 5 G/L SDS). ....	49
SLIKA 33: POVPREČJE MERITEV PETIH S HPC EF OBLOŽENIH TABLET, MASA OBLOGE JE 500 MG: POVPREČNI PREMER IN VIŠINA OBLOŽENE TABLETE TER DEBELINA OBLOGE OKROG JEDRNE TABLETE. ....	50
SLIKA 34: JEDRNA TABLETA V SREDINI, OBLOŽENA S 500 MG POLIMERA HPC EF TER DEBELINE OBLOGE: ZGORAJ, SPODAJ TER NA DESNI IN LEVI. ....	51
SLIKA 35: RAZTAPLJANJE 2 KRAT PO 25 MG UČINKOVINE IZ TD IN 2 KRAT PO 25 MG UČINKOVINE IZ FZ IZ DVOSLOJNIH TABLET V MEDIJIH S PH 1.2 IN 6.8 (+ 5 G/L SDS). RAZTAPLJANJE JE BILO IZVEDENO NA APARATURI BIODIS (NAPRAVA 3 PO PH. EUR. 7 <sup>TH</sup> ). ....	54
SLIKA 36: SPROŠČANJE 2 KRAT PO 25 MG UČINKOVINE IZ DVOSLOJNIH TABLET PRI SIMULIRANIH POGOJIH »NA TEŠČE« IN »PO JEDI«. RAZTAPLJANJE JE BILO IZVEDENO NA APARATURI BIODIS (NAPRAVA 3 PO PH. EUR. 7 <sup>TH</sup> ). ....	55

## POVZETEK

Med novimi zdravilnimi učinkovinami je veliko takih, ki so težko topne. Raztapljanje učinkovine pa je poleg njene permeabilnosti pomemben parameter, ki vpliva na biološko uporabnost. Ena izmed metod za povečanje topnosti in hitrosti raztapljanja učinkovine je izdelava trdne disperzije z uporabo poroznih pomožnih snovi. Poleg izboljšanja raztapljanja lahko izdelamo tudi različne dostavne sisteme s prirejenim sproščanjem, npr. sistemi z zakasnjanim in/ali pulznim sproščanjem učinkovine v gastrointestinalnem traktu.

Namen našega dela je bila izdelava trdnih disperzij z metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku, pri čemer smo kot porozni nosilec uporabili Neusilin US2<sup>®</sup>. Iz trdnih disperzij in pomožnih snovi smo nato izdelali jedrne tablete. Te smo obložili po metodi oblaganja s stiskanjem s polimerom hidroksipropil celuloze (HPC) in dobili obložene tablete. Končni izdelek pa so bile dvoslojne tablete, ki smo jih izdelali tako, da smo na ravno površino obloženih jedrnih tablet stisnili še plast trdne disperzije.

S termično analizo smo vrednotili lastnosti čiste kristalne oblike učinkovine ter učinkovine vgrajene v trdno disperzijo in fizikalno zmes z Neusilinom. Lastnosti raztapljanja kristalne oblike učinkovine ter raztapljanja učinkovine iz trdne disperzije, fizikalne zmesi, jedrnih, obloženih in dvoslojnih tablet pa smo vrednotili s preskusom raztapljanja. Izvedli smo ga v štirih različnih medijih s pH 1.2, 4.5, 6.8 ter 7.4, s čimer smo simulirali prehod formulacij skozi gastrointestinalni trakt. Ugotovili smo, da se učinkovina iz trdne disperzije raztaplja bolje in hitreje kot njena čista oblika v vseh štirih medijih. Predvsem je pomembno, da smo z vgraditvijo učinkovine v trdno disperzijo njeno topnost pri pH 7.4 povečali z manj kot 2% (čista učinkovina) na 92%.

Z izdelavo dvoslojnih tablet smo izdelali dvopulzni dostavni sistem. Ta omogoča hitro sprostitve celotne količine prvega odmerka učinkovine ter po določenem zakasnitvenem času še hitro sprostitve drugega odmerka učinkovine. Potrdili smo, da je s spreminjanjem mase polimera v oblogi, tipa polimera in sile pri oblaganju s stiskanjem možno načrtovati čas zakasnitve sproščanja v območju od 1 do 24 ur.

Iz tako izdelanih tablet bi lahko sledil razvoj zdravil, ki bi zmanjšali frekvenco njihovega jemanja z dvakrat na enkrat dnevno in s tem boljšo sprejemljivost zdravljenja pri pacientih. Izdelava takih sistemov omogoča tudi uporabo manjšega odmerka zdravilne učinkovine v zdravilu zaradi izboljšanja njene biološke uporabnosti.



---

**ABSTRACT**

Many newly developed active substances exhibit poor aqueous solubility. Two important parameters that affect bioavailability of the active substance are its solubility characteristics and permeability. Dispersing active substances in solid dispersions is one way to improve solubility and rate of dissolution of active substances. Solid dispersions can be used to produce delivery systems with modified release such as systems with delayed or pulsatory release of active substance in gastrointestinal tract.

Our goal was to develop solid dispersions by using porous magnesium aluminometasilicate Neusilin US2<sup>®</sup> with the method of solvent evaporation. Core tablets were then prepared from solid dispersions and disintegrators as excipients. We coated these core tablets with hydroxypropyl cellulose (HPC) by using the press-coating method. Finally we added the second layer for quick release of the active substance to the coated core tablets and produced bilayer tablets.

By using differential scanning calorimetry we evaluated the properties of pure crystalline active substance, active substance from solid dispersion and physical mixture. Dissolution properties of crystalline active substance and the ones from solid dispersions, physical mixtures and all the tablets were observed by using dissolution tests. We carried these tests in acid with pH 1.2 and phosphate buffer with pH levels of 4.5, 6.8 and 7.4 to simulate a transition of formulations through the gastrointestinal tract. Results showed that by producing solid dispersions the rate of dissolution and solubility of active substance is greatly improved when compared with pure crystalline active substance. Most importantly 92% of active substance from solid dispersion dissolved at pH 7.4 when compared with only 2% of pure crystalline active substance dissolved at this pH.

By using HPC polymer to produce coated tablets we designed a formulation that is a time-dependant system which means that solubility characteristics are not affected by a change of pH value. We also managed to effectively modulate the lag time of coated tablets by changing the mass of polymer in the coating, selecting different types of HPC polymer in the coating and varying the pressure when press-coating the core tablets.

In the end we designed bilayer tablets that are a two pulse time-dependent delivery system. This formulation enables quick first pulse release of active substance. After the pre-programmed lag time quick release of second pulse follows. Such formulation would improve the compliance of patients and drugs bioavailability by decreasing the frequency of administration and dose size regarding registered medicine.

---

**SEZNAM OKRAJŠAV**

CMC	karboksimetil celuloza
DSC	diferenčna dinamična kalorimetrija
EC	etil celuloza
FO	farmacevtska oblika
FZ	fizikalna zmes
GIT	gastrointestinalni trakt
HEC	hidroksietil celuloza
HPC	hidroksipropil celuloza
HPMC	hidroksipropil metilceluloza
OSDRC	v enem koraku obložene tablete po metodi suhega oblaganja (one-step dry-coated tablets)
PEO	polietilenoksid
PVP	polivinilpirolidon
SEM	vrstični elektronski mikroskop
SDS	natrijev dodecil sulfat
TD	trdna disperzija
TES	time-controlled explosion system
THF	tetrahidrofur

## 1 UVOD

Peroralna aplikacija zdravil že dolgo velja za najbolj priročno in je daleč najbolj uporabljana zaradi enostavnosti apliciranja. Pri izdelavi niso potrebni aseptični pogoji (1). Čeprav je peroralna pot zaželena, je za mnoge učinkovine problematična. Bistven problem je omejena absorpcija učinkovine, ki se odraža v nizki biološki uporabnosti. Glavna dejavnika, ki na to vplivata, sta slaba topnost v vodi in/ali slaba permeabilnost molekule učinkovine skozi membrane. Po peroralni poti se mora učinkovina najprej raztopiti v mediju želodca ali intestinalni tekočini, da lahko pride do njene absorpcije in doseže sistemski krvni obtok. Zato je farmacevtsko raziskovanje osredotočeno predvsem na dve področji: povečati topnost in hitrost raztapljanja težko topnih učinkovin in povečati permeabilnost slabo permeabilnih učinkovin (2).

Topnost zdravilne učinkovine lahko izboljšamo s povečanjem površine delcev tako, da zmanjšamo njihovo velikost, pa tudi z optimizacijo močljivosti površine, z zagotovitvijo »sink« pogojev in z izboljšanjem navidezne topnosti v fizioloških razmerah. Tudi jemanje farmacevtske oblike s hrano lahko izboljša hitrost raztapljanja in hkrati podaljša čas za raztapljanje učinkovine. Vendar pa najbolj zanimivo možnost verjetno predstavlja izboljšanje topnosti z različnimi formulacijskimi pristopi (3). Izdelava in načrtovanje trdnih disperzij je ena od najbolj uspešnih strategij za izboljšanje raztapljanja težko topnih zdravilnih učinkovin (4).

### 1.1 TRDNE DISPERZIJE

Izraz »trdne disperzije« se nanaša na trdne snovi, ki vsebujejo najmanj dve različni komponenti, običajno hidrofilno ogrodje in hidrofobno učinkovino. Ogrodje je v kristalni ali amorfni obliki, učinkovina pa je lahko dispergirana molekularno, v obliki amorfne delcev ali v obliki kristalnih delcev (2). Med pomožno snovjo (nosilcem) in zdravilno učinkovino lahko pride do različnih interakcij, pri čemer nastanejo različne strukture: enostavna evtektična zmes, trdna raztopina, amorfna raztopina in amorfna suspenzija, amorfni precipitat v/na kristalnem nosilcu, kompleksna spojina ali kombinacije naštetih struktur (5).

Prednost nastanka trdne disperzije je lahko zmanjšanje velikosti delcev, tako se površina le teh poveča in s tem hitrost raztapljanja ter biološka uporabnost. Ob uporabi nosilcev s površinsko aktivnostjo pa se poveča močljivost učinkovine (2). Slabo topne

učinkovine so po navadi bolj topne v amorfni kot v kristalni obliki, saj tu ni potrebna energija za razpad kristalne rešetke pri procesu raztapljanja. Za ta namen se uporabljajo nosilci, ki specifično interagirajo z učinkovino za nastanek amorfne zmesi (2).

Pri izbiri vodotopnega nosilca so pomembni naslednji kriteriji: dobra topnost v vodi, relativno visoka temperatura steklastega prehoda, minimalna sorpcija vode, topnost v različnih topilih hkrati z učinkovino, relativno nizko tališče ter zmožnost tvorbe trdne disperzije z učinkovino (4).

Med v vodi netopnimi nosilci najpogosteje uporabljamo porozne materiale. To so trdne snovi z nizko gostoto in veliko specifično površino, na katero se adsorbira učinkovina. Glede na IUPAC nomenklaturu delimo porozne materiale glede na velikostni razred por na mikroporozne z velikostjo por med 0,3 in 2 nm, mezoporozne s porami dimenzij med 2 in 50 nm ter makroporozne s porami velikosti nad 50 nm. Mezoporozni nosilci v vodi ne nabrekajo in omogočajo funkcionalizacijo površine z najrazličnejšimi spojinami. Zanimivi so zlasti kot ogrodje za vgrajevanje učinkovin in obetajo širok nabor možnosti nadziranja sproščanja ter izboljšanja raztapljanja slabo topnih učinkovin (6). Med netopne porozne pomožne snovi spadajo: porozni silicijev dioksid (npr. Sylysia<sup>®</sup>), polipropilenska pena v prahu (npr. Accurel<sup>®</sup>), porozni kalcijev silikat (npr. Florite<sup>®</sup>), magnezijev aluminometasilikat (npr. Neusilin<sup>®</sup>), porozna keramika in porozno silikatno steklo (7).

### **1.1.1 Magnezijev aluminometasilikat (Neusilin US2<sup>®</sup>)**

Neusilin US2<sup>®</sup> (v nadaljevanju Neusilin) je v obliki granul. Njihova povprečna velikost je od 44 do 177  $\mu\text{m}$ , povprečna velikost por pa 15 nm. Kemijsko je snov sestavljena iz magnezijevega oksida, aluminijevega oksida in silicijevega dioksida. Ima veliko specifično površino, je zelo porozen ter ima veliko kapaciteto adsorpcije olja in vode. Neusilin je komercialno na voljo v različnih oblikah, ki variirajo v nasipni gostoti, vsebnosti vode in obliki delcev (8, 9).

Kot mnogi kompleksni silikati vsebuje v svoji strukturi različne silanolne skupine, ki se lahko potencialno obnašajo kot proton donorske skupine ali proton akceptorske ter tako reagirajo z učinkovino. Neusilin je praktično netopen v vodi, pH 4 % (w/v) raztopine v vodi pa je 7,4, kar kaže na nevtralne lastnosti. Vendar pa titracijske krivulje kažejo lastnosti univerzalnega pufra, kjer se OH skupine lahko vežejo s Si, Mg in Al in imajo tako različno kislinsko ali bazično moč (9).

Sintetični aluminometasilikat so uporabili pri mnogih študijah, večinoma kot nosilec v trdnih disperzijah za izboljšanje raztapljanja učinkovin, za granulacijo oljnih pripravkov ter za povečanje stabilnosti formulacij (10).

Bahl in Bogner sta raziskovala učinek Neusilina na amorfizacijo indometacina med mletjem obeh komponent. Opisala sta interakcije med indometacinom in površino Neusilina, ki so stabilizirale fizikalno stabilnost amorfne učinkovine. Izkazalo se je, da bi lahko bil proces mletja potencialna strategija za izdelovanje fizikalno stabilnega indometacina v amorfni obliki (11). Podobne rezultate je dobil Gupta s sodelavci, ki so fizikalno stabilizirali amorfno obliko ketoprofena, indometacina, naproksena in progesterona z mletjem z Neusilinom (12).

## 1.2 PRIREJNO SPROŠČANJE

Farmacevtske oblike s prirejenim sproščanjem so tiste, pri katerih se hitrost in mesto sproščanja zdravilne učinkovine oz. zdravilnih učinkovin razlikuje od hitrosti ali mesta sproščanja pri FO s takojšnjim sproščanjem, ki jih apliciramo na isti način. Prirejeno sproščanje omogoča posebna sestava, posebna FO ali poseben postopek njene izdelave. FO s prirejenim sproščanjem vključujejo oblike s podaljšanim sproščanjem, oblike z zakasnelim sproščanjem in oblike s pulzirajočim sproščanjem. Razlike naštetih FO od tistih s takojšnjim sproščanjem, ki jih apliciramo po isti poti, so:

- *FO s podaljšanim (zadržanim) sproščanjem* so tiste, ki upočasnjeno sproščajo zdravilno učinkovino oz. zdravilne učinkovine,
- *FO z zakasnelim sproščanjem* imajo časovno zamaknjeno prirejeno sproščanje zdravilne učinkovine oz. zdravilnih učinkovin,
- *FO s pulzirajočim sproščanjem* imajo prirejeno sproščanje zdravilne učinkovine oz. zdravilnih učinkovin v časovnih presledkih.

Zadnje študije poročajo, da je za učinkovito terapijo nekaterih bolezni zelo pomemben ustrezen čas apliciranja zdravilne učinkovine. Znano je, da časovni ritmi telesnih funkcij vplivajo ne samo na pogostost in resnost bolezenskega stanja, pač pa tudi na farmakokinetiko in farmakodinamiko večine bioloških zdravilnih učinkovin (13, 14). Veliko funkcij človeškega telesa skozi dan precej niha. Npr., nekateri hormoni se sproščajo iz možganov podnevi, drugi ponoči. Krvni tlak in utrip srca sta najvišja med 6. uro zjutraj in 12. uro (15). Poleg tega bolezni, kot so astma, ulkus, artritis in druge, s svojimi

simptomi sledijo cirkadianemu ritmu (16). Simptomi osteoartritisa se poslabšujejo skozi dan in so najbolj moteči zvečer, po drugi strani pa je bolečina pri revmatoidnem artritisu najhujša zjutraj in se postopoma zmanjšuje čez dan. Epidemiološke študije so pokazale, da je nevarnost za miokardni infarkt in možgansko kap najvišja zjutraj (17).

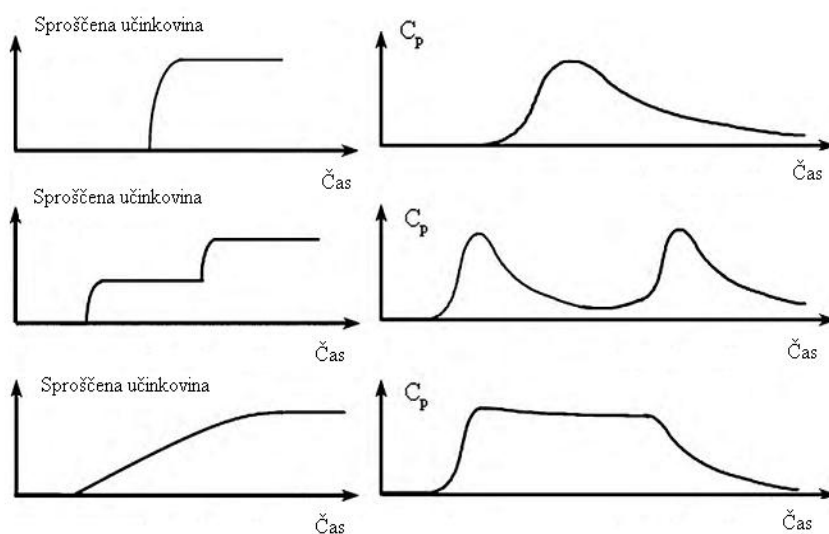
V skladu s temi spoznanji se je razvila kronoterapija, to je metoda zdravljenja, pri kateri je in vivo plazemska koncentracija učinkovine ustrezno usklajena z ritmom bolezni z namenom optimalnega izida terapije ob minimalnih stranskih učinkih.

Cilj pri izdelavi dostavnih sistemov za peroralno uporabo, ki se bodo uporabljali pri kronoterapiji, so formulacije, ki zadostijo terapevtskim potrebam posameznih patoloških stanj. Za doseg namena kronoterapije se tako razvijajo farmacevtske oblike z načrtovanim časom zakasnitve sproščanja zdravilne učinkovine (angl. lag time) (18, 19). V literaturi se za tak način sproščanja učinkovine uporablja izraz pulzno in/ali zakasnjeno sproščanje. Različni profili sproščanja po zakasnjem času so prikazani na sliki 1.

Primeri, kjer ima zdravilo s prirejenim sproščanjem izjemen pomen, so:

- farmacevtske oblike namenjene terapiji različnih kroničnih bolezni, kjer se simptomi pojavljajo ponoči ali zgodaj zjutraj (bronhialna astma, kardiovaskularne bolezni, revmatoidni artritis, prezgodnje prebujanje) (20),
- peroralna aplikacija zdravil s tarčnim ciljanjem v kolon, kar zagotovimo z zakasnjnim sproščanjem učinkovine pri zdravljenju vnetih črevesnih bolezni, kot so Crohnova bolezen ter ulcerativni kolitis in pri preprečevanju nastanka kolorektalnega adenokarcinoma (21, 22),
- izogib toleranci zdravila, ki se pojavi ob dolgotrajnem konstantnem vnosu učinkovine v organizem,
- pulzirajoče sproščanje antibiotikov, ki lahko zmanjša obseg nastajanja rezistentnih bakterijskih sevov in izboljšalo terapijo infekcijskih bolezni (23),
- zamenjava odmerjanja učinkovin ki niso primerne za podaljšano sproščanje, npr. zaradi učinka prvega prehoda ali razvoja tolerance večkrat na dan z enkrat na dan,
- aplikacija učinkovine z zakasnjnim sproščanjem v kombinaciji z učinkovino s takojšnjim sproščanjem omogoča hkratno aplikacijo dveh učinkovin, ki vstopata v interakcije.

Proces sproščanja učinkovine s pulzirajočim/zakasnjnim mehanizmom se začne kot odgovor na zunanje signale (npr. kemični, termični, električni ali magnetni signal), kamor lahko prištejemo spremembo pH medija ali pa ta proces regulirajo inherentni mehanizmi, kot je to pri časovno odvisnih sistemih, katerih delovanje je neodvisno od različnih fizioloških spremenljivk (npr. pH, ionska moč, T). Po začetni fazi, ki je lahko različno dolga in ko ni sproščanja učinkovine, se ta nato lahko v celoti sprosti zelo hitro, s ponavljajočim ali podaljšanim vzorcem sproščanja (20).



**Slika 1:** Pričakovano *in vitro* sproščanje (levo) in plazemske koncentracije (desno) pulzirajočih dostavnih sistemov; hitro in kvantitativno sproščanje po zakasnitvenem času (na vrhu), dvopulzno (sredina) in podaljšano oz. zadržano sproščanje po zakasnitvenem času.

Na voljo je mnogo načinov za izdelavo FO s prirejenim sproščanjem, npr. filmsko obložene pelete, tablete ali kapsule pa tudi bolj sofisticirani in zapleteni sistemi, kot so osmotske črpalke, sistemi kontrolirani z mehanizmom ionske izmenjave, sistemi, ki vsebujejo tehnologijo tridimenzionalnega tiskanja idr..

### 1.3 PULZIRAJOČI DOSTAVNI SISTEMI, KI TEMELJIJO NA OBLOGAH ZA NADZOROVANO SPROŠČANJE

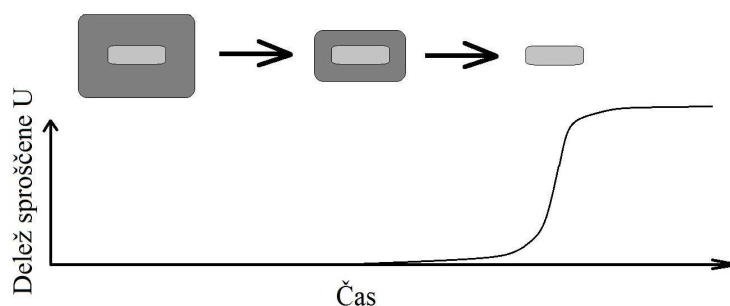
FO za nadzorovano sproščanje učinkovine ponavadi gradijo jedro ali jedra z učinkovino in obloge različnih dimenzij in sestave, katerih namen je zagotoviti začetek

različnih profilov sproščanja učinkovine po določenem času. Jedro je lahko ena enota z vso učinkovino (enoodmerne FO) ali pa jedro sestavlja več manjših enot, v katerih je povsod enak delež učinkovine (večoodmerne FO). Poleg jedra in obloge lahko FO sestavljajo še druge komponente, npr. plast učinkovine za takojšnje hitro sproščanje (24), plast za povečanje vzgona (25, 26) idr..

### 1.3.1 Enoodmerne FO za nadzorovano sproščanje

#### 1.3.1.1 Obloge, ki erodirajo in/ali nabrekajo

Gre za hidrofilne polimerne obloge primernih debelin (19). Ko jih izpostavimo vodnemu mediju, pride do nabrekanja ter erozije, kar povzroči zakasnen začetek sproščanja učinkovine iz jedrne formulacije. Čas zakasnitve lahko nadziramo z izbiro ustreznega polimera, ki ga na jedro nanese v ustrezno debeli oblogi. Za ta namen se največ uporabljajo hidrofilni celulozni derivati, kot so hidroksipropil metilceluloza (HPMC), hidroksietil celuloza (HEC) in hidroksipropil celuloza (HPC). Vsi naštetih polimeri so namreč znani po svoji varnosti za uporabo in po številnih področjih uporabe v farmaciji.

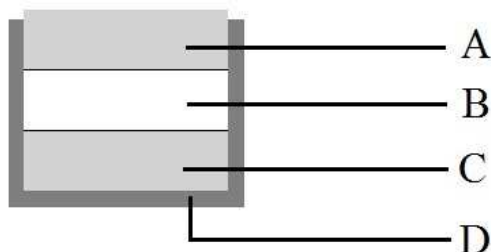


**Slika 2:** *Mehanizem sproščanja učinkovine iz tablet z erodirajočo oblogo.*

Eden prvih sistemov s hidrofilnim celuloznim etrom za doseg pulzirajočega sproščanja je bila triplastna tableta, ki je vsebovala dve plasti s hitrim sproščanje učinkovine, med katerima pa je bila plast HPMC za doseg zakasnenega sproščanja drugega dela odmerka (27, 28). Vse tri plasti so bile obložene z vseh strani z etil celulozo, ki je za vodo nepropustna, razen z ene, kot je prikazano na sliki 3. S te strani se je ob stiku z vodo učinkovina takoj sprostil in povzročila prvi pulz. Nato je prišlo do erozije vmesne plasti HPMC, ki je delovala kot bariera, po določenem času pa je vodni medij prišel še do druge plasti z učinkovino in sprostil se je drugi pulz učinkovine. Z ustreznim načrtovanjem



debeline vmesne plasti HPMC je bilo tako možno dobiti poljubne zakasnitvene čase med dvema pulzoma.



**Slika 3:** Eden izmed prvih dostavnih sistemov za dvopulzno sproščanje učinkovine, obložena triplastna tableta. A - učinkovina za takojšnje sproščanje, B - bariera iz HPMC za kontrolo zakasnjene sproščanja, C - drugi, zakasneni pulz sproščanja učinkovine, D – za vodo neprospustna obloga EC (27,28).

Iz te tehnologije je sledil razvoj sistema Chronotropic™, ki je bil načrtovan za enopulzno kronoterapevtsko uporabo in za tarčno ciljanje kolona. Ta je bil zasnovan kot jedro z učinkovino, ki je bilo popolnoma obdano z HPMC. S spreminjanjem debeline obloge, viskoznosti polimera ter spreminjanjem razmerja komponent v zmesi visoko- in nizkoviskoznih tipov HPMC v oblogi je bilo moč dobiti različne zakasnitvene čase (29, 30). Oblaganje funkcionalnega HPMC so izvedli bodisi z oblaganjem s stiskanjem bodisi z oblaganjem z razprševanjem (31, 32). Za namene oblaganja s stiskanjem je bila preučevana tudi kombinacija viskoviskoznega HPMC in polivinilpirolidona (PVP). Čas zakasnitve se je podaljševal z večanjem deleža HPMC v oblogi (33).

Za oblaganje s stiskanjem so uporabljali tudi HEC in HPC. In vitro ter in vivo zakasnitveni časi so bili prav tako funkcija debeline obloge in viskoznosti polimerov, uporabljenih v oblogi (34, 35, 36). Ko je bilo nizkoviskoznemu HPC dodan še gliceril behenat, je nastala erodibilna obloga, ki je omogočala pri tabletah, obloženih s stiskanjem, doseglo ponovljivih zakasnitvenih časov. Ti so naraščali s povečevanjem deleža gliceril behenata v oblogi.

Poleg naštetih celuloznih polimerov so bili za oblaganje s stiskanjem do sedaj raziskani tudi nekateri drugi hidrofilni polimeri, ki nabrekajo. Tako je bilo npr. pokazano, da obloge iz prahov laktoze, ki jim dodamo komplekse alginata in hitozana, vzdržijo nekajurni stik s kislim medijem in omogočijo zakasnjeno sproščanje učinkovine v mediju s

pH 6.8. (37). Čas zakasnitve je odvisen od količine hitozana v oblogi in stopnje njegove deacetilacije.

Za oblaganje s stiskanjem so raziskovali tudi polimera polietilen oksid (PEO) in polietilen glikol (PEG) 6000 (38, 39). Dostavni sistem Syncrodose™ pa sestavlja jedrna tableta z učinkovino, ki je obložena s kombinacijo različnih polisaharidov.

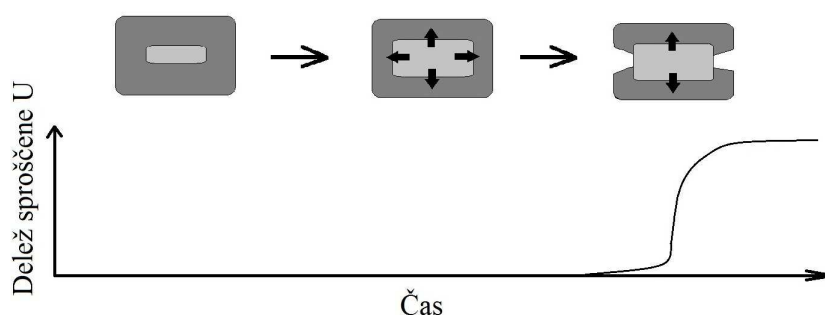
V nasprotju z dosedaj naštetimi dostavnimi sistemi, katerih obloge so bile hidrofilni polimeri, je obloga sistema Time-Clock® sestavljena iz naravnih voskov in surfaktantov (40). Oblogo, ki vsebuje učinkovino, na tabletna jedra nanese s metodo oblaganja z razprševanjem z uporabo vodnega medija.

### 1.3.1.2 Sistemi z oblogo, ki počí

Časovno programirano sproščanje učinkovine lahko dosežemo z izdelavo obloge, ki počí (20). Obloge so ponavadi zmerno ali slabo prepustne za vodo, sestavljene iz v vodi netopnih polimerov. Pogosto tem polimerom dodajo še tvorilce por in/ali mehčala. Obloga počí po tem, ko se jedru dovolj poveča volumen, kar je lahko posledica naslednjih dejavnikov:

- ❖ hidratacije polimera v jedru, ki nabreka,
- ❖ z osmozo povzročene vstopa vode v jedro ali
- ❖ nastanka plinov v jedru (npr. CO<sub>2</sub>, ki nastane iz NaHCO<sub>3</sub>).

Začetek sproščanja učinkovine iz takšnih sistemov lahko reguliramo z debelino obloge, modificiranjem sestave jedra in obloge ter trdoto jedrne tablete (20).



**Slika 4:** *Mehanizem sproščanja učinkovine iz tablet obloženih z oblogo, ki počí (20).*

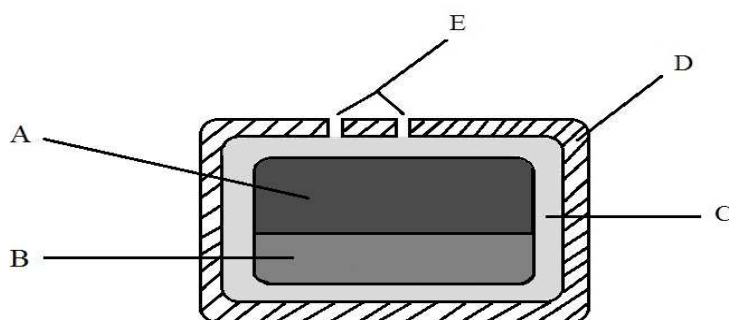
Primer takega sistema je sestavljen iz natrijeve »croscarmeloze« (Ac-Di-Sol®), ki so jo izbrali kot pomožno snov, ki nabreka, in jo vgradili med notranje jedro z učinkovino in zunanjo oblogo polimera, ki počí (41, 42, 43, 44). Za primerno zunanjo oblogo se je

izkazala etil celuloza (EC), ki ji je bila primešana še HPMC za tvorbo por (41, 43). Daljši čas zakasnitve so dobili pri povečanju debeline obloge ali pri zmanjševanju količine pomožnih snovi za tvorjenje por, krajši čas zakasnitve sproščanja učinkovine pa s povečevanjem količine pomožne snovi v jedru, ki nabreka (npr. HPMC, natrijev alginat, polivinil alkohol) (45), ima osmozno delovanje (46, 47) ali pa povzroči nastanek CO<sub>2</sub> v jedru tablete (48). Velja omeniti, da ima na čas zakasnitve sproščanja učinkovine vpliv tudi velikost delcev polimera v oblogi; večji delci so namreč povezani z večjo poroznostjo, posledica tega pa je povečana permeabilnost obloge (20).

Kot alternativa za EC se za doseg pulzirajočega sproščanja lahko kot zunanjo oblogo uporabimo tudi zmes Eudragita<sup>®</sup> RS in Eudragita<sup>®</sup> RL (49). Taka akrilna membrana je zaradi pozitivno nabitih kvarternih amonijevih skupin permeabilna za vodo. Ko se volumen jedra tablete, obložene s tem polimeroma, poveča v zadostni meri, se v oblogi pojavijo razpoke, kar omogoči sproščanje učinkovine. Ustrezen čas zakasnitve sproščanja dosežemo s spreminjanjem debeline obloge in količine pomožnih snovi v jedru.

### 1.3.1.3 Dostavni sistemi, ki temeljijo na osmozi

Razvoj osmzne črpalke se je začel z namenom doseči formulacijo za enkrat dnevno apliciranje. Sproščanje učinkovine bi se iz takega sistema začelo po vnaprej točno določenem času in bi imelo podaljšan profil (50). Raziskovalci so izdelali COER-24 sistem (slika 5), ki je sledil OROS<sup>®</sup> Push-Pull<sup>™</sup> tehnologiji. V skladu z njo je COER-24 sistem zgrajen iz dvodelne jedrne tablete, ki vsebuje predel z učinkovino, drugi del pa je ekspandirajoči polimerni predel. Jedro je v celoti obloženo s polprepustno filmsko oblogo, v kateri so lasersko zvrtnane odprtine, ki povezujejo jedro tableto z zunanjim medijem. Med jedro tableto in zunanjo oblogo pa je še vmesna plast hidrofilne obloge, katere namen je doseči zakasnitev sproščanja učinkovine.

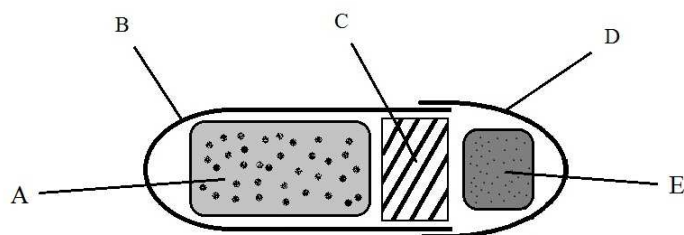


**Slika 5:** Model COER-24 (20): (A) učinkovina, (B) polimer, ki nabreka, (C) hidrofilna polimerna obloga, (D) semipermeabilna osmotska membrana, (E) lasersko zvrtnane luknje.

Po vdoru medija skozi odprtine v zunanji oblogi (E na sliki 5) ter prehajanja medija skozi semipermeabilno membrano (D) v notranjost tablete pride do erozije vmesne hidrofilne plasti (C). Ta preprečuje takojšen začetek sproščanja učinkovine iz jedrne tablete. Učinkovina se prične sproščati po vnaprej določenem času, ko je erozija vmesne plasti dovolj velika. Vdor vode v jedrno tableto povzroči, da se učinkovina raztopi, poleg tega pa se začne tudi nabrekanje polimera (B) v jedrni tableti. Rezultat vsega tega je konstantno počasno sproščanje učinkovine skozi odprtine v zunanji oblogi (50).

#### **1.3.1.4 Dostavni sistemi za nadzorovano sproščanje, ki vsebujejo čep**

Opisanih je bilo mnogo sistemov v obliki kapsul s čepi, s katerimi je možno doseči pulzirajoče sproščanje. Telo takih kapsul je obloženo s polprepustno ali nepropustno oblogo (B na sliki 6), pokrov kapsule (D) pa je iz želatine. Princip sproščanja učinkovine je, da se v vodnem mediju najprej raztopi želatinast pokrov kapsule. Zatem lahko sledi takojšne sproščanje učinkovine (E) ali pa tudi ne, odvisno, ali je ta v pokrovu. Ker je telo kapsule obloženo z neprepustno ali polprepustno oblogo, je profil sproščanja učinkovine (A), ki je v notranjosti kapsule, odvisen od vrste čepa na vrhu kapsule (C), ki za določen čas onemogoča vstop medija v notranjost kapsule. Ta se po določenem času odstrani zaradi nabrekanja, erozije ali raztapljanja. Primer je Pulsincap<sup>®</sup> sistem, ki je zaprt s čepom, ki nabreka. V stiku z medijem čep nabrekne in se po določenem času samodejno izpodrine ter tako sprosti učinkovino v obliki pulza.



**Slika 6:** Dostavni sistemi za nadzorovano sproščanje, ki temelji na čepih.

**Preglednica I:** Možne sestave dostavnih sistemov za nadzorovano sproščanje, ki vsebujejo čep.

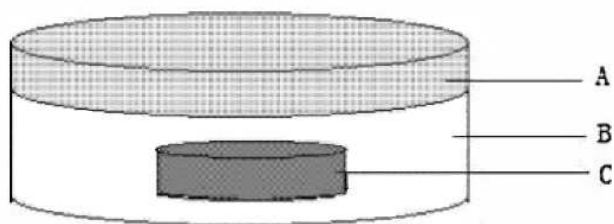
Legenda		Reference	
A	Učinkovina, dodane lahko tudi pomožne snovi (osmotsko aktivne, efervescentne, nabrekajoče)		
B	Telo kapsule:	Neprepustno	51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61
		Polprepustno	62, 63
C	Čep za nadzor sproščanja:	Nabrekajoč	52, 54, 60
		Nabrekajoč/ erodibilen	51, 53, 55, 56, 57, 58, 59, 61
		Hidrofoben	62, 63
D	V vodi topna kapsularna "kapa"		
E	Tu je lahko učinkovina za takojšnje sproščanje ali pa tudi ne	62, 63	

### 1.3.1.5 Plavajoči dostavni sistemi

V skladu z najnovejšimi zahtevami kronoterapije je zaželena izdelava takih FO, ki omogočajo poljubno hitro sprostitve celotne količine učinkovine po vnaprej določenem času (33, 42, 44, 64). Vendar pa je težava takih sistemov v tem, da bi se morali dovolj dolgo zadrževati v želodcu. Zaradi variabilnosti prehoda enake FO skozi želodec različnih oseb ta čas ni vedno enak. Posledica tega je »in vivo« variabilnost ter težave z biološko uporabnostjo učinkovine (65). Rešitev je lahko izdelava sistemov, ki omogočajo podaljšan čas zadrževanja farmacevtske oblike v želodcu. Sem prištevamo bioadhezivne in mukoadhezivne sisteme, hitro nabrekajoče sisteme, sisteme, ki tvorijo različne geometrijske oblike, superporozne hidrogelne ter plavajoče sisteme (25).

Plavajoči sistemi so FO, ki imajo nizko gostoto in dovolj vzgona, da lebdi v vsebini želodca ter ostanejo v njem daljši čas. Uporabljamo jih za počasno sproščanje

učinkovine v želodcu pri želeni hitrosti ali z namenom, da se učinkovina ne sprosti v želodcu, ampak po določenem času šele v tankem črevesu oz. kolonu. Poleg tega imajo ti sistemi za potrebe zadržanja v želodcu lahko tudi mukoadhezivne lastnosti (26). Delimo jih na sisteme, ki tvorijo plin po interakciji z želodčnim sokom, in tiste, ki ga ne tvorijo. Pomembno pri teh sistemih pa je, da ne vplivajo na naravno motiliteto želodca. Primer take FO so tablete na sliki 7, kjer so zunanemu sloju HPMC dodali natrijev bikarbonat za povečanje vzgona in tvorbo plavajočih tablet (65).

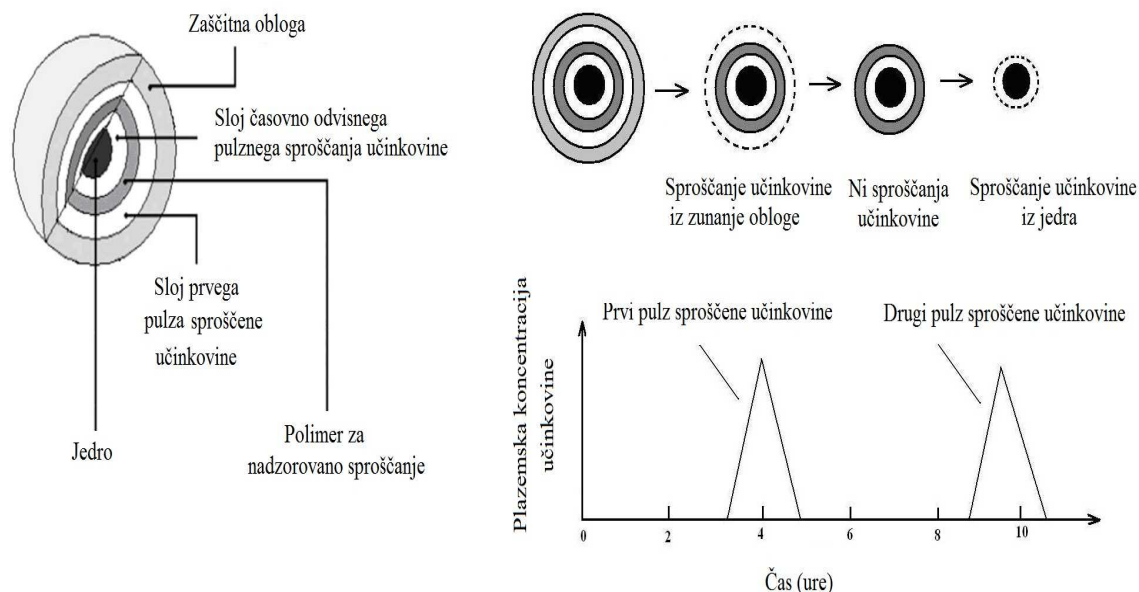


**Slika 7:** Shematični prikaz plavajočega dostavnega sistema s pulzirajočim sproščanjem. A - plast za povečevanje vzgona (natrijev bikarbonat, Carbopol<sup>®</sup> 934P in Methocel<sup>®</sup> K4M), B - obloga, ki zagotavlja zakasnjeno sproščanje, C - jedro z učinkovino za hitro sproščanje (65).

### 1.3.2 Večodmerne FO za nadzorovano sproščanje

Večodmerne FO postajajo v zadnjem času bolj zanimive kot enoodmerne zaradi številnih prednosti, kot so: bolj predvidljiv in ponovljiv prehod skozi želodec, manjša nevarnost t.i. »dose dumpinga«, večjega števila različnih profilov sproščanja, večje biološke uporabnosti, pa tudi manjših variabilnosti tako med različnimi bolniki kot znotraj enega bolnika (66, 67). Po drugi strani je slabost večodmernih dostavnih sistemov predvsem nižja vsebnost vgrajene učinkovine, saj ti sistemi vsebujejo velik delež pomožnih snovi (66).

Na sliki 8 vidimo primer večodmerne FO, kjer je predstavljena struktura pelete za dosego dvopulznega sproščanja. Slika prikazuje tudi mehanizem sproščanja učinkovine iz take FO ter doseženi plazemski profil.



**Slika 8:** Primer pelete za dosego dvopulznega sproščanja učinkovine ter njen bimodalni plazemski koncentracijski profil (66).

### 1.3.2.1 Sistemi v obliki rezervoarja in obloge, ki počí

Večodmerni pulzirajoči dostavni sistemi so večinoma v obliki rezervoarja in obloženi s polimerno oblogo, ki počí. Mehanizem sproščanja učinkovine pri teh sistemih je enak kot pri enoodmernih sistemih, ki imajo v zunanji oblogi rupturabilno polimerno oblogo.

Primer takšnega sistema je »Time-controlled explosion systems« (TES), ki je zelo uporaben za učinkovine, ki so v vodi slabo topne, ker bi bila difuzija skozi permeabilno zunanjo oblogo pri njih nezadostna (68, 69). Pri sistemu TES je v jedru učinkovina, osmotsko aktivna pomožna snov in ustrezno razgrajevalo. Takšna jedra so obložena s semipermeabilno membrano, ki nadzoruje vlek vode v osmozno aktivno jedro. Ko vstopi v jedro zadostna količina vode, se volumen jedra poveča do te mere, da povzroči eksplozijo zunanje obloge in sprostitve celotne količine učinkovine. S spreminjanjem formulacije TES dobimo različne profile sproščanja učinkovine. Pri tableti se po tem, ko obloga počí, v trenutku sprosti vsa učinkovina, pri peletah ali granulah pa lahko načrtujemo različne načine sproščanja. V eno kapsulo lahko npr. shranimo več različnih vrst pelet ali granul, saj je vsaka od njih obložena z različnim tipom ali maso obloge in se zato eksplozija obloge zgodi pri različnih časih. Z ustreznim kombiniranjem določenih serij pelet ali granul tako lahko učinkovito modificiramo profile sproščanja učinkovine.

Izdelane so bile tudi pelete, ki so bile obložene z dvema oblogama. Notranja obloga je imela v sestavi polimer, ki močno nabreka, zunanja obloga pa je bila iz etil celuloze in je omejevala vstop vode v notranjost FO (70). Zakasnitveni čas lahko reguliramo s količino notranje in zunanje obloge in pa izbiro različnih polimerov, ki nabrekajo. Pri teh sistemih so zaželeni predvsem polimeri, ki zelo dobro nabrekajo, t.i. super razgrajevala, npr. Narkroskarmeloza (Ac-Di-Sol), nizkomolekularna hidroksipropil celuloza (L-HPC), natrijev škrob glikolat (Explotab), krosprovidon (Kollidon CL) ter hidroksipropil metilceluloza (Methocel K100 M) (42).

### ***1.3.2.2 Večodmerni sistemi, ki temeljijo na osmoznem črpanju***

Ti sistemi, tako kot enoodmerni, temeljijo na osmozno aktivnih pomožnih snoveh v jedru FO, ki ne nabreka (71). Skozi oblogo FO prehaja v njihovo notranjost voda oz. medij in tam raztopi učinkovino in osmozno aktivne pomožne snovi. V notranjosti pelete tako nastane osmozni tlak, ki je večji kot tisti v zunanjem mediju, kar ima za posledico izplavljanje učinkovine iz notranjosti FO v zunanji medij.

Polimeri, ki jih lahko uporabimo za zunanjo oblogo, so polprepustni celulozni acetat (71) ter zmesi različnih tipov poliakrilat-polimetakrilat kopolimerov (Eudragit<sup>®</sup> NE30D, Eudragit<sup>®</sup> RS30D) in Mg-stearata (72). Ugotovljeno je bilo, da je pri takih sistemih čas zakasnitve sproščanja učinkovine odvisen od volumna ter sestave jedra (količina osmotsko aktivnih pomožnih snovi) ter debeline obloge.

### ***1.3.2.3 Rezervoarni sistemi s topnimi ali erodibilnimi polimernimi oblogami***

Pri teh sistemih pride do hitre sprostitve učinkovine iz jedrnega rezervoarja po vnaprej določenem času zakasnitve sproščanja, ko se obloga v vodi raztopi ali pa erodira. Njihova poglobitna težava je v tem, da je glavni mehanizem sproščanja raztapljanje in je zaradi tega ta sistem lahko manj uporaben za slabo topne učinkovine (66). Zelo pomembni so sistemi z oblogami, katerih topnost je odvisna od različnih pH vrednosti. To pa zato, ker jih lahko uporabljamo za ciljno sproščanje učinkovine v različne predele GIT. Predvsem pa nam omogočajo preprečitev sproščanja učinkovine v želodcu, ko tega ne želimo.

Primer takega sistema so pelete obložene z Eudragit<sup>®</sup> RS ali pa Eudragit<sup>®</sup> S-100 filmom (73, 74). Izkazalo se je, da je zakasnitveni čas v dobri korelaciji s koreninom mase obloge teh polimerov. Gazzaniga s sodelavci pa je izdelal FO sestavljeno iz jedra z učinkovino, obložena najprej z visoko viskoznim polimerom HPMC ter nato še z



gastrorezistentno oblogo, ki preprečuje sproščanje v želodcu. Po razpadu slednje v tankem črevesu obloga iz HPMC zakasni začetek sproščanja za 3 do 4 ure. Dittigen in sodelavci so razvili formulacijo, ki je sestavljena iz 4 tablet v kapsuli, kjer ima vsaka od štirih tablet drugačno sestavo obloge, ki je topna pri različnih pH (75). Tak sistem omogoča načrtovanje najrazličnejših profilov sproščanja. Za potrebe tarčnega ciljanja kolona pa je bil razvit rezervoarni sistem, pri katerem pride do erozije obloge na kapsuli zaradi encimske razgradnje bakterij, ki naseljujejo kolon.

#### ***1.3.2.4 Sistemi s spremenljivo permeabilnostjo membrane***

Raziskovalci so razvili tudi večodmerne FO za pulzirajoče sproščanje, pri katerih je sproščanje učinkovine odvisno od nabrekanja obloge (76). Ta sistem je sestavljen iz metakrilne kisline in etil akrilata, dodan pa je še akrilni monomer pentaeritrol triakrilat, ki polimera prečno povezuje. Po vdoru vode v notranjost obloge ta nabreka do te stopnje, da se poveča difuzijski koeficient vode. Zato postane obloga dovolj permeabilna, da voda vstopi v jedro in tam raztopi učinkovino in pomožne snovi. Zakasnitveni čas do sproščanja učinkovine lahko nadziramo z debelino obloge in s količino pomožne snovi za prečno premreževanje.

Potrebno pa je še opozoriti, da je profil sproščanja iz sistema, ki temelji na spremembah permeabilnosti, v veliki meri odvisen od fiziokemičnih lastnosti učinkovine in njenih interakcij z membrano (66). Pulzirajoče sproščanje je tako mogoče dobiti samo pri določenih učinkovinah v specifičnih formulacijah in ne pri vseh učinkovinah.

## **1.4 OBLAGANJE TRDNIH FARMACEVTSKIH OBLIK**

Prvotni namen oblaganja trdnih FO je bil prekriti neprijeten okus in zagotoviti lepši videz. Danes oblagamo iz več razlogov in lahko dosežemo (77):

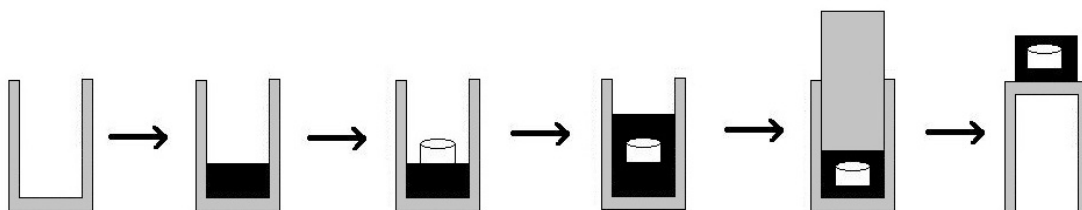
- boljše prepoznavanje zdravila (zmanjšamo nevarnost za zamenjavo zdravila),
- olajšamo požiranje zdravila,
- izboljšamo fizikalno stabilnost trdnih FO (pred zlomi, poškodbami),
- izboljšamo kemijsko stabilnost učinkovine, saj obloga služi kot zaščita pred zunanji dejavniki (svetloba in vlaga) ter zaščita med proizvodnjo, shranjevanjem in transportom,
- s polimeri lahko mehansko ločimo med seboj nekompatibilne zdravilne učinkovine v enem pripravku,

- zaščitimo želodčno sluznico pred dražečimi učinkovinami,
- zaščitimo učinkovino pred razpadom v kislem pH v želodcu z uporabo gastrorezistentnih polimerov ter
- dosežemo prirejeno sproščanje učinkovine.

#### 1.4.1 Oblaganje tablet s stiskanjem

Tablete obložene s stiskanjem (angl. dry-coated oz. press-coated tablets) sestavljata jedro in zunanja obloga, ki v celoti obdaja jedro. Izbira ustreznega materiala za oblogo je zelo pomembna, saj njene fizikalne lastnosti močno vplivajo na sproščanje učinkovine iz teh tablet (78). Polimeri, ki se največ uporabljajo za zunanjo plast z namenom doseganja zakasnjene sproščanja, so HPC, HPMC, CMC, EC in HEC (36, 48, 68). Vsi razen EC so v vodi topni, nabrekajo in tvorijo gel (67, 68). Poleg tega pa so bili za namene oblaganja s stiskanjem preučene tudi necelulozne snovi, in sicer predvsem kompleksi alginat-hitozan (69). Tablete obložene s stiskanjem izdelujemo po naslednjem postopku (Slika 9) (36):

1. Matrično vdolbino napolnimo s polovico mase snovi, ki bo sestavljala zunanjo oblogo končne FO,
2. na to potem položimo že prej stisnjeno jedro tableto (katere premer je manjši od premera matrične vdolbine),
3. čez vse to vsujemo še drugo polovico "zunanje obloge",
4. na koncu maso stisnemo z ustrezno silo v končno FO.



**Slika 9:** Shematični prikaz izdelave tablet s stiskanjem obloge.

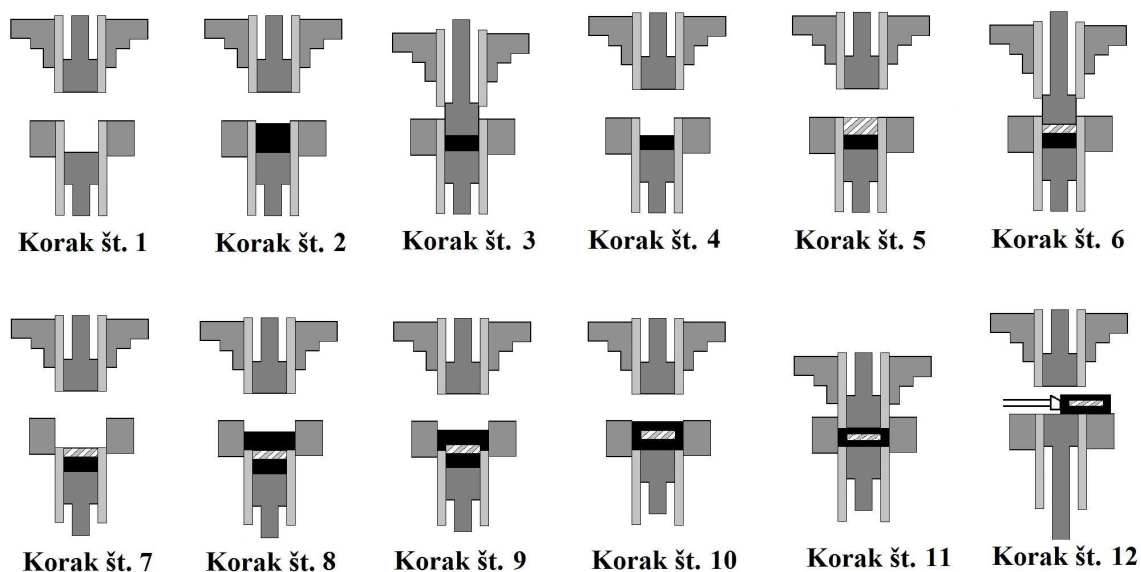
Kot je bilo že omenjeno, je začetek sproščanja pri tabletah, obloženih s stiskanjem, lahko nadzorovan s prilagajanjem debeline obloge (36). Vendar pa se tu pojavi težava, saj je bilo z dosedanjimi metodami oblaganja zelo težko doseči po vsej površini enakomerno debelino obloge, poleg tega pa je bila izdelava tudi precej zamudna (79). Največja težava takšnega pristopa pri oblaganju s stiskanjem je namreč v tem, da jedrna tableta nikoli ni

položena točno na sredino matrične vdolbine, pa tudi težko je doseči, da jedrna tableta na vsutem prahu vedno stoji popolnoma vodoravno. To sta glavna razloga za to, da debelina obloge okrog jedrne tablete nikoli ni popolnoma enakomerna (79). Iz tega sledi, da bo tudi čas začetka sproščanja iz obložene tablete precej variral.

#### 1.4.2 OSDRC metoda za izdelavo obloženih tablet

Da bi se izognili opisanim težavam, je bila pred kratkim razvita metoda za izdelavo obloženih tablet, ki se imenuje OSDRC, kar je kratica za one-step dry-coated tablets. Glavna prednost te metode pred ostalimi je v tem, da je jedro vedno točno v sredini tablete in je zato debelina obloge okrog jedra povsod enako debela (78). Od klasičnih metod oblaganja s stiskanjem pa se razlikuje tudi po tem, da z njo celotno obloženo tableto naredimo v enem samem procesu, sestavljenem iz 12 korakov. OSDRC metodo lahko uporabljamo tako na rotirajočih kot klasičnih tabletirkah. Vsak zgornji in spodnji pečat ima dvojno strukturo, kot je to razvidno iz slike 10, vse pečate namreč sestavljata *notranji* in *zunanji* pečat. Konca zunanjih in notranjih pečatov sta izdelana tako, da ko sta na isti višini, sestavljata en sam pečat. OSDRC sistem vsebuje 3 kompresijske procese (78):

1. Najprej poteka stiskanje v *manjšem* oz. *notranjem* pečatu. Spodnji notranji pečat se pomakne navzdol, da je vanj vsuta snov, s katero bo tableta kasneje popolnoma obložena (npr. HPC, HPMC idr.). *Zgornji notranji* pečat se nato pomakne navzdol in stisne vsebino v njem z vnaprej nastavljeno silo (koraki št. 1 do 3 na sliki).
2. Zatem se *zgornji notranji* pečat dvigne, hkrati pa se *spodnji notranji* pečat spusti ustrezno nizko, da se vanj vsuje mešanica učinkovine in pomožnih snovi, ki bodo kasneje sestavljale jedro tablete. Spet se spusti *zgornji notranji* pečat in vsebino v matrični vdolbini stisne s poljubno nastavljivo silo (koraki št. 4 do 6).
3. Do tu poteka postopek samo v manjšem oz. notranjem pečatu, zadnji tretji proces pa poteka v *večjem* pečatu. *Spodnji zunanji* pečat se spusti (korak št. 7 na sliki) in vanj se vsuje preostala masa snovi, ki sestavlja oblogo (korak št. 8 na sliki). Nato je učinkovina, ki je bila predhodno stisnjena s spodnjo plastjo (v koraku št. 6) pomaknjena navzgor (koraka 9 in 10 na sliki), saj se dvigne *spodnji notranji* pečat. Na koncu se vse skupaj stisne s poljubno silo (korak št. 11 na sliki). V zadnjem stiskanju zunanji in notranji pečat tvorita *en sam pečat*.



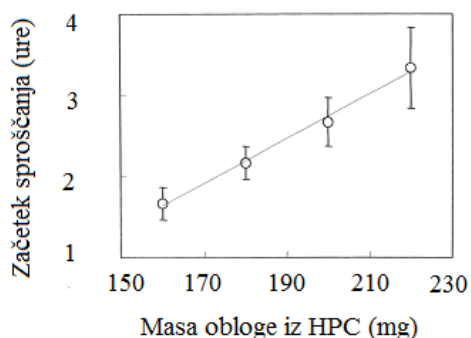
**Slika 10:** Prikaz izdelave obloženih tablet z metodo OSDRC (78).

Pri takšni izdelavi tablet se uravna dodatek obloge v koraku št. 8, da je končna debelina obloge tako zgoraj kot spodaj enaka. Ob ustrezni debelini stranskega roba ter zgornjih in spodnjih robov lahko učinkovito nadziramo čas, po katerem se začne sproščanje učinkovine (78).

### 1.4.3 Parametri, s katerimi lahko vplivamo na čas zakasnjene sproščanja pri obloženih tabletah, izdelanih po metodi oblaganja s stiskanjem

#### Masa obloge

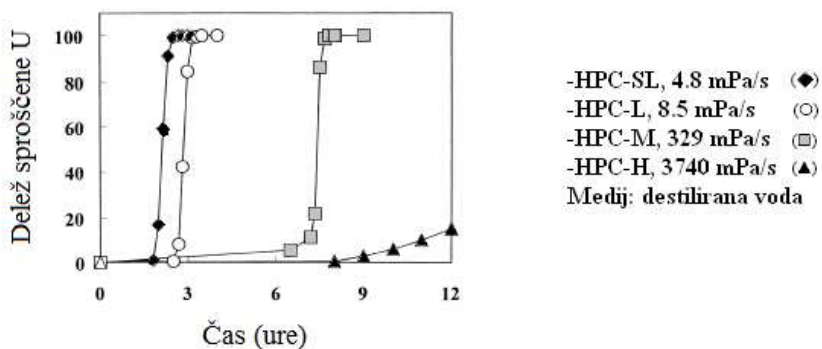
V študiji, ki jo je opravil E. Fukui s sodelavci, je bilo ugotovljeno, da je čas začetka sproščanja učinkovine naraščal z naraščajočo količino obloge HPC (36). Čas, ki je bil potreben za erozijo oz. raztapljanje obloge, se je namreč s povečevanjem mase obloge povečeval. Raziskovalci so uporabili različne mase obloge in med dobljenimi časi do začetka sproščanja dobili dobro linearno korelacijo (slika 11). Masa obloge tablete je tako dejavnik, s katerim lahko načrtujemo čas zakasnitve do sproščanja učinkovine.



**Slika 11:** Vpliv mase HPC v oblogi na čas začetka sproščanja učinkovine (36).

### Viskoznost polimera

V isti študiji so raziskovalci pri preučevanju vpliva viskoznosti polimera HPC na sproščanje učinkovine iz obloženih tablet pripravili tablete z različnimi tipi HPC, ti so se namreč razlikovali po stopnji viskoznosti. Dobljeni rezultati so jasno pokazali, da je s povečevanjem viskoznosti HPC naraščal tudi čas do začetka sproščanja učinkovine (slika 12) (36).

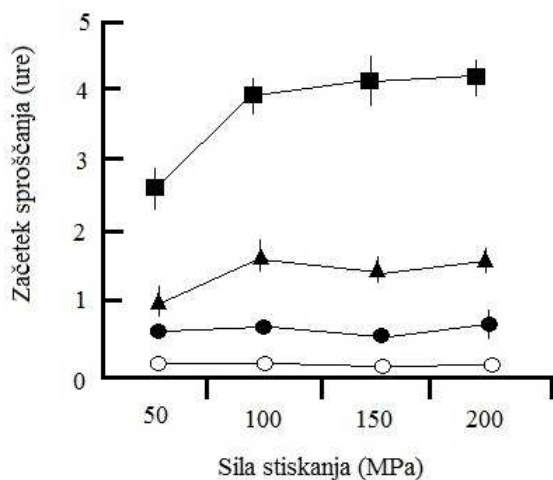


**Slika 12:** Vpliv viskoznosti HPC v oblogi na sproščanje učinkovine iz jedrne tablete (36).

### Vpliv sile stiskanja na čas začetka sproščanja

Raziskovalce je zanimalo, kako sila stiskanja vpliva na čas, po katerem se pri s HPMC obloženimi tabletami začne sproščanje. Za ta namen so izdelali tablete z različno debelino stranskega roba obloge (78). Izkazalo se je, da sila stiskanja v območju med 100 in 200 MPa na čas do začetka sproščanja nima bistvenega vpliva (slika 13). Drugače pa je v območju sile stiskanja med 50 in 100 MPa, kjer je pri tabletah, ki so imele 1 in 2 mm debel stranski rob, čas do začetka sproščanja hitro padal z zmanjševanjem sile stiskanja. Po drugi

strani pa se čas praktično v vsem območju sile stiskanja ne spreminja pri neobloženih tabletah in tabletah z 0.5 mm debelim robom na vsaki strani.



**Slika 13:** Vpliv sile stiskanja pri izdelavi tablet na čas začetka sproščanja. Debeline stranskih robov obloge so bile (○) 0 mm (brez obloge), (●) 0.5 mm, (▲) 1.0 mm in (■) 2.0 mm. Podatki prikazujejo srednjo vrednost +/- standardno deviacijo (78).

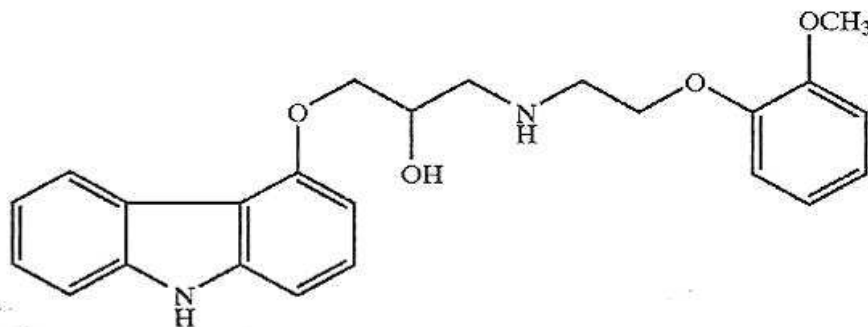
### Vpliv sile stiskanja na hitrost sproščanja

V splošnem je hitrost sproščanja iz tablet, ki so obložene z oblogo, ki tvori gel, odvisna od difuzije vode skozi oblogo in erozije obloge (78). V isti študiju kot v prejšnjem poglavju je bilo ugotovljeno, da je bila v primeru, ko je bil stranski rob obložene tablete zelo tanek (0.5 mm ali 1 mm), hitrost sproščanja enaka, ne glede na silo, s katero je bila obložena tableta izdelana. Ko pa je bila debelina obloge HPMC na stranskem robu 2 mm, je hitrost sproščanja z naraščajočo silo padala.

## 1.5 MODELNA UČINKOVINA

Modelna učinkovina ( $\pm$ )-1-(karbazol-4-iloksi)-3-[[2-(o-metoksifenoksi)etil]amino]-2-propanol, ki je prikazana na sliki 14, spada v skupino antagonistov adrenergičnih receptorjev alfa in beta, natančneje  $\alpha_1$ ,  $\beta_1$  in  $\beta_2$  receptorjev. Je vazodilatirajoči neselektivni antagonist receptorjev beta z antioksidativnimi in antiproliferativnimi lastnostmi. Uporablja se pri zdravljenju esencialne hipertenzije, kronične stabilne angine pektoris, kroničnega srčnega popuščanja in za zdravljenje po miokardnem infarktu z dokazano disfunkcijo levega prekata. Običajni odmerek je 2 x 12,5 mg, priporočeni največji dnevni odmerek pa 2 x 25 mg. Učinkovina je racemat. S(-) enantiomer ima učinek blokade beta receptorjev, medtem ko oba enantiomera izkazujeta enako blokado receptorjev  $\alpha_1$  (80).

Absolutna biološka uporabnost učinkovine v telesu je približno 25-35% zaradi obsežnega metabolizma prvega prehoda v jetrih (81). Biološka uporabnost je stereoselektivna, 30% za R-obliko in 15% za S-obliko. Učinkovina je visoko lipofilna, približno 98% do 99% se je veže na plazemske beljakovine (80). V jetrih pride do obsežne presnove z oksidacijo aromatskega obroča in glukoronidacijo. Z demetilacijo in hidroksilacijo fenolnega obroča nastanejo 3 aktivni metaboliti. Vsi trije so antagonisti  $\beta$  receptorjev, eden izmed njih, 4'-hidroksifenil metabolit, ima kar 13-krat večjo učinkovitost za blokado  $\beta$  receptorjev kot karvedilol.



**Slika 14:** Modelna učinkovina (81).

Topnost karvedilola v nevtralnem in alkalnem pH je razmeroma nizka. Pri pH 9 je topnost  $< 1 \mu\text{g/ml}$ . Topnost narašča s padanjem vrednosti pH in doseže plato blizu pH 5. Nasičena topnost pri pH 7 je okoli  $23 \mu\text{g/ml}$ , pri pH 5 pa okoli  $100 \mu\text{g/ml}$ . Pri nižjih vrednostih pH, med 1 - 4, topnost nekoliko pade v primerjavi s topnostjo pri pH 5, je pa v kislih pogojih topnost še vedno višja kot pri nevtralnih in alkalnih pH vrednostih (82).

## 2 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela je:

1. Izdelali bomo trdne disperzije modelne učinkovine s poroznim nosilcem z namenom izboljšanja raztapljanja v vodi slabo topne modelne učinkovine. Kot porozni nosilec bomo uporabili magnezijev aluminometasilikat Neusilin US2<sup>®</sup>, trdno disperzijo pa bomo pripravili z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Trdne disperzije bomo nato raztapljali v vodnih pufrnih raztopinah s pH 1.2, 4.5, 6.8 in 7.4 ter rezultate primerjali z raztapljanjem čiste učinkovine in raztapljanjem fizikalne zmesi učinkovine in Neusilina v istih medijih. Lastnosti izdelane trdne disperzije bomo analizirali z diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC), morfologijo delcev pa z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM).
2. Iz trdne disperzije in pomožnih snovi (razgrajevala) bomo najprej izdelali **jedrne tablete** z odmerkom učinkovine 25 mg. Te bomo nato obložili s polimerom HPC po metodi oblaganja s stiskanjem in tako izdelali **obložene tablete**. Preučevali bomo vpliv različnih parametrov pri izdelavi obloženih tablet na zakasnitveni čas (angl. lag time) in hitrost sproščanja, kot so: sila stiskanja pri oblaganju jedrnih tablet, masa oz. debelina obloge in viskoznost polimera v oblogi. Zelo pomemben faktor za doseg ponovljivih časov zakasnitve je položaj jedrne tablete znotraj obložene tablete. Zato bomo obložene tablete prerezali na pol in z mikroskopom merili debelino obloge.
3. Nato bomo izdelali dvoplastne tablete tako, da bomo s tabletirko na obloženo tableto stisnili še plast zmesi trdne disperzije z razgrajevali. Namen te plasti bo takojšen začetek hitrega sproščanja učinkovine in bo prav tako vsebovala 25 mg učinkovine. Raztapljanje učinkovine iz tako pripravljenih tablet bomo primerjali v simuliranih pogojih "na tešče" in "na poln želodec" oz. vpliv različnih pH vrednosti na čas do začetka sproščanja in hitrost sproščanja učinkovine iz dvoslojnih tablet. Izdelana formulacija bo omogočila takojšno hitro sprostitvev prvega odmerka učinkovine v želodcu in sprostitvev drugega odmerka, z zakasnitvijo nekaj ur, v območju bodisi ileuma bodisi debelega črevesa. Namen take formulacije je nadomestitev dvakratnega dnevnega odmerjanja zdravila z enkratnim odmerjanjem, zato je želeni čas zakasnitve 10 do 12 ur.



### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 MATERIALI

Pri eksperimentalnem delu smo uporabljali:

Učinkovina:

- Uporabljali smo modelno učinkovino podjetja Krka, Tovarna zdravil, D.D. Novo mesto.

Porozni nosilec za pripravo trdnih disperzij:

- Neusilin US2<sup>®</sup>: porozen magnezijev aluminometasilikat (Fuji Chemical Industry Co. LTD, Japonska)

Organsko topilo za pripravo trdne disperzije:

- Tetrahidrofuran C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O za analizo (Merck, Nemčija)

Polimeri za oblaganje jedrnih tablet različnih stopenj viskoznosti v vodnem mediju:

- Klucel<sup>®</sup> EF Pharm: hidroksipropil celuloza (HPC), neionski vodotopni celulozni eter; viskoznost 1% vodne raztopine 30-60 mPas (Hercules Inc., Aqualon Divison, ZDA).
- Klucel<sup>®</sup> HF Pharm: hidroksipropil celuloza (HPC); viskoznost 1% vodne raztopine 1500-3000 mPas (Hercules Inc., Aqualon Divison, ZDA).
- Klucel<sup>®</sup> MF Pharm: hidroksipropil celuloza (HPC); viskoznost 1% vodne raztopine 2000-3250 mPas (Hercules Inc., Aqualon Divison, ZDA).

Pomožne snovi pri izdelavi tablet (razgrajevala):

- Vivasol: Natrijeva kroskarmeloza (angl. Croscarmellose sodium) (JRS Pharma, Nemčija)
- Avicel PH 101: Mikrokrystalna celuloza (angl. Microcrystalline Cellulose) (Sigma-Aldrich, ZDA)
- Citronska kislina monohidrat (Pharmachem, Ljubljana)
- Natrijev hidrogenkarbonat NaHCO<sub>3</sub> (Lex d.o.o., Koper)

Kemikalije in reagenti za pripravo kisljih in bazičnih medijev za preskus raztapljanja:

- Prečiščena voda

- Koncentrirana klorovodikova kislina za analizo (37% HCl), (Merck, Nemčija)
- Natrijev hidroksid; NaOH (Merck, Nemčija)
- Dinatrijev hidrogenfosfat; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck, Nemčija)
- Natrijev dihidrogenfosfat dihidrat; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> x 2 H<sub>2</sub>O (Merck, Nemčija)
- Površinsko aktivna snov SDS-natrijev dodecilsulfat (Merck, Nemčija)
- Trinatrijev fosfat dodekahidrat; Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> x 10H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich, Nemčija)

#### Filtri:

- DURAPORE<sup>®</sup> MEMBRANE FILTERS filter type 0,1 µm (Millipore, Irska)
- Minisart<sup>®</sup> SRP 15 0,2 µm [politetra-fluoroetilen (PTFE) membrana, hidrofoben] (Sartorius, Nemčija)
- Minisart<sup>®</sup> SR 0,45 µm hidrofilen (Sartorius, Nemčija)

#### **Priprava medijev za preskus raztapljanja**

##### Klorovodikova kislina pH=1.2

V 1000 ml bučo smo zlili 900 ml prečiščene vode in v digestoriju dodali 8,5 ml 37 % koncentrirane HCl. Raztopini smo dodali še 5 g/L SDS. Bučo smo nato dopolnili s prečiščeno vodo do oznake ter dobro premešali na magnetnem mešalu.

##### Fosfatni pufer pH=4.5

6,8 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>×2H<sub>2</sub>O in 5 g/L SDS smo zatehtali v 1000 ml bučo in jo dopolnili s prečiščeno vodo do 900 ml. Nato smo med mešanjem na magnetnem mešalu preverili pH raztopine in ga uravnavali z dodatkom vodne raztopine NaOH. Na koncu smo dodali prečiščeno vodo do oznake 1000 ml. Raztopino NaOH smo pripravili tako, da smo 0,9 g NaOH dodali 100ml prečiščene vode in počakali, da se NaOH raztopi med mešanjem na magnetnem mešalu.

##### Fosfatna pufra pH=6.8 in pH=7.4

Pufra smo pripravili na enak način kot fosfatni pufer pH=4.5, le da smo dodali ustrezno večjo količino raztopine NaOH.

##### Pufri za spiranje brizg uporabljenih pri preskusih raztapljanja na napravi ERWEKA 6 DT

Vsi pufri so pripravljeni po zgoraj navedenih postopkih, le da so brez dodatka SDS.

### 3.2 APARATURE

Pri eksperimentalnem delu smo uporabljali naslednje aparature:

- Tehnica Exacta 300 EB, Železniki, Slovenija;
- Analizna tehtnica Mettler Toledo AG 245, Švica;
- Precizna tehtnica Vibra AJP, Shinko Denshi, Japonska;
- Aparat za odparevanje topila pri znižanem tlaku: JANKE & KUNKEL RV 05-ST, Ika Labortechnik, Nemčija;
- Aparat za odparevanje topila pri znižanem tlaku: BUCHI Rotavapor R-114, Švica;
- Ultrazvočna kadička: Sonis 4, Iskra, Slovenija;
- Magnetno mešalo MM-531, Železniki, Slovenija;
- Magnetno mešalo ROTAMIX 560 MMH, Tehnica, Slovenija;
- Naprava za merjenje pH raztopin: pH METER, Mettler Toledo MA235, Švica;
- Sušilnik Kambič Laboratorijska oprema TIP SP-45, Slovenija;
- Stresalnik VIBROMIX 403 EVT;
- Naprava z vesli za spremljanje sproščanja (naprava 2 po Ph. Eur. 7<sup>th</sup>): ERWEKA DT 6, Švica;
- Naprava za spremljanje sproščanja (naprava 3 po Ph. Eur. 7<sup>th</sup>): BIODIS, Varian, Inc., ZDA
- Sita: analysensieb Retsch, Nemčija; 63, 125, 180  $\mu\text{m}$ ;
- UV Spektrofotometer: Hewlett Packard, HP 8453, UV-Visible spectroscopy system, Nemčija;
- Osebni računalnik Hewlett Packard Vectra XA povezan z UV spektrofotometrom;
- Diferenčni dinamični kalorimeter: Mettler-Toledo Differential Scanning Calorimeter, DSC1, opremljen s programsko opremo STARe Software v9.30, Švica;
- Thermogravimeter Mettler-Toledo, TGA, opremljen s programsko opremo STARe Software v9.30, Švica;
- Optični mikroskop Olympus SZX12
- Vrstični elektronski mikroskop (SEM): FE-SEM, Supra 35 VP, Carl Zeiss, Nemčija;
- Instrumentirana tabletirka na ekscenter Kilian SP 300;
- »Tablet hardness tester« VK 200 Vanderkamp<sup>®</sup>, ZDA.

### **3.3 METODE DELA**

#### **3.3.1 Vrstična elektronska mikroskopija – SEM**

Z vrstično elektronsko mikroskopijo lahko z veliko ločljivostjo proučujemo morfologijo površin trdnih snovi. Namesto bele svetlobe kot pri optičnem mikroskopu vrstični elektronski mikroskop za preučevanje površine uporablja snop elektronov. Preko kondenzatorskih in objektnih leč zadenejo elektroni ustrezno nameščen vzorec. Pri interakciji med pospešenim snopom elektronov in površino vzorca dobimo odbite elektrone in rentgenske žarke različnih energij. Odbiti elektroni se gibljejo po komori, v kateri je nameščen detektor. Elektroni, ki zadenejo detektor, izzovejo signal, elektronska vezja pa ta signal pretvorijo v sliko, ki jo dobimo na zaslonu (83).

#### **3.3.2 Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC) - termična analiza**

Termično analizo učinkovine, vzorcev trdnih disperzij, fizikalnih zmesi smo izvedli z diferenčnim dinamičnim kalorimetrom Mettler Toledo Differential Scanning Calorimeter DSC1, opremljenim s programsko opremo STARe Software v9.30. 3-5 g vzorca smo zatehtali in zaprli v aluminijaste lončke ter jih segrevali od -10 do 150°C. Hitrost segrevanja je bila 20 K/min. Meritve pa so bile izvedene v dušikovi atmosferi s pretokom dušika 40 ml/min. Kalorimeter je bil kalibriran z indijem.

#### **3.3.3 Določanje topnosti modelne učinkovine pri različnih pH vrednostih**

Za določanje topnosti modelne učinkovine smo pripravili nasičene raztopine v medijih s štirimi različnimi pH vrednostmi (pH=1.2, pH=4.5, pH=6.8 in pH=7.4) in dodatkom 5 g/L površinsko aktivne snovi SDS. Nasičene raztopine smo pustili mešati čez noč na stresalniku VIBROMIX 403 EVT. Preden smo z UV spektrofotometrom pomerili absorbance pri valovni dolžini 332 nm in iz umeritvenih premic določili koncentracijo raztopljenе učinkovine, smo nasičene raztopine filtrirali skozi filter Minisart® SR 0,45 µm. Absorbance vzorcev smo merili s kiveto iz kvarčnega stekla in potjo žarka 1,0 cm.

### 3.3.4 Izdelava trdnih disperzij

Vzorci smo izdelovali po metodi odparevanja topila pri znižanem tlaku. Pri postopku smo uporabili modelno učinkovino ter sintezni magnezijev aluminometasilikat Neusilin kot porozni nosilec za trdne disperzije. Zaradi težke topnosti učinkovine v vodi moramo izbrati ustrezno organsko topilo, v katerem bo učinkovina topna. Paziti pa moramo tudi, da izberemo topilo, v katerem se mezoporozni nosilec ne bo raztapljal. Zato smo uporabljali organsko topilo tetrahidrofuran (THF). Učinkovina se obori v porah nosilnega ogrodja pomožnih snovi zaradi nastanka amorfne oblike, povečane specifične površine in boljše močljivosti, pa se tako izboljša tudi njena topnost.

V približno 40 mL THF smo raztopili 0,8 g učinkovine in nato v nastalo raztopino suspendirali še 3,2 g Neusilina. Tako pripravljeni suspenziji smo dodali tri kovinske kroglice in jo pustili mešati 1,5 ure v digestoriju na magnetnem mešalu. Nato smo začeli z odparevanjem topila na aparaturi za odparevanje topila pri znižanem tlaku BUCHI Rotavapor R-114 (50 obratov/min; 300 mbar in postopno zniževanje do 10 mbar nad parnim tlakom olja; T=50°C). Masno razmerje učinkovina : Neusilin je bilo 1:4.

### 3.3.5 Izdelava jedrnih tablet

Trdno disperzijo, ki smo jo izdelali, smo uporabili za izdelavo jedrnih tablet. Kot pomožne snovi smo uporabili 10% Avicela PH101 in 5% Vivasola (Na-kroskarmeloza). Ustrezno količino homogeno premešane tabletirne zmesi za doseg 25 mg učinkovine v eni tableti smo ročno tabletirali z instrumentirano tabletirko na ekscenter Kilian SP 300. Za doseg ustrezne mase tablete smo spreminjali položaj spodnjega pečata, za ustrezno trdnost tablet pa položaj zgornjega pečata. Zgornji pečat smo tako nastavili na 163, spodnji pa na 198. Trdnost tablet smo preverjali s »Tablet hardness tester« VK 200 Vanderkamp® (Ph. Eur. 7<sup>th</sup> Ed., poglavje 2.9.8) Povprečna trdnost tablet je znašala 38,7 N. Preverili smo tudi enakomernost mase narejenih tablet (Ph. Eur. 7<sup>th</sup> Ed., poglavje 2.9.5). Povprečna masa jedrne tablete s pomožnimi snovmi je bila 147,7 mg. Izdelali smo okrogle tablete s premerom 8 mm in povprečno višino 4,1 mm.

Tabletirali smo tudi fizikalno zmes, ki smo jo pripravili tako, da smo homogeno zmešali ustrezne količine učinkovine, Neusilina in razgrajeval. Vsebnost učinkovine v tableti, ki je bila stisnjena iz fizikalne zmesi, je bila 25 mg.

### 3.3.6 Izdelava obloženih tablet s stiskanjem

Jedrne tablete smo oblagali po metodi s stiskanjem, ki je podrobneje opisana na straneh 15 in 16. V matrično vdolbino premera 12 mm smo najprej vsuli polovico mase polimera, ki bo kasneje sestavljal zunanjo oblogo končne FO. Nato smo preko tega na sredino matrične vdolbine postavili jedrno tableto in čez vse vsuli še drugo polovico mase zunanje obloge. Na koncu smo vse skupaj stisnili z ustrezno silo v končno FO. Pri tem uporabljene jedrne tablete so bile vedno enake, s premerom 8 mm in povprečno maso 147,7 mg, vsebnost učinkovine v njih pa je bila vedno 25 mg. Celokupna masa polimera za oblogo je varirala od 300 do 550 mg, saj nas je zanimal vpliv različnih mas obloge na čas zakasnitve sproščanja. Prav tako so varirali uporabljeni polimeri v oblogi; uporabili smo HPC tipe EF, HF in MF, ki se med seboj razlikujejo po stopnji vizkoznosti vodnih raztopin oz. po povprečnem številu substituiranih hidroksi skupin na molekulo glukoze. Tretji paramater, ki vpliva na čas zakasnitve sproščanja iz obloženih tablet in ki smo ga preučevali, pa je sila stiskanja pri izdelavi obloženih tablet. Ker smo želeli izdelati formulacijo, ki bi dvakraten dnevni režim odmerjanja zdravila nadomestila z enkratnim, je bil želeni čas zakasnitve sproščanja 10 do 12 ur. Zelo pomemben faktor za doseg ponovljivih časov zakasnitve je položaj jedrne tablete znotraj obložene tablete. Zato smo obložene tablete prerezali na pol in z mikroskopom merili debelino obloge zgoraj, spodaj, levo in desno od jedrne tablete.

### 3.3.7 Izdelava dvoplastnih tablet

S HPC EF obloženim jedrnim tabletam smo dodali še drugo (vrhno) plast, ki smo jo na tableto dodali s stiskanjem v tabletirki. Sestava dodane vrhnje plasti je predstavljena v preglednici II. Postopek izdelave končne tablete je bil naslednji:

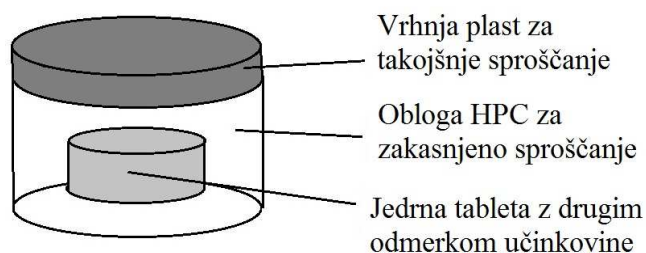
1. Jedrno tableto smo s HPC obložili tako, kot je bilo opisano v prejšnjem poglavju. To smo storili z minimalno silo, pri čemer je bila nastavitev na zgornjem pečatu 142, na spodnjem pa 195.
2. V zadnjem koraku, smo pred iztiskom tablete nehali z vrtenjem ročnega pogona na tabletirki.
3. Ročni pogon smo nato začeli vrteti v nasprotno smer kot v prvem koraku, da se je zgornji pečat pomaknil navzgor. Tako smo dobili obloženo tableto, ki pa je ostala v matrični vdolbini. Zgornji pečat smo nastavili na 120, spodnji pa je ostal na 195.

4. V matrično vdolbino smo nato prenesli še celotno zmes za zgornjo plast (preglednica II) in začeli vrteti ročni pogon tabletirke v isti smeri kot v prvem koraku celotnega procesa. Zgornji pečat se je pomaknil navzdol in stisnil zgornjo plast na obloženo tableto.
5. Na koncu se je zgornji pečat dvignil, za tem pa še spodnji in potisnil dvoslojno tableto iz matrične vdolbine.

Dobili smo dvoslojne tablete za dvopulzno sproščanje, ki so predstavljene na sliki 15. Njihova povprečna masa je bila 801 mg, imele so premer 12 mm in bile visoke 8.3 mm.

**Preglednica II:** Sestava vrhnje plasti dvoslojne tablete za hitro in takojšnje sproščanje.

Masa celotne zgornje plasti	154 mg		
	Neusilin® US2	98,3 mg	63,8 %
	Učinkovina	25 mg	16,2 %
	Avicel PH 101	15,3 mg	10 %
	Vivasol	15,4 mg	10 %



**Slika 15:** Dvoplastne tablete za dvopulzno sproščanje.

### 3.3.8 Vrednotenje učinkovine, trdnih disperzij, jedrnih tablet, obloženih tablet in dvoslojnih tablet

#### Določanje vsebnosti učinkovine v trdnih disperzijah

Vsebnost učinkovine v trdnih disperzijah smo določali z UV spektrofotometrično z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 332 nm. To smo naredili tako, da smo natančno zatehtali določeno količino trdne disperzije in jo raztopili v 100 ml metanola ali v 100 ml 0,1M HCl (+ 1 g/L SDS) ter pustili mešati pol ure na magnetnem mešalu. Nato smo na osnovi umeritvene premice učinkovine v določenem mediju/topilu izmerili njeno koncentracijo. Absorbance vzorcev smo merili s kiveto iz kvarčnega stekla in potjo žarka

1,0 cm. Rastopino smo pred merjenjem filtrirali skozi filter Minisart® SR 0,45 µm (vodni medij) ali skozi filter Minisart® SRP 15 0,2 µm (metanol).

### **Enakomernost mase tablet**

Preskus enakomernosti mase enodimernih farmacevtskih oblik (Ph. Eur. 7<sup>th</sup> Ed.) smo opravili na dvajsetih tabletah, ki smo jih stehali, izračunali povprečno maso in odstopanja od povprečja. Kriterij za ustreznost tablet do mase 80 mg po Ph. Eur. 7<sup>th</sup> Ed. je, da lahko največ dve tableti odstopata od povprečne mase za več kot 10%, nobena pa ne sme odstopati več kot 20%. Pri obloženih in dvoplastnih tabletah, kjer masa presega 300 mg, pa so kriteriji za ustreznost naslednji: največ dve tableti odstopata od povprečne mase za več kot 7,5 %, nobena pa ne sme odstopati za več kot 15 %.

### **Trdnost tablet**

Trdnost jedrnih tablet smo določili s pomočjo naprave za merjenje trdnosti (Vanderkamp®, VK 200, ZDA). Tableto smo položili med mirujoči in gibljivi del naprave. Pri merjenju gibljivi del potisne tableto ob mirujoči del. Trdnost tablete pomeni najmanjšo silo, izraženo v Newton-ih, ki je potrebna, da tableta počne ali se poškoduje. Rezultate smo podali z naslednjimi parametri: maksimalna, minimalna in povprečna trdnost ter standardna in relativna standardna deviacija trdnosti tablet. Zaradi elastičnih lastnosti, ki jih ima polimer HPC, trdnosti tablet nismo mogli meriti pri obloženih in dvoplastnih tabletah. Takšne tablete namreč niso počile, pač pa jih je naprava za določanje trdnosti samo stisnila oz. deformirala.

### **Razpadnost jedrnih tablet**

Za test razpadnosti jedrnih tablet (Ph. Eur. 7<sup>th</sup> Ed.) smo uporabili 900 ml prečiščene vode. Jedrno tableto smo potopili v prečiščeno vodo s temperaturo 37°C, kjer se je morala tableta razgraditi v največ 15 min. Raziskali smo tudi razpadnost vrhnje plasti pri dvoslojnih tabletah. Želeli smo, da tudi ta čimprej razpade in tako omogoči takojšnje in hitro sproščanje učinkovine.

### **Preskus raztapljanja z napravo z vesli (naprava 2 po Ph. Eur. 7<sup>th</sup>)**

Preskus raztapljanja s to napravo smo uporabili za vrednotenje učinkovine, trdnih disperzij (TD), fizikalne zmesi (FZ) in jedrnih tablet. Raztapljali smo 25 mg učinkovine ter 125 mg TD in 125 mg FZ, kar ustreza 25 mg učinkovine. Preskus smo izvedli po Ph. Eur.



7<sup>th</sup>., pri čemer smo uporabili napravo Erweka DT 6 z vesli. Vzorce smo raztapljali v pufrih s štirimi različnimi pH vrednostmi. Pripravili smo kisel medij s pH=1.2 in fosfatne medije s pH=4.5, pH=6.8 in pH=7.4. Vsem smo dodali 5 g/L SDS. Učinkovino, TD, FZ in jedrne tablete smo raztapljali v 250 ml medija 2 uri v dveh paralelkah. Temperatura medija je bila 37 +/- 0,5°C, hitrost vrtenja mešala pa 50 obratov na minuto. Vzorčili smo ročno z brizgo ob časih 1, 2, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60 in 120 minut, pri čemer je bil volumen odvzetega vzorca 10 ml. Odvzeti medij smo sproti nadomeščali in to tudi upoštevali pri izračunih. Koncentracijo učinkovine v odvzetih vzorcih smo določali spektrofotometrično z merjenjem absorbanca pri 332 nm in računanjem na osnovi umeritvene premice učinkovine v mediju za raztapljanje.

Z dodatkom površinsko aktivne snovi SDS smo zagotovili "sink" pogoje in dosegli, da raztapljanje učinkovine ni bilo omejeno s topnostjo. Zagotavljanje "sink" pogojev pomeni, da končna koncentracija v mediju za sproščanje ne presega 1/3 nasičene topnosti v tem mediju.

### **Preskus raztapljanja z napravo BIODIS (naprava 3 po Ph. Eur. 7<sup>th</sup>)**

Sproščanje modelne učinkovine iz obloženih in dvoplastnih tablet smo določali na napravi 3 po Ph. Eur. 7<sup>th</sup> (Slika 16). Ta naprava omogoča med sproščanjem učinkovine iz FO menjavo do šestih različnih medijev, s čimer se lažje približamo pogojem v prebavnem traktu. Hkrati pa omogoča tudi hkratno vzorčenje do 7 različnih vzorcev.

Sprva smo izvajali teste sproščanja učinkovine iz **obloženih tablet**, saj smo najprej želeli doseči ustrezni zakasnitveni čas drugega pulza sproščanja. Analize sproščanja učinkovine iz vseh obloženih tablet smo izvajali **samo** v fosfatnem pufru s **pH 6.8**, kateremu smo dodali še 5 g/L SDS. To smo naredili iz treh razlogov:

1. Po podatkih iz literature so jedrne tablete obložene s polimerom HPC časovno odvisen in ne od pH odvisen sistem, torej je sproščanje učinkovine iz njih pri vseh pH-jih zelo primerljivo (36),
2. pH 6.8 je vrednost, ki je nekje vmes med vrednostmi pH v duodenumu (pH=5-7), jejunumu (pH=6.6), ileumu (pH=7.5) in kolonu (pH=5.5-7), to pa so mesta, kjer smo predvidevali, da bi se obložena tableta v GIT najdlje zadrževala,
3. analiziranje sproščanja učinkovine iz enakih obloženih tablet v medijih z različnimi pH vrednostmi bi bilo časovno precej zamudnejše.

Pogoji pri izvajanju testov sproščanja so bili sledeči: volumen medija je bil petkrat po 250 ml za eno paralelko, temperatura medijev je bila 37°C, recipročni cilinder se je potapljal s hitrostjo 10 potopov na minuto. Vzorce je odvezemal avtomatski vzorčevalnik, volumen vzorcev je bil 10 ml. Volumna odvzetega vzorca nismo nadomeščali, zato smo pri računanju upoštevali njegovo izgubo. Hkrati smo izvajali analizo 3 paralelk.

Teste sproščanja iz **dvoplastnih tablet** smo izvajali po dveh različnih programih, ki sta predstavljena v preglednici III. Zanimala nas je primerjava simulacij sproščanja učinkovine "na tešče" in "na poln želodec", torej primerjava sproščanja iz dvoslojne tablete, če bi jo zaužili pred ali po jedi. Pogoji so bili enaki kot pri sproščanju iz obloženih tablet, le volumen odvzetih vzorcev je bil 7 ml, volumen medija pa šestkrat po 250 ml. Koncentracijo učinkovine v odvzetih vzorcih smo določali spektrofotometrično z merjenjem absorbance pri 332 nm in računanjem na osnovi umeritvene premice učinkovine v mediju za raztapljanje.



**Slika 16:** Naprava 3 po Ph. Eur. 7<sup>th</sup> (levo) in plavajoče obložene tablete v cilindrih med testom sproščanja (desno).

S kislim medijem pri pH 1.2 smo simulirali pogoje v želodcu, ko tam ni hrane. Kar se tiče prehoda skozi želodec je pomembno vedeti, da je precej variabilen (84). Pri zaužitju na tešče je pričakovan srednji čas praznjenja za večino enoodmernih FO, ki ne razpadejo takoj po zaužitju, med 1 in 2 uri. Glede na to, da so dvoslojne tablete, ki smo jih izdelali precej velike, smo za njihov čas prehoda izbrali 2 uri. Čas prehoda skozi želodec je

odvisen od faze cikla migracijskega motoričnega kompleksa, ko v želodec pride FO. Izmenjujejo se štiri faze, od mirovanja do motoričnih kontrakcij, ki potiskajo vsebino skupaj s FO obliko iz želodca. Po hranjenju se čas zadrževanja FO v želodcu lahko podaljša do 6 ur, saj je hitrost izločanja odvisna od kalorične vrednosti vsebine, vrste hrane idr.. V prisotnosti hrane v želodcu se pH dvigne do vrednosti 3-5, kar je prav tako odvisno od vrste hrane.

Prehod skozi tanko črevo je precej konstanten, čas prehoda pa znaša 3 do 4 ure. Vrednost pH narašča od dvanajstnika do spodnjega dela tankega črevesa od 4.5 do 7.4. V proksimalnem delu tankega črevesa (jejunum) je pH približno 6.8, čas zadrževanja pa 30 – 40 min. V distalnem delu tankega črevesa (ileum) je pH približno 7.4, pH 6.5 pa predstavlja okolje začetnega dela debelega črevesa (84).

**Preglednica III:** Predstavitev uporabljenih programov za BIODIS s podanimi časi vzorčenja glede na različne posode z različnimi pH-ji pri preskusu raztapljanja dvakrat po 25 mg učinkovine iz dvoslojnih tablet (84).

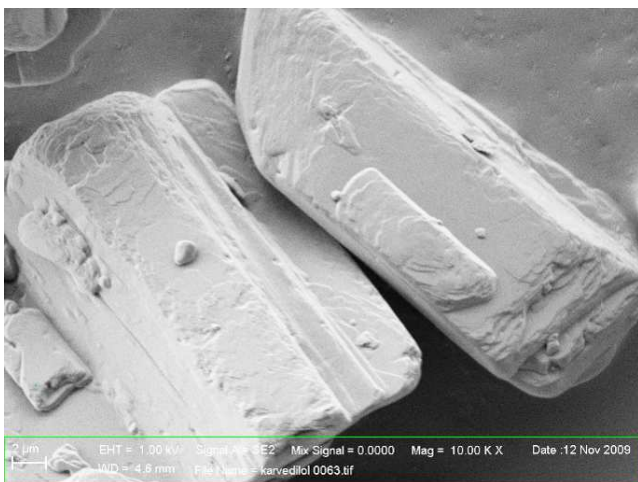
Simulacija pogojev "na tešče"		Časi vzorčenja	Simulacija pogojev "po jedi"	
Posoda	pH medija (0,5% SDS)		Posoda	pH medija (0,5% SDS)
1	1.2	5 min, 20 min, 1 h	1	4.5
2	1.2	1 h 30 min, 2 h	2	4.5
3	6.8	2 h 30 min	3	1.2
4	7.4	3 h, 4 h	4	1.2
5	7.4	4 h 45 min	5	6.8
6	6.5	6 h	6	7.4

## 4 REZULTATI IN RAZPRAVA

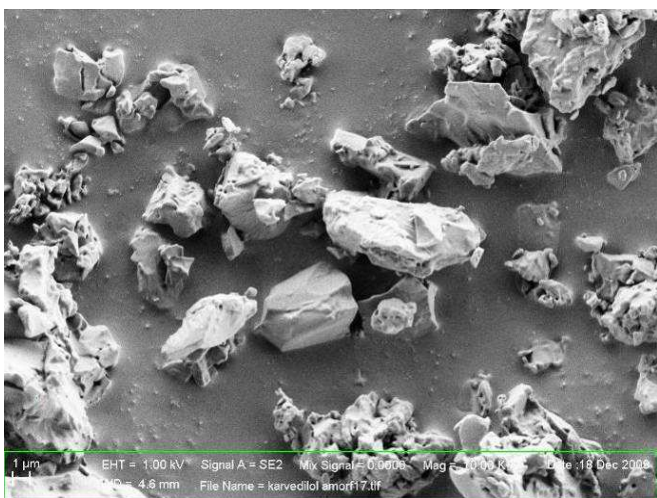
### 4.1 FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI UČINKOVINE

#### 4.1.1 Morfologija delcev

Modelno učinkovino lahko pripravimo v kristalni ali amorfni obliki. Slika 17 prikazuje kristalno obliko učinkovine, slika 18 pa njeno amorfno obliko. Učinkovina je bila posneta z vrstičnim elektronskim mikroskopom.



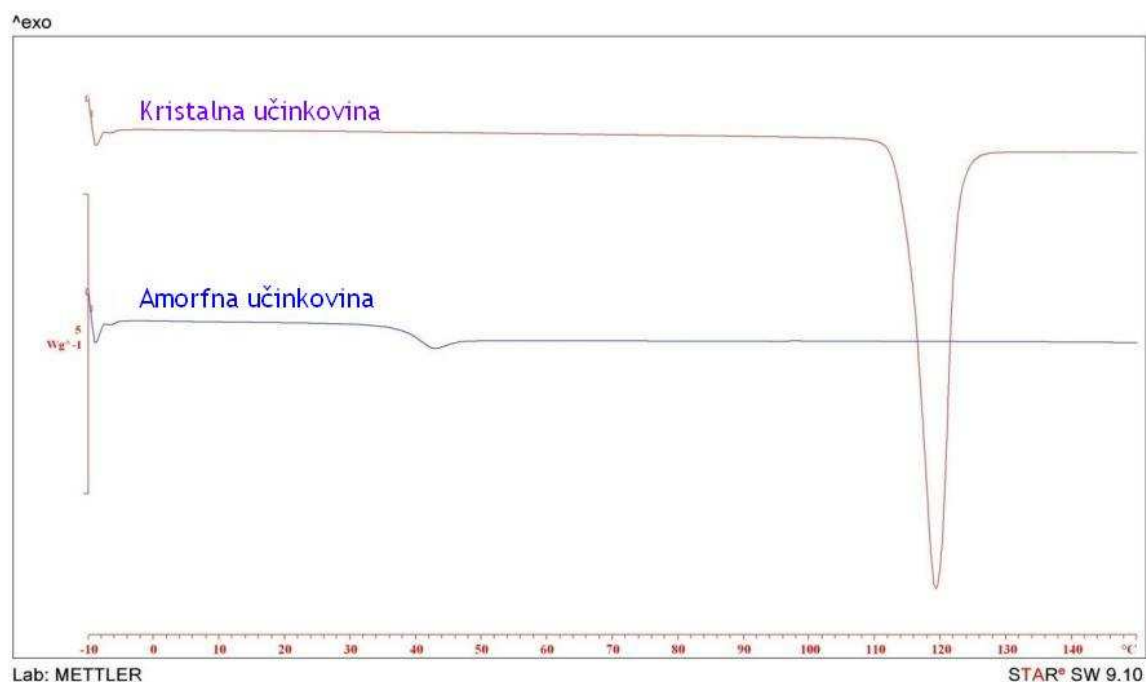
**Slika 17:** Elektronsko mikroskopska slika kristalne strukture modelne učinkovine; 10000 X povečava.



**Slika 18:** Elektronsko mikroskopska slika amorfne strukture modelne učinkovine.

### Termična analiza amorfne in kristalne oblike modelne učinkovine

Slika 19 prikazuje krivulji kristalne in amorfne oblike učinkovine, pridobljene z diferencialno dinamično kalorimetrijo. Pri zgornji krivulji, ki predstavlja kristalno učinkovino, vidimo taljenje pri 120°C. Pri spodnji krivulji, ki predstavlja amorfno obliko učinkovine, pa je pri 40°C prisoten steklast prehod.



Slika 19: DSC krivulji kristalne in amorfne oblike učinkovine.

#### 4.1.2 Topnost modelne učinkovine

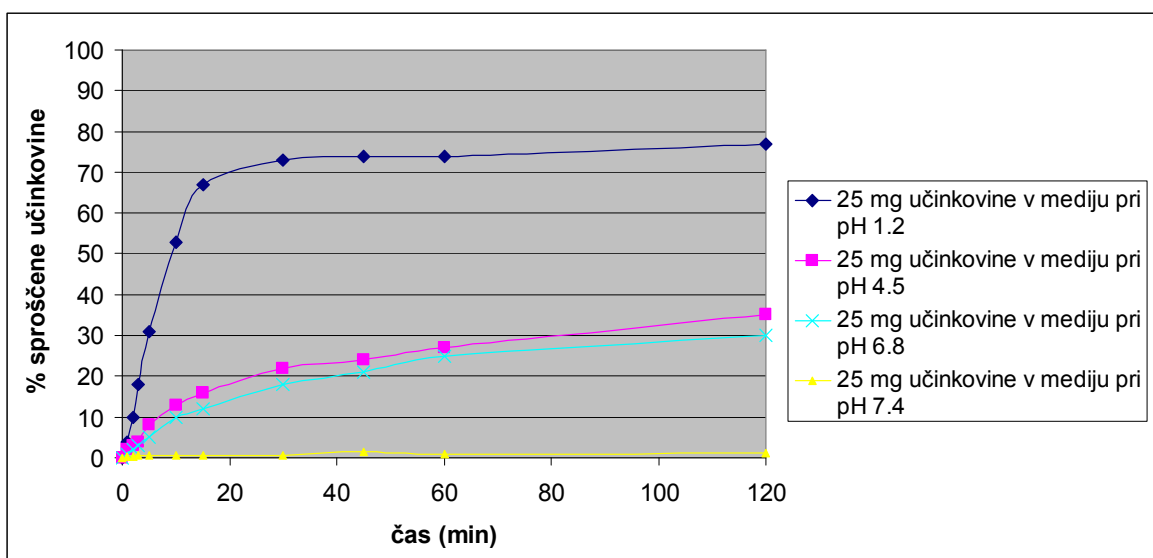
Topnost smo določali pri štirih različnih pH vrednostih, in sicer pri **pH 1.2** (0.1 M HCl + 5 g/L SDS) in pri treh fosfatnih pufrih z vrednostmi **pH 4.5, 6.8 in 7.4** (vsem trem smo dodali 5 g/L SDS). Najprej smo pripravili nasičene raztopine, jih filtrirali in ustrezno redčili. Vrednosti smo nato določili UV spektrofotometrično pri valovni dolžini 332 nm. V fosfatnih medijih je učinkovina izkazovala lepljive lastnosti, tvoril se je aglomerat, ki se tudi po 24 h stresanju ni razbil. V pufru s pH vrednostjo 4.5 smo izmerili topnost 950 mg/L, v pufru s pH 6.8 topnost 810 mg/L, v pufru s pH vrednostjo 7.4 pa topnost 760 mg/L. Topnost modelne učinkovine je torej z večanjem pH vrednosti padala, kar je tudi v skladu z literaturnimi podatki (82). V kislem mediju se je učinkovina dispergirala, vendar kljub filtriranju topnosti nismo mogli ustrezno določiti. Medij z vsebujočo učinkovino je namreč tudi po filtriranju ostal precej moten. Možno pojasnilo je, da se je učinkovina v tem

mediju sprva sicer raztopila, potem pa je prišlo do tvorbe soli s klorovodikovo kislino in situ. To je povzročilo zmanjšanje topnosti v kislem mediju in posledično še obarjanje.

Iz predhodno opravljene študije, kjer so nasičeno raztopino stresali 72 h pri sobni temperaturi, lahko vendarle zaključimo, da je topnost učinkovine v kislem mediju s pH 1.2 približno 4 krat boljše kot v fosfatnem pufri s pH vrednostjo 6.8. Topnost učinkovine je najboljša pri pH vrednosti okoli 5.5 in pada z višanjem pH vrednosti (Vir: Meritve topnosti modelne učinkovine; Krka, D.D., Novo mesto).

#### 4.1.3 Raztapljanje kristalne oblike učinkovine

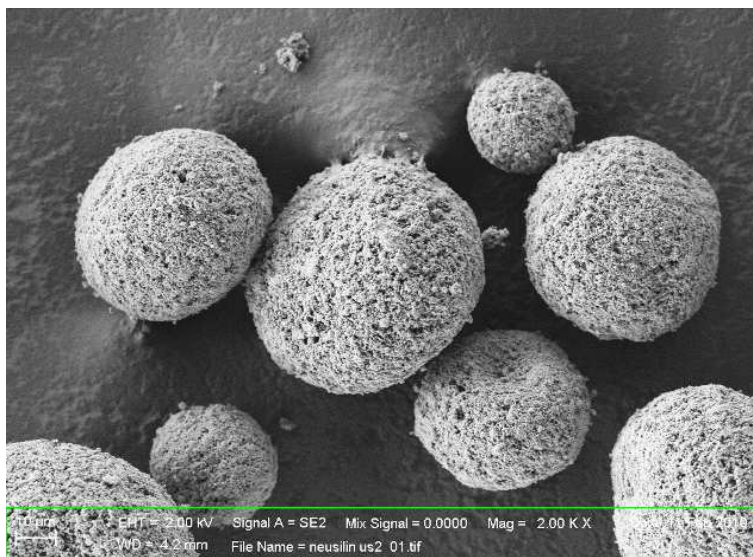
Raztapljali smo 25 mg učinkovine v 250 mL medija (z dodatkom 5 g/L SDS) 2 uri pri različnih pH (1.2, 4.5, 6.8 in 7.4). Kot je razvidno iz slike 20, se je učinkovina najboljše raztapljala v kislem mediju pri pH 1.2. Sproščanje kristalne učinkovine v pH-jih 4.5 in 6.8 je precej slabše, daleč najslabše pa je pri pH 7.4. Vzrok za tako počasno raztapljanje pri slednjem pH je v majhni topnosti modelne učinkovine pri tem pH.



**Slika 20:** Raztapljanje 25 mg učinkovine pri različnih pH (1.2, 4.5, 6.8 in 7.4) v 250 ml medija (+ 5 g/L SDS).

## 4.2 MORFOLOGIJA DELCEV NEUSILINA US2

Slika 21 prikazuje porozni magnezijev aluminometasilikat Neusilin US2, posnet z vrstičnim elektronskim mikroskopom. Delci se nahajajo v obliki granul (kroglic), njihova deklarirana velikost pa sega od 44 do 177  $\mu\text{m}$ .



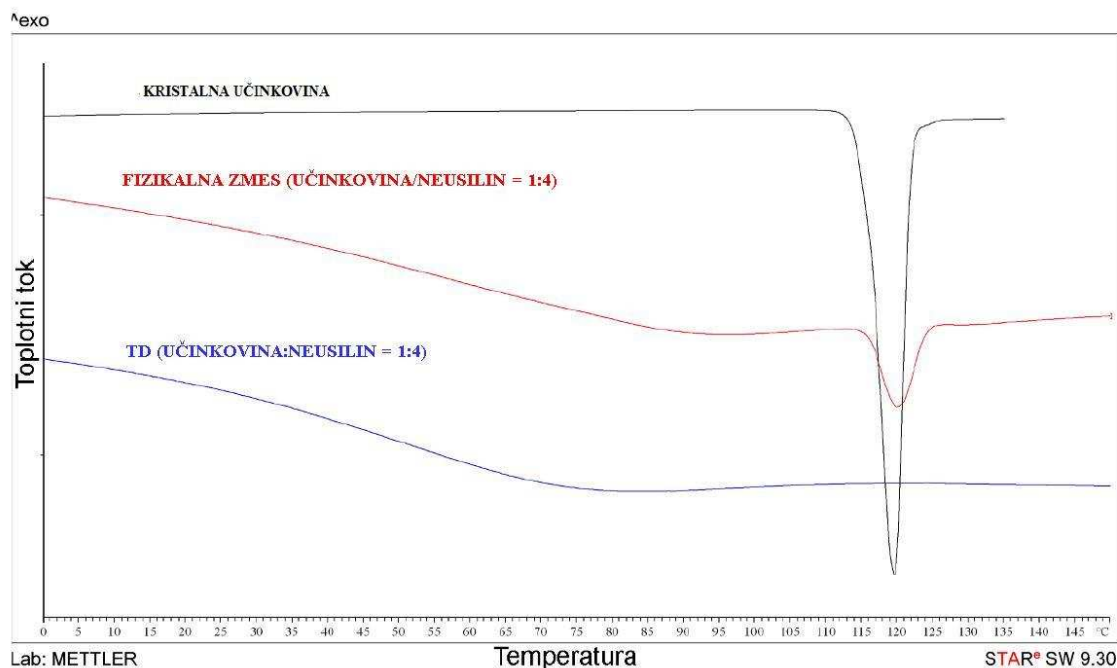
**Slika 21:** *Elektronsko mikroskopska slika Neusilin US2; povečava 2000 X.*

### 4.3 IZDELAVA TRDNIH DISPERZIJ

Izdelava trdnih disperzij s poroznim nosilcem je metoda s katero lahko izboljšamo hitrost raztapljanja zdravilne učinkovine. Z Neusilinom so hitrost raztapljanja povečali naslednjim učinkovinom: indometacinu, ketoprofenu, naproksenu, progesteronu in drugim (12). Z izdelavo trdne disperzije omogočimo tvorbo kemijskih in fizikalnih vezi med učinkovino in poroznim nosilcem ter povečamo stabilnost učinkovine v amorfni obliki. V našem primeru je poleg interakcij med učinkovino in površino pomožne snovi možen mehanizem stabilizacije amorfne učinkovine obarjanje v porah Neusilina.

#### 4.3.1 Termična analiza trdne disperzije

Slika 22 prikazuje DSC krivulje kristalne oblike učinkovine, učinkovine iz fizikalne zmesi in učinkovine v trdni disperziji (TD) v razmerju učinkovina:Neusilin = 1:4. Kristalna oblika učinkovine ima talilni vrh pri temperaturi 120°C. Ker ima tudi učinkovina v fizikalni zmesi talilni vrh pri 120°C, je očitno, da se tudi ta nahaja v kristalni obliki. Pri učinkovini vgrajeni v TD talilnega vrha pri 120°C ni in zato sklepamo, da je učinkovina vgrajena v TD v amorfni obliki.



**Slika 22:** DSC krivulje kristalne oblike učinkovine (črna krivulja), učinkovine v fizikalni zmesi (rdeča krivulja) in v TD (modra krivulja). Pri slednjih dveh je razmerje med učinkovino in Neusilinom 1:4.

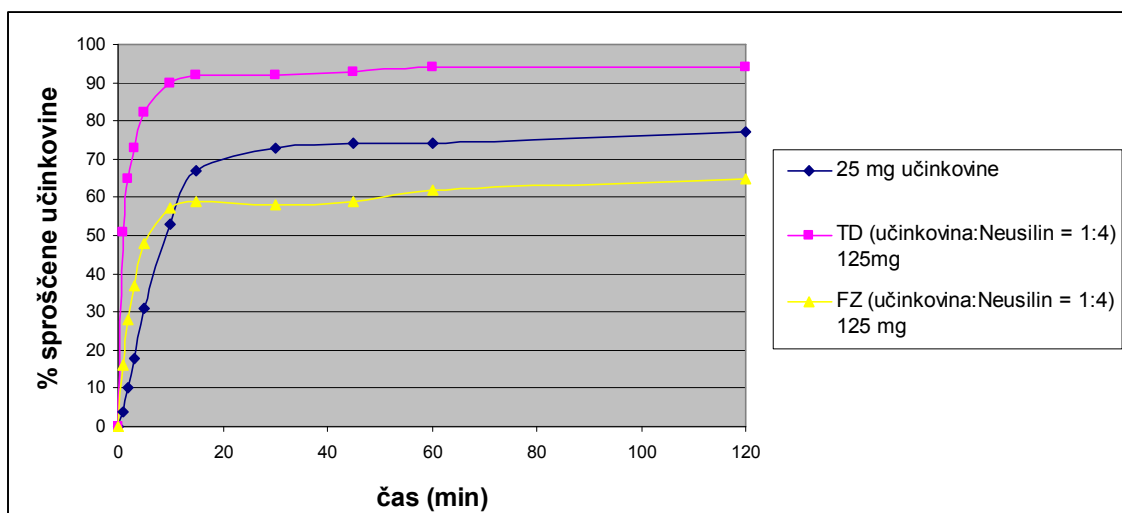
#### 4.3.2 Preskus raztapljanja kristalne učinkovine, učinkovine iz trdne disperzije in fizikalne zmesi

Učinkovino smo raztapljali v mediju s štirimi različnimi pH; s pH 1.2 smo simulirali želodčni sok, s pH 4.5 želodčni sok po vnosu hrane, s pH 6.8 proksimalno tanko črevo (jejunum), s pH 7.4 pa črevesno tekočino distalnega tankega črevesa (ileum). Volumen medija je bil 250 ml (+ 5 g/L SDS), odmerek učinkovine pa 25 mg.

##### Raztapljanje pri pH 1.2

Iz slike 23 je razvidno, da se je učinkovina v kristalni obliki v mediju s pH 1.2 v dveh urah sicer raztopila relativno hitro (77 %), z vgraditvijo učinkovine v TD pa smo raztapljanje še bistveno izboljšali. V dveh urah se je raztopilo 94% učinkovine, pa tudi hitrost raztapljanja je bila večja. Tudi če primerjamo TD in FZ vidimo, da je bilo raztapljanje učinkovine iz TD bistveno boljše kot pri FZ, kjer se je v dveh urah raztopilo 65% učinkovine.

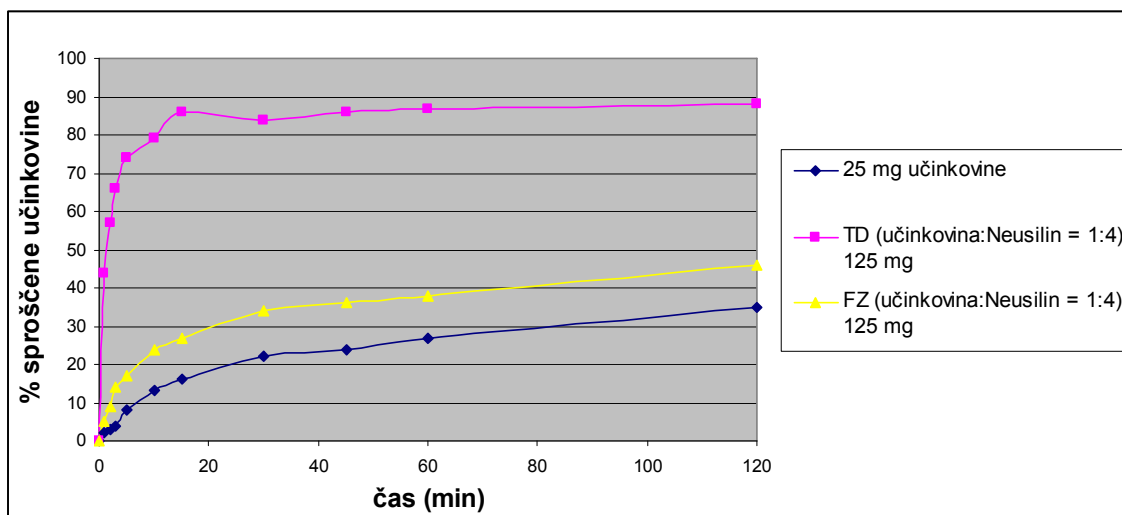




**Slika 23:** Raztapljanje 25 mg kristalne oblike učinkovine, 25 mg učinkovine iz trdne disperzije (TD) in 25 mg učinkovine iz fizikalne zmesi (FZ) v 250 mL medija pri pH 1.2 (+ 5 g/L SDS).

#### Raztapljanje pri pH 4.5

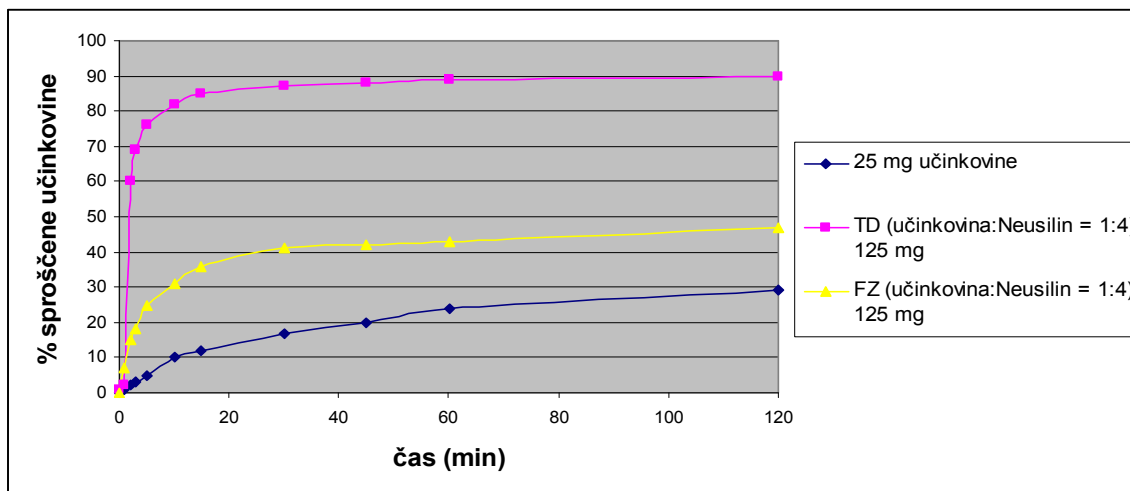
Na sliki 24 vidimo, da se je pri pH 4.5 v dveh urah najslabše raztopila kristalna učinkovina (35%), nekoliko bolje učinkovina iz FZ (46%), daleč najbolj pa se je raztopila učinkovina iz TD (88%).



**Slika 24:** Raztapljanje 25 mg kristalne oblike učinkovine, 25 mg učinkovine iz trdne disperzije (TD) in 25 mg učinkovine iz fizikalne zmesi (FZ) v 250 mL medija pri pH 4.5 (+ 5 g/L SDS).

### Raztapljanje pri pH 6.8

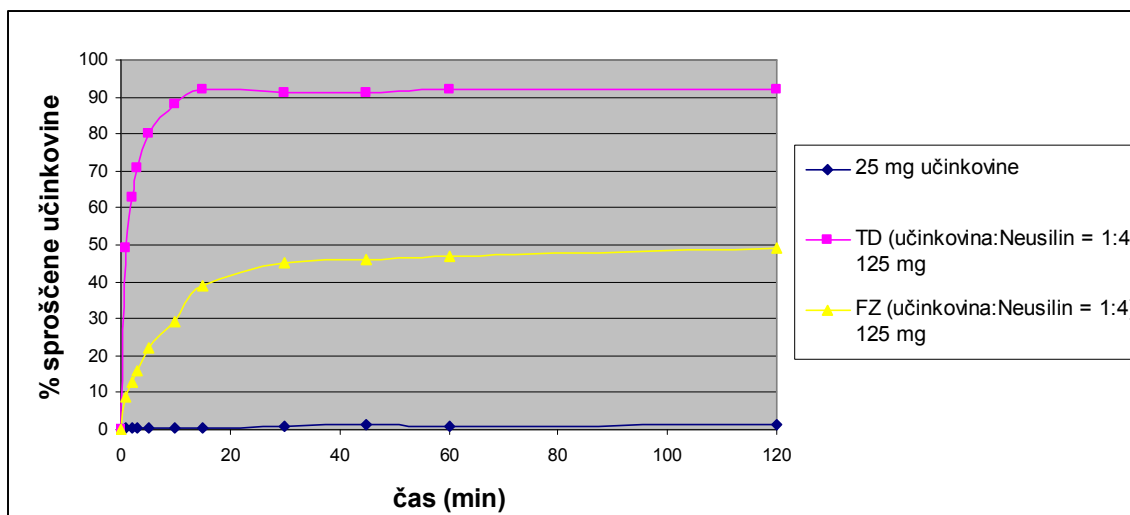
Slika 25 prikazuje raztapljanje v mediju s pH 6.8. V dveh urah se je raztopilo 29% kristalne oblike učinkovine, 47% učinkovine iz FZ ter 90% učinkovine iz TD.



**Slika 25:** Raztapljanje 25 mg kristalne oblike učinkovine, 25 mg učinkovine iz trdne disperzije (TD) in 25 mg učinkovine iz fizikalne zmesi (FZ) v 250 mL medija pri pH 6.8 (+ 5 g/L SDS).

### Raztapljanje pri pH 7.4

Na sliki 26 vidimo, da se je v dveh urah raztopil samo 1,5% učinkovine v kristalni obliki, 49% učinkovine iz FZ in 92% učinkovine iz TD.



**Slika 26:** Raztapljanje 25 mg kristalne oblike učinkovine, 25 mg učinkovine iz trdne disperzije (TD) in 25 mg učinkovine iz fizikalne zmesi (FZ) v 250 mL medija pri pH 7.4 (+ 5 g/L SDS).

## 4.4 IZDELAVA JEDRNIH TABLET

Tablete smo izdelali iz trdne disperzije oz. fizikalne zmesi (učinkovina: Neusilin = 1:4) in pomožnih snovi, jih ovrednotili ter primerjali raztapljanje učinkovine iz njih z raztapljanjem učinkovine iz netabletirane trdne disperzije in fizikalne zmesi v medijh s pH 1.2 in 4.5 (ob dodatku 5 g/L SDS).

### 4.4.1 Vrednotenje jedrnih tablet

#### Test enakomernosti mase

Za serijo 20 jedrnih tablet, izdelanih iz trdne disperzije in pomožnih snovi, smo izvedli preskus enakomernosti mase po Ph. Eur. 7<sup>th</sup> Ed.. Tabletiranje smo izvajali ročno. Pri testu enakomernosti mase smo ugotovili, da so vse jedrne tablete ustrezne, saj nobena od njih od povprečne mase ni odstopala več, kot to dovoljuje evropska farmakopeja (preglednica IV). Največ dve tableti bi od povprečne mase lahko odstopali za več kot 10%, nobena od dvajsetih pa ne bi smela odstopati za več kot 20%. Ustreznost zahtevam nas ni presenetila, saj smo tabletirno zmes zatehtali za vsako tableto posebej, jo prenesli v matrično vdolbino ter ročno stisnili. V primeru avtomatskega tabletiranja pa bi bilo potrebno zmesem zagotoviti dobre pretočne lastnosti, da bi tablete ustrezale preskusu enakomernosti mase.

***Preglednica IV:** Masa (največja, najmanjša in povprečna) 20 jedrnih tablet ter standardni in relativni odkloni mas.*

Masa (mg)			SD	RSD
najmanjša	največja	povprečna	(mg)	(%)
147,3	148,2	147,7	0,26	0,17

#### Trdnost tablet

Na napravi za določanje trdnosti Vanderkamp, VK 200, smo v skladu s Ph. Eur. 7<sup>th</sup> Ed. izvedli preskus trdnosti na treh tabletah. Zelena trdnost jedrnih tablet je bila med 30 in 50 N, povprečna trdnost izdelanih jedrnih tablet pa je na koncu znašala 38.7 N (Preglednica V).

**Preglednica V:** Trdnost tablet (povprečna masa tablet = 147.7 mg).

Trdnost (N)			SD (N)	RSD (%)
največja	najmanjša	povprečna		
41	37	38,7	1,70	4,40

### **Razpadnost tablet**

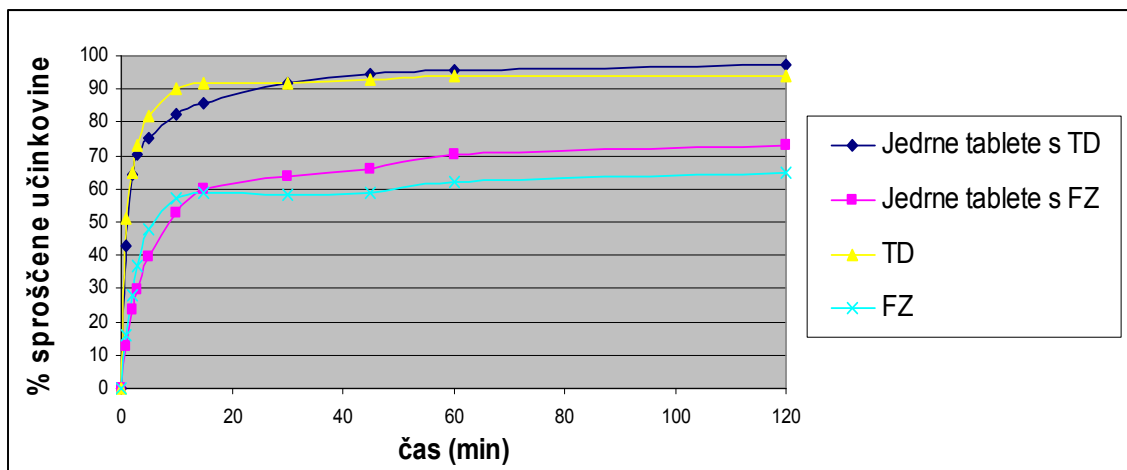
V skladu s Ph. Eur. 7<sup>th</sup> smo izvedli test razpadnosti tablet na 3 jedrnih tabletah (zaradi manjše količine izdelanih tablet). V čaše s prečiščeno vodo, segreto na 37°C, smo postavili jedrne tablete in opazovali čas, v katerem vse popolnoma razpadejo. Vse tri so razpadle v manj kot 30 sekundah, kar je bilo v skladu z našimi zahtevami. Zaželeno je namreč bilo, da jedrne tablete razpadejo čim prej, da bo tudi sproščanje drugega odmerka učinkovine (25 mg) iz dvoslojne tablete čim hitrejša.

#### **4.4.2 Preskus raztapljanja učinkovine iz jedrnih tablet**

Zanimalo nas je, ali se hitrost raztapljanja učinkovine iz jedrnih tablet, izdelanih bodisi iz trdne disperzije bodisi iz fizikalne zmesi, razlikuje od hitrosti raztapljanja iz netabletirane trdne disperzije ali fizikalne zmesi. Jedrne tablete smo zato analizirali v dveh medijih: pri pH 1.2 in 4.5 (+ 5 g/L SDS).

#### **Raztapljanje pri pH 1.2**

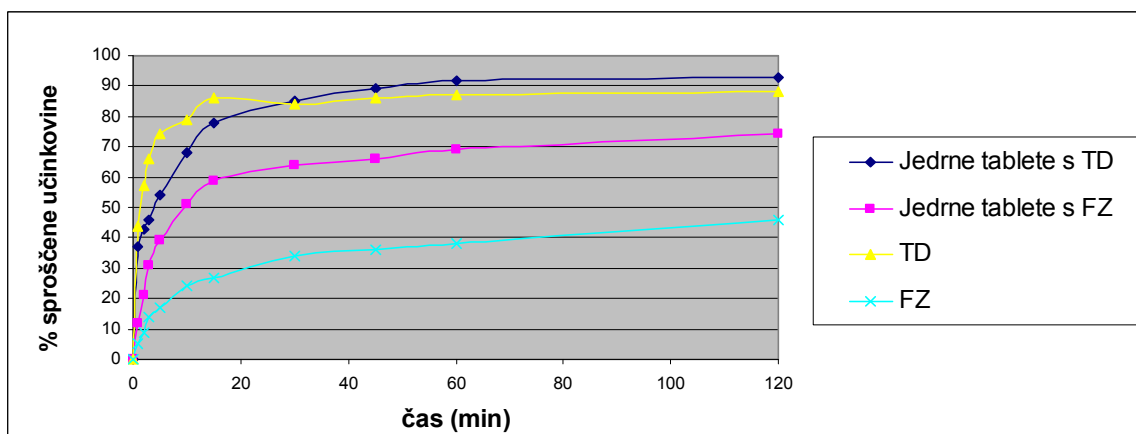
S slike 27 je razvidno, da je raztapljanje učinkovine iz jedrnih tablet, ki so izdelane iz TD, in netabletirane TD precej podobno. Ista ugotovitev velja tudi za jedrne tablete, ki vsebujejo FZ in netabletirano FZ. Torej lahko zaključimo, da tabletiranje v našem primeru ni bistveno vplivalo na spremembo sproščanja učinkovine.



**Slika 27:** Raztapljanje 25 mg učinkovine iz 125 mg TD in 125 mg FZ ter jedrnih tablet izdelanih iz TD in FZ v 250 mL medija pri pH 1.2 (+ 5 g/L SDS).

### Raztapljanje pri pH 4.5

Na sliki 28 vidimo, da je raztapljanje učinkovine iz jedrnih tablet, izdelanih s TD, precej podobno raztapljanju učinkovine iz netabletirane TD. Tudi tukaj zato lahko še enkrat zaključimo, da tabletiranje v našem primeru ni bistveno vplivalo na sproščanje učinkovine. Zanimiv je rezultat izboljšane raztapljanja učinkovine iz tablet, ki so vsebovale fizikalno zmes glede na čisto fizikalno zmes. Lahko, da je v primeru tablet prišlo do nastanka trdne disperzije preko sublimacije učinkovine.



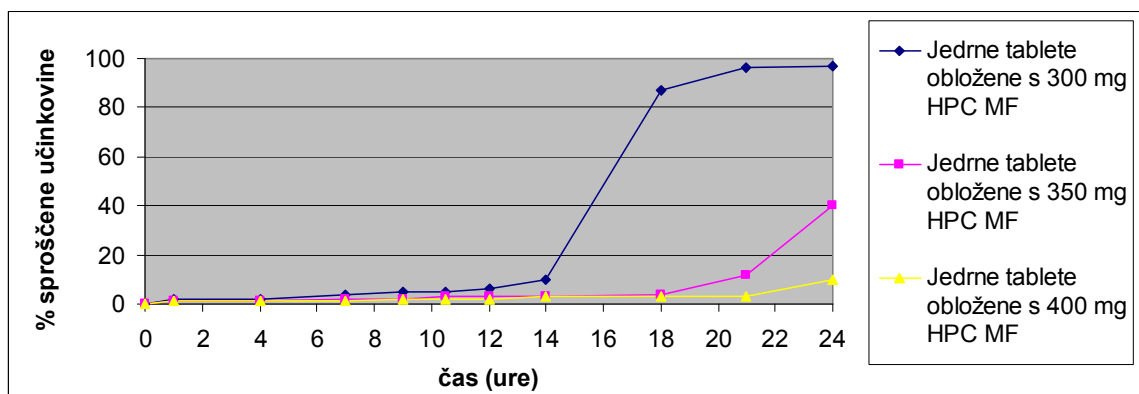
**Slika 28:** Raztapljanje 25 mg učinkovine iz 125 mg TD in 125 mg FZ ter jedrnih tablet izdelanih iz TD in FZ v 250 mL medija pri pH 4.5 (+ 5 g/L SDS).

## 4.5 IZDELAVA OBLOŽENIH TABLET

Z izdelavo obloženih tablet smo načrtovali drugi pulz sproščanja učinkovine od skupno dveh pulzov. Ker smo želeli izdelati formulacijo, ki bi dvakraten dnevni režim odmerjanja zdravila nadomestila z enkratnim, je bil želeni čas zakasnitve sproščanja 10 do 12 ur ob tem, da bi se učinkovina v obeh pulzih sprostila čim hitreje. Tablete smo izdelali tako, da smo jedrne tablete, ki so vsebovale trdno disperzijo, obložili s stiskanjem, s polimerom HPC (hidroksipropil celuloze). Da bi dosegli ustrezen čas zakasnitve sproščanja (angl. lag time) smo preučevali, kako nanj vplivajo naslednje spremenljivke: masa obloge, viskoznost polimera v oblogi ter sila stiskanja pri oblaganju. Da bi preučili položaj jedrne tablete znotraj obložene tablete, smo slednje prerezali na pol in z optičnim mikroskopom merili debelino obloge zgoraj, spodaj, levo in desno od jedrne tablete.

### 4.5.1 Vpliv mase polimera HPC v oblogi na začetek sproščanja učinkovine iz obloženih tablet

Želeli smo preučiti, kako na zakasnitveni čas pri obloženi tableti vpliva spreminjanje mase obloge pri istem tipu polimera, in doseči čas zakasnitve sproščanja učinkovine 10 do 12 ur. Prvi polimer, ki smo ga preučevali, je bil HPC tip MF. Jedrno tableto smo najprej obložili s 550 mg HPC MF in obloženo tableto nato analizirali v fosfatnem pufru s pH 6.8 (+ 5 g/L SDS) na napravi BIODIS. Maksimalen čas analize na tej napravi je 24 ur, zato smo zadnjo točko vzorčenja izbrali pri tem času. Izkazalo se je, da je bil pri tej masi obloge in pri tem tipu polimera čas zakasnitve sproščanja več kot 24 ur, saj se po tem času v medij ni sprostilo še nič učinkovine. Zato smo vedeli, da je potrebno izbrati manjšo maso obloge. Izdelali smo tri serije po tri tablete z masami obloge 400 mg, 350 mg in 300 mg. V tem vrstnem redu so si časi zakasnitve sproščanja sledili: 23 ur, 21 ur in 14 ur, kar lahko vidimo na sliki 29. Na žalost mase obloge nismo mogli zmanjšati pod 300 mg, saj smo ugotovili, da je pri približno 150 miligramski jedrni tableti s premerom 8 mm najmanjša smiselna masa obloge 300 mg ali več, če smo želeli izdelati obloženo tableto premera 12 mm. Pri manjši masi obloge smo namreč znotraj serije tablet dobili precej neponovljive zakasnitvene čase, kar je verjetno posledica neenakomernosti porazdelitve obloge po tableti. Začetka sproščanja učinkovine po 10 do 12 urah nam sicer ni uspelo dobiti, smo pa vseeno dokazali, da zakasnitveni čas do sproščanja učinkovine iz obloženih tablet narašča z naraščajočo maso obloge.



**Slika 29:** Vpliv različnih mas obloge na čas zakasnitve sproščanja učinkovine v obloženi tableti v fosfatnem mediju s pH 6.8 (+ 5 g/L SDS).

#### 4.5.2 Vpliv viskoznosti polimera HPC na začetek sproščanja učinkovine iz obloženih tablet

Na voljo smo imeli tri različne tipe polimera HPC (hidroksipropil celuloze): HPC EF, HPC HF in HPC MF. V preglednici VI lahko vidimo, kako se razlikujejo viskoznosti njihovih 1% vodnih raztopin. Stopnja viskoznosti nam služi kot parameter, ki predstavlja razlike v povprečnem številu substituiranih hidroksi skupin na molekulo glukoze pri HPC. Višja ko je viskoznost, večje je tudi število substituiranih hidroksi skupin v molekuli HPC. Polimer HPC MF ima med vsemi na trgu dostopnimi polimeri HPC najvišjo viskoznost, HPC EF pa najnižjo. Na žalost nam ni uspelo pridobiti še nekaterih drugih »vmesnih« tipov polimera HPC, npr. LF, JF in GF, ki imajo viskoznost 1% vodne raztopine med 15 do 200 mPas.

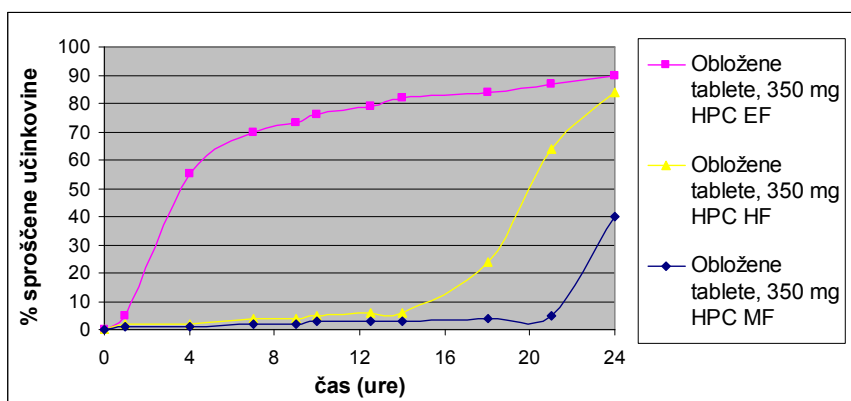
**Preglednica VI:** Viskoznost 1% vodnih raztopin različnih tipov polimerov HPC

	Viskoznost 1% vodnih raztopin HPC (mPas)
HPC EF	30-60
HPC HF	1500-3000
HPC MF	2000-3250

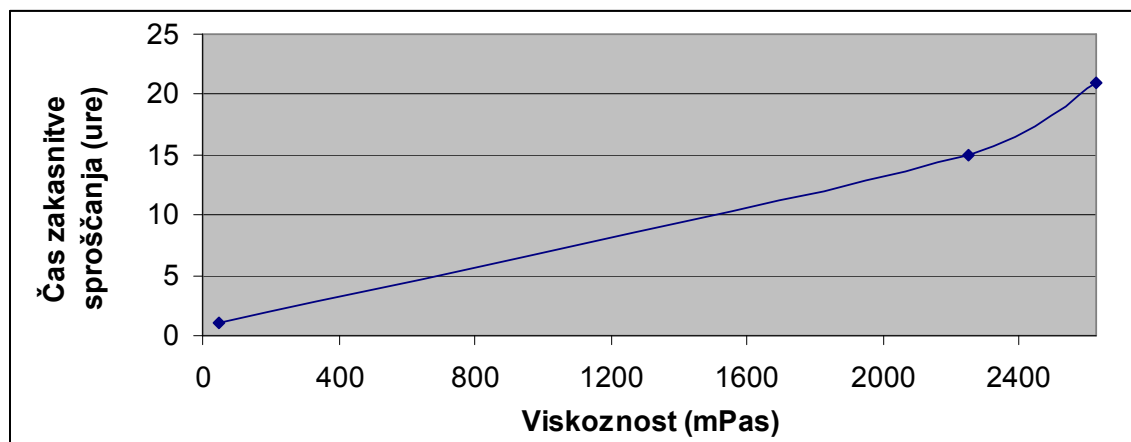
Ker nas je torej zanimal vpliv različnih tipov polimera HPC v oblogi tablet na začetek sproščanja učinkovine, smo izdelali 3 različne serije obloženih tablet (v vsaki seriji smo izdelali 3 tablete). Ene so bile obložene s polimerom HPC EF, druge s HPC HF, tretje pa s polimerom HPC MF. Vseh devet tablet je bilo obloženih s 350 mg obloge, analizirali

pa smo jih z napravo BIODIS v 250 mL fosfatnega pufru s pH 6.8, kateremu smo dodali še 5 g/L SDS.

Na sliki 30 vidimo, da je čas zakasnitve sproščanja iz obložene tablete s 350 mg HPC **EF** približno 1 ura, pri HPC **HF** 15 ur, pri HPC **MF** pa ta čas znaša 21 ur. Tako je jasno pokazano, da z večanjem viskoznosti polimera narašča tudi čas zakasnitve sproščanja obloženih tablet. Vendar pa so nas dobljeni rezultati napeljali na vprašanje, ali obstaja med viskoznostjo in izmerjenimi časi morda linearna povezava. Če za viskoznost polimerov iz preglednice VI izračunamo povprečno viskoznost, dobimo naslednje vrednosti: HPC EF ima viskoznost približno 45 mPas, HPC HF 2250 mPas, HPC MF pa 2625 mPas. Slika 31 predstavlja odvisnost časa zakasnitve sproščanja od povprečnih vrednosti viskoznosti polimera HPC.



**Slika 30:** Sproščanje 25 mg učinkovine iz jedrnih tablet, obloženih s 350 mg polimera HPC EF, HF in MF v fosfatnem pufru s pH 6.8 (+5 g/L SDS)



**Slika 31:** Odvisnost časov zakasnitve sproščanja učinkovine iz obloženih tablet (masa obloge 350 mg) od viskoznosti polimera HPC.



Na sliki 31 so sicer samo 3 točke, pa vendar je odvisnost dokaj linearna, korelacijski koeficient  $R^2$  znaša 0,9741. Upoštevati moramo, da so izbrane vrednosti viskoznosti polimerov približki in je zato tudi predstavljen graf zgolj približek. Vsekakor bi bilo zelo zanimivo izmeriti še nekaj več časov zakasnitve sproščanja v odvisnosti od različnih viskoznosti polimera HPC v intervalu med 200 in 1600 mPas. Omenil pa sem že, da smo imeli na voljo samo tri različne tipe polimera HPC.

### **Zmesi različnih tipov HPC v oblogi obložene tablete**

Da bi vendarle izmerili čase zakasnitve pri polimerih z viskoznostjo med 200 in 1600 mPas, smo poskusili z zmesmi treh polimerov, ki smo jih imeli na voljo. Po literaturi sodeč bi namreč lahko bila rešitev v mešanju dveh različnih tipov polimera HPC, npr. HPC EF in HPC HF (36). Če je namreč čas zakasnitve pri oblogi iz 350 mg HPC EF 1 ura, pri HPC HF pa 15 ur, bi z zmesjo teh dveh polimerov v ustreznem razmerju pri isti masi lahko dobili katerikoli čas med 1 in 15 ur. Z večanjem deleža HPC HF v zmesi bi čas zakasnitve povečevali, z večanjem deleža HPC EF pa bi čas zakasnitve krajšali. Tako smo tudi poizkusili z mešanjem polimerov HPC EF in HF. Jedrne tablete smo oblagali s 350 mg fizikalne zmesi obeh polimerov, pri čemer smo izdelali več serij z različnimi deleži polimerov, v vsaki seriji po 3 tablete. Polimera smo zmešali tako, da smo oba najprej presejali skozi sito velikosti 63 do 180  $\mu\text{m}$ , nato pa ju mešali s pestilom v pateni 15 min.

Rezultati meritev zakasnitvenega časa v obloženi tableti so bili neustrezni, saj je bila ponovljivost rezultatov znotraj serije treh tablet zelo slaba. Kot primer lahko navedem serijo treh obloženih tablet, v katerih je bilo razmerje polimerov HPC EF : HPC HF 1:1, masa obloge pa je bila 350 mg. Pri eni izmed treh tablet je bil zakasnitveni čas 2 uri, pri drugi 7 ur, pri tretji pa 11 ur. Podobne rezultate smo dobivali tudi pri drugih serijah. Ker nam pri večini serij ni uspelo dobiti dovolj primerljivih rezultatov, smo prenehali s preučevanjem zmesi polimerov HPC za oblaganje jedrnih tablet. Težava je bila očitno v tem, da sta bila polimera neenakomerno pomešana. Na tistem mestu v oblogi, kjer je bil delež nizkoviskoznega polimera HPC EF velik, je zato prej prišlo do zadostne erozije obloge in posledično tudi do začetka sproščanja učinkovine iz obložene tablete. Večji ko je bil delež polimera HPC EF na nekem mestu v oblogi, prej je prišlo do (prezgodnjega) sproščanja. Rešitev za doseg bolj enakomerne porazdeljenosti obeh polimerov v zmesi za oblaganje bi bila morda raztopitev polimerov v hlapnem organskem topilu (v takem, kjer

sta polimera dobro topna), čemur bi sledilo odstranjevanje topila z odparevanjem pri znižanem tlaku.

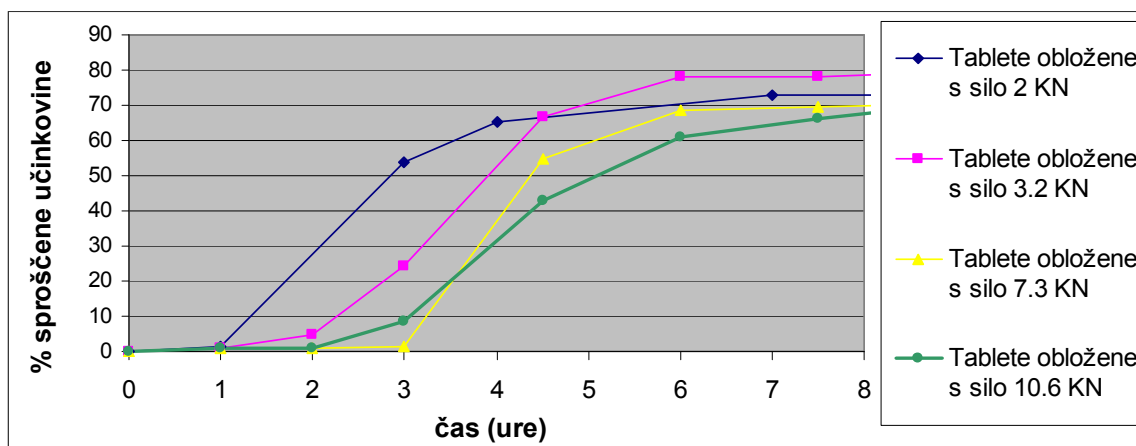
#### 4.5.3 Vpliv sile stiskanja pri izdelavi obloženih tablet na začetek sproščanja učinkovine

Pri raziskovanju vpliva sile pri oblaganju jedrnih tablet na sproščanje učinkovine iz obloženih tablet smo kot parameter merili silo na zgornjem pečatu pri tabletiranju. Oblagali smo jedrne tablete z maso 147,7 mg in premerom 8 mm, masa obloge polimera HPC EF pa je bila 450 mg. V preglednici VII so prikazane nastavitve na zgornjem in spodnjem pečatu pri oblaganju s stiskanjem ter doseženi časi zakasnitve sproščanja učinkovine.

*Preglednica VII: Nastavitve na zgornjem in spodnjem pečatu ter sila na zgornjem pečatu pri izdelavi obloženih tablet s stiskanjem ter doseženi zakasnitveni časi. Masa obloge HPC EF je 450 mg.*

	Nastavitev na zgornjem pečatu	Nastavitev na spodnjem pečatu	Zakasnitveni čas (h)
Tablete obložene s silo <b>2 kN</b>	134	180	≈ 1
Tablete obložene s silo <b>3,2 kN</b>	136	180	≈ 2
Tablete obložene s silo <b>7,3 kN</b>	141	180	≈ 3
Tablete obložene s silo <b>10,6 kN</b>	143	180	≈ 3

Rezultati so pokazali, da s povečevanjem sile stiskanja pri izdelavi obloženih tablet povečujemo tudi čas do začetka sproščanja učinkovine (slika 32). Pri določeni sili, v našem primeru je to 10.6 kN, dosežemo mejo, ko zakasnitvenega časa več ne moremo podaljševati, hkrati pa se prične zmanjševati hitrost sproščanja učinkovine. Z večjo silo stiskanja se namreč zmanjša volumen obloženih tablet in poveča gostota. Poleg tega se verjetno zmanjša velikost por v oblogi obložene tablete in zato medij za raztapljanje vanjo težje prodira. Torej lahko zaključimo, da je povečevanje sile stiskanja pri oblaganju s stiskanjem smiselno le do neke mere, saj se pri prevelikih silah poslabša sproščanje, kar pri slabo topnih učinkovinah že samo po sebi predstavlja velik problem.

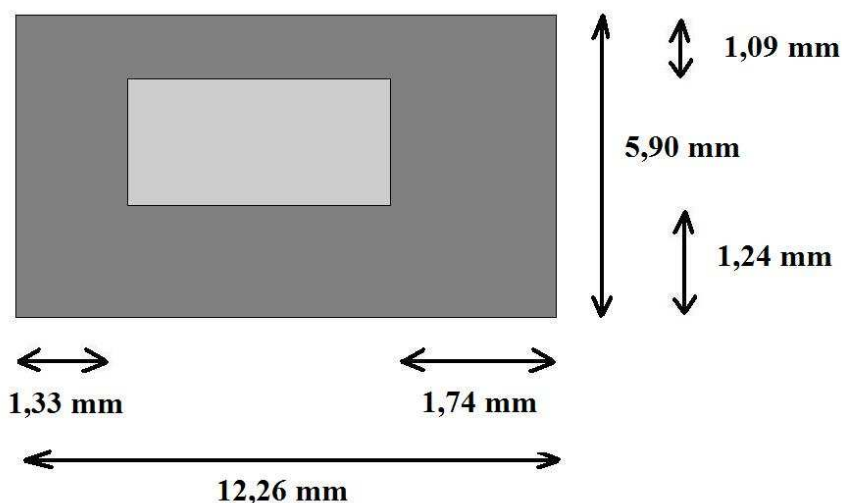


**Slika 32:** Vpliv sile stiskanja na zgornjem pečatu na sproščanje učinkovine iz obloženih tablet v fosfatnem pufri s pH 6.8 (+ 5 g/L SDS).

#### 4.5.4 Položaj jedrne tablete v obloženi tableti

Za zagotovitev dobre ponovljivosti sproščanja učinkovine iz obloženih tablet je zelo pomembno, da je debelina obloge okrog jedrne tablete pri vsaki izmed obloženih tablet čim bolj enakomerno debela. Sproščanje učinkovine se namreč začne najprej na tistem delu, kjer je debelina obloge najtanjša. Tam bo najhitreje prišlo do zadostne erozije obloge za začetek sproščanja. Zato je razumljivo, da morajo imeti tablete znotraj iste serije obloženih tablet obloge čim bolj enake debeline, da bo sproščanje učinkovine pri tej seriji čim bolj primerljivo.

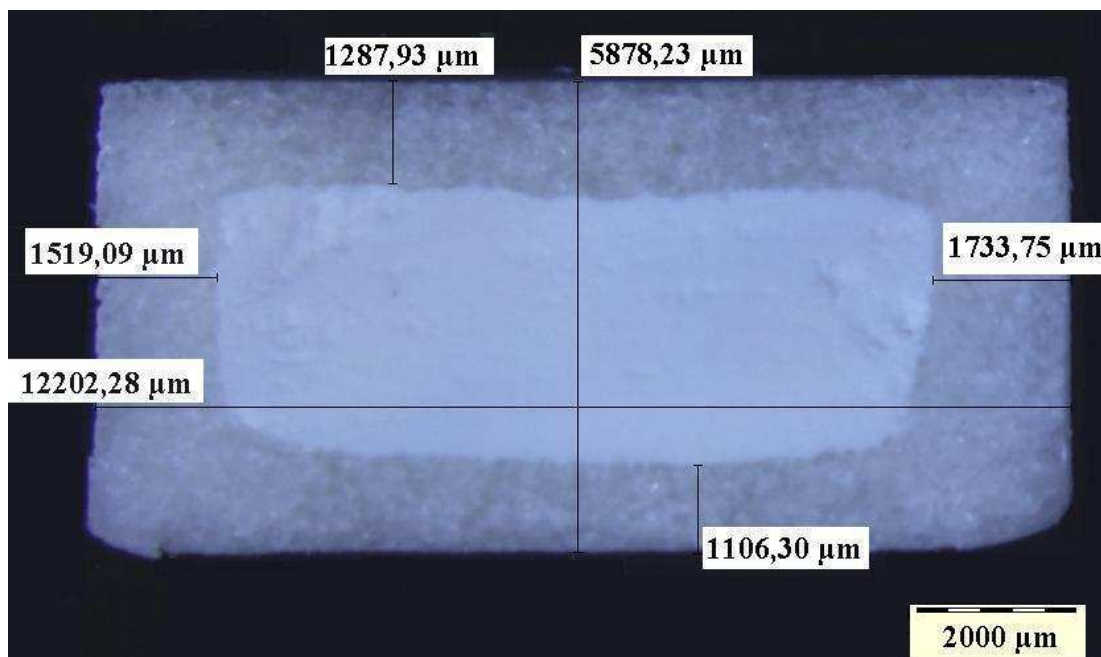
Izdelali smo 5 obloženih tablet z maso obloge 500 mg, uporabili pa smo polimer HPC EF. Sila na zgornjem pečatu je bila 3,4 kN, pri čemer je bila nastavitev na zgornjem pečatu 130, na spodnjem pa 180. Dobili smo tablete premera 12 mm in višino 5,9 mm. Obložene tablete smo nato prerezali na pol z ostrim rezilom in s pomočjo optičnega mikroskopa pri 12,86 kratni povečavi merili debelino obloge okrog jedrne tablete. Slika 33 predstavlja povprečje rezultatov teh meritev, vidimo pa lahko povprečen premer ter višino obloženih tablet in povprečno debelino obloge okrog jedrne tablete. Rezultate smo obdelali tako, da smo pri vsaki obloženi tableti za levi del obloge vzeli tisti del, kjer je bila debelina obloge ob strani manjša, za desni del pa tistega, kjer je bila debelina ob strani večja. Prav tako je zgornji del obloge tisti, kjer je bila debelina obloge nad jedrno tableto manjša, spodnji del pa tisti, kjer je bila debelina obloge večja. Na sliki 34 (na naslednji strani) pa vidimo na pol prerezano obloženo tableto skozi elektronski mikroskop.



**Slika 33:** Povprečje meritev petih s HPC EF obloženih tablet, masa obloge je 500 mg: povprečni premer in višina obložene tablete ter debelina obloge okrog jedrne tablete.

Iz slike 33 in preglednice VIII vidimo, da je bil najtanjši del obloge tisti nad jedrno tableto. To pa je tudi v skladu z opazovanji pri testih sproščanja učinkovine iz obloženih tablet: njihova obloga je največkrat najhitreje erodirala nad (oz. pod) jedrno tableto, ne pa ob straneh. To pomeni, da kritični parameter za sproščanje ni bila debelina obloge ob straneh, pač pa zgoraj in spodaj. Če bi želeli, da bi se sproščanje učinkovine začelo ob straneh, bi lahko dosegli na dva načina:

1. Povečali bi maso obloge in s tem tudi njeno debelino nad in pod jedrno tableto do te mere, da bi bila debelina obloge zgoraj in spodaj večja od tiste ob straneh. S povečevanjem mase obloge bi se povečevala njena debelina samo zgoraj in spodaj, ne pa ob straneh, saj ne bi spreminjali premera niti jedrne niti obložene tablete.
2. Lahko bi zmanjšali debelino obloge ob straneh in ohranili maso obloge. To bi naredili tako, da bi naše jedrne tablete s premerom 8 mm oblagali v matrični vdolbini premera 10 mm, ne pa 12 mm. Lahko pa bi izdelali tudi jedrne tablete s premerom 10 mm in jih oblagali v matrični vdolbini, ki bi imela premer 12 mm.



**Slika 34:** Jedrna tableta v sredini, obložena s 500 mg polimera HPC EF ter debeline obloge: zgoraj, spodaj ter na desni in levi.

**Preglednica VIII:** Povprečne vrednosti debeline obloge na levi, desni, zgornji in spodnji strani obložene tablete ter ustrezne standardne in relativne standardne napake petih obloženih tablet.

Debelina obloge okrog jedrne tablete			
	Povprečje (μm)	SD (μm)	RSD (%)
Levi del obloge	1330	113	8,5
Desni del obloge	1740	93	5,6
Zgornji del obloge	1090	94	8,7
Spodnji del obloge	1240	62	5,1

Če s pomočjo podatkov s slike 33 izračunamo povprečni premer jedrne tablete znotraj obložene tablete, ugotovimo, da ta znaša približno 9,2 mm (od premera obložene tablete odštejemo debelino obloge na desni in levi strani). Ker je bil premer jedrnih tablet pred oblaganjem približno 8,1 mm, to pomeni, da se je med oblaganjem oz. tabletiranjem jedrna tableta razširila za 1,1 mm oz. 13,6%. Če izračunamo še povprečno višino jedrne tablete znotraj obložene tablete, dobimo vrednost 3,6 mm. Ker je bila višina jedrnih tablet pred oblaganjem 4,1 mm, to pomeni, da se je ta med postopkom oblaganja zmanjšala za 0,5 mm oz. 12,2%.

V preglednici VIII vidimo, da so bile relativne standardne napake vseh strani obloge 5 tablet precej podobne (levi in zgornji del obloge 8,5% in 8,7% ter desni in spodnji del obloge 5,6% in 5,1%). Celokupno gledano je bilo torej variiranje debeline obloge v horizontalni smeri (levo/desno) skoraj popolnoma enako tistemu v vertikalni smeri (gor/dol). Pri postopku oblaganja s stiskanjem smo lahko vplivali predvsem na položaj jedrne tablete v horizontalni smeri in zato tudi na debelino obloge na levi in desni strani ob jedrni tableti. Kritičen je bil trenutek, ko smo postavljali jedrno tableto na sredino matrične vdolbine. Zagotoviti, da bi bila jedrna tableta postavljena točno na sredino, je bilo zelo težko, saj smo jedrne tablete v matrično vdolbino postavljali ročno. Manjši vpliv smo imeli na variiranje debeline obloge nad in pod tableto. Tu je imelo pomemben vpliv polnjenje matrične vdolbine s polimerom za oblaganje. To smo izvedli tako, da smo v vdolbino najprej vsuli polovico mase polimera, nanj položili jedrno tableto in nato čez vsuli še drugo polovico polimera. Kljub temu, da sta bili prva in druga polovica mase polimera za oblaganje natančno natehtani, je očitno prišlo do precejšnih variiranj v debelinah obloge nad in pod jedrno tableto pri 5 obloženih tabletah. Razlog za to je bil morda v tem, da prva polovica vsutega polimera, preden je bila nanjo položena jedrna tableta, ni bila vedno povsem enako poravnana.

#### 4.6 IZDELAVA DVOSLOJNIH TABLET

S predhodno izdelavo obloženih tablet smo načrtovali drugi pulz sproščanja učinkovine iz dvoslojnih tablet. Žal nam v nobeni seriji obloženih tablet zaradi že omenjenih težav ni uspelo doseči zelenega zakasnitvenega časa sproščanja učinkovine 10 do 12 ur. Zato smo se odločili, da bomo pri izdelavi dvoslojnih tablet izhajali iz s **HPC EF** obloženih tablet, pri katerih je bila masa obloge **500 mg**. Te tablete so imele premer 12 mm in so bile visoke 5,9 mm. Po natabletiranem vrhnjem sloju so imele končne, dvoslojne tablete maso 801 mg in so bile visoke 8.3 mm.

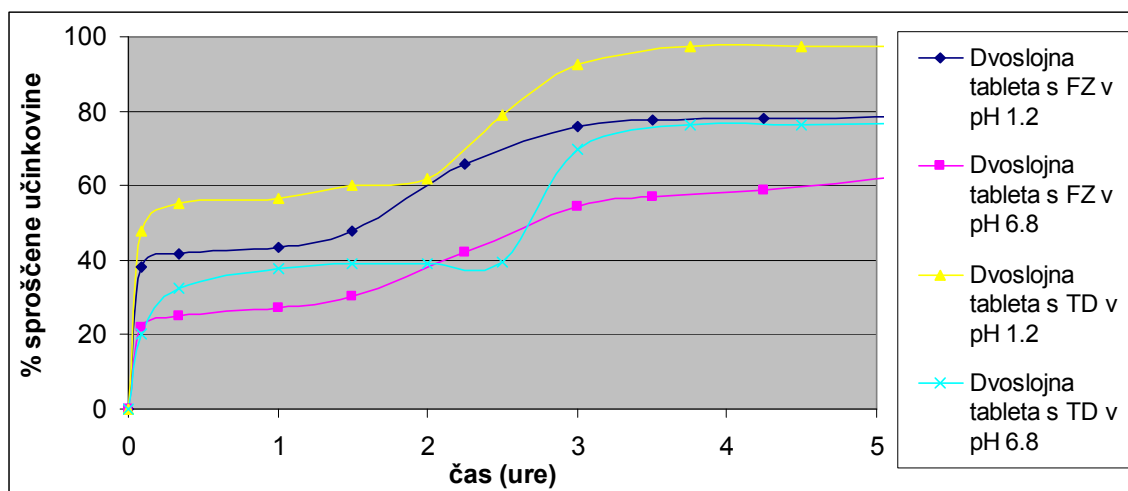
Želeni profil sproščanja iz dvoslojnih tablet je bil, da se prvi pulz sproščanja začne takoj in da se vsa učinkovina sprosti čim hitreje naenkrat. Drugi pulz pa bi se moral začeti z zakasnitvijo, nato pa bi se vsa učinkovina spet sprostila čim hitreje.

#### **4.6.1 Preskus raztapljanja učinkovine iz dvoslojnih tablet**

Profil dvopulznega sproščanja iz obloženih tablet je tak, kot smo si ga želeli, z izjemo dejstva, da nam ni uspelo dobiti zakasnitvenega časa med 10 in 12 ur. Na sliki 35 pri vseh izdelanih obloženih tabletah namreč vidimo takojšen začetek sproščanja prvega pulza učinkovine (25 mg). Celotna količina prvega odmerka učinkovine se sprosti že po približno 30 minutah in dosežen je prvi plato. Ta traja vse do zakasnitvenega časa, ki je pri dvoslojnih tabletah, ki vsebujejo TD, približno 2 do 2,5 uri, pri dvoslojnih tabletah s FZ pa ta čas znaša približno 1 uro in 45 minut. Po zakasnitvenem času se začne še drugi pulz sproščanja učinkovine, pri čemer se še enkrat sprosti novih 25 mg učinkovine. Sproščanje učinkovine pri drugem pulzu je bilo hitro predvsem pri obloženih tabletah, ki vsebujejo TD. Pri teh tabletah se je celotna količina učinkovine sprostila v pol ure (pri pH 6.8) oz. v 1 uri (pri pH 1.2). Pri dvoslojnih tabletah, ki so bile izdelane iz FZ, je bilo sproščanje učinkovine počasnejše in je trajalo več kot 1,5 ure, da se je sprostila celotna količina učinkovine med drugim pulzom.

##### ***4.6.1.1 Vpliv pH na sproščanje učinkovine iz dvoslojnih tablet pri pH 1.2 in 6.8***

Da bi videli, kakšen vpliv bo na sproščanje učinkovine iz dvoslojnih tablet imel različen pH, smo preskus sproščanja opravili v dveh medijih: kislem s pH 1.2 in fosfatnem mediju s pH 6.8 (obema smo dodali še 5 g/L SDS). Iz rezultatov na sliki 35 lahko potrdimo, da so izdelane dvoslojne tablete časovno odvisen in ne od pH odvisen sistem. Na čas začetka sproščanja učinkovine iz takega sistema različen pH namreč ne vpliva, čas zakasnitve sproščanja ostane enak. Če primerjamo sproščanje iz dvoslojne tablete s TD pri pH 1.2 in 6.8, vidimo, da je čas zakasnitve sproščanja drugega pulza pri obeh približno 2 do 2,5 uri. Tudi pri obeh dvoslojnih tabletah s FZ se sproščanje drugega pulza začne istočasno, pri približno 1 uri in 45 minut. Razlika je le ta, da se pri pH 1.2 sprosti več učinkovine, tako pri TD kot tudi pri FZ, saj je topnost modelne učinkovine v pH 1.2 precej boljša kot pri pH vrednosti 6.8.

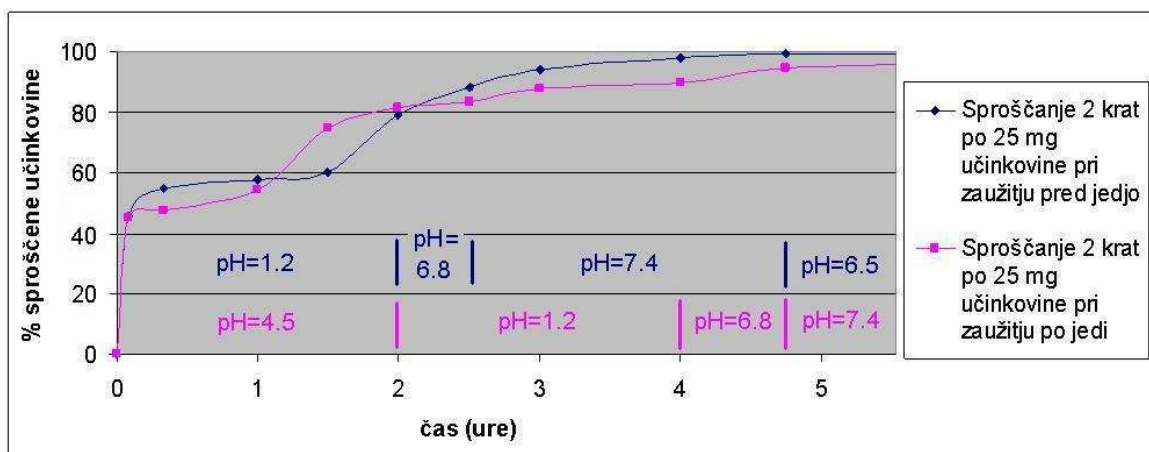


**Slika 35:** Raztapljanje 2 krat po 25 mg učinkovine iz TD in 2 krat po 25 mg učinkovine iz FZ iz dvoslojnih tablet v medijih s pH 1.2 in 6.8 (+ 5 g/L SDS). Raztapljanje je bilo izvedeno na aparaturi BIODIS (naprava 3 po Ph. Eur. 7<sup>th</sup>).

#### 4.6.2 Preskus raztapljanja učinkovine iz dvoslojne tablete v simuliranih in-vivo pogojih

Zanimala nas je še primerjava sproščanja učinkovine iz dvoslojne tablete, če bi jo zaužili na tešče ali pa po jedi. Program časovnih točk vzorčenja in sprememb pH medija je podrobno opisan v preglednici III na strani 31. Glede na to, da je izdelana dvoslojna tableta časovno odvisen sistem, smo predvidevali, da bi morala biti rezultata pri preskusu precej podobna kar so potrdili tudi rezultati merjenja (slika 36). Prvi pulz sproščanja 25 mg učinkovine je bil v obeh primerih takojšen in zelo hiter. Že po 15 minutah se je sprostil celoten prvi odmerek učinkovine in dosežen je bil plato. Čas, po katerem se je začelo sproščanje drugega odmerka učinkovine pri simulaciji »po jedi«, je bil približno 1 uro, pri simulaciji »pred jedjo« pa je čas zakasnitve znašal približno 1 uro in 30 minut. Hitrost sproščanja pri drugem pulzu je bila nekoliko počasnejša kot pri prvem pulzu, saj so bile za sprostitev celotnega odmerka učinkovine potrebne približno 3 ure. Po 5 urah se je pri simulaciji »pred jedjo« v 250 ml medija sprostil vseh 50 mg učinkovine, pri simulaciji »po jedi« pa približno 45 mg.





**Slika 36:** Sproščanje 2 krat po 25 mg učinkovine iz dvoslojnih tablet pri simuliranih pogojih »na tešče« in »po jedi«. Raztapljanje je bilo izvedeno na aparaturi BIODIS (naprava 3 po Ph. Eur. 7<sup>th</sup>).

Primerjana profila sproščanja sta si torej zelo podobna in iz tega lahko sklepamo, da ni pomembno ali bi bolnik tableto zaužil pred ali po jedi. Kljub temu bi bilo potrebno opraviti še in-vivo študije, da bi z njimi potrdili našo domnevo.

## 5 SKLEP

Z izdelavo trdnih disperzij (TD), t.j. z vgraditvijo učinkovine v porozni hidrofilen magnezijev aluminometasilikat (Neusilin US2) v razmerju učinkovina : Neusilin US2 = 1:4, smo izboljšali topnost v vodi težko topne modelne učinkovine in s tem najverjetneje izboljšali tudi njeno biološko uporabnost. Dosegli smo, da se je učinkovina v porah nosilca oborila v amorfnih obliki, kar smo dokazali s termično analizo TD. Učinkovina se je iz TD sproščala bolje in hitreje kot sama kristalna oblika oziroma fizikalna zmes obeh komponent, kar pa verjetno ni samo posledica amorfizacije učinkovine, pač pa tudi zmanjšanja delcev in s tem povečanja specifične površine ter izboljšanja močljivosti.

Iz TD in pomožnih snovi smo izdelali jedrne tablete, ki so izkazovale ustrezno trdnost, enakomernost mase ter razpadnost. S tem ko smo TD s pomožnimi snovmi stisnili v jedrno tableto, nismo bistveno spremenili profila sproščanja učinkovine. Z uporabo hidroksipropil celuloze (HPC) smo s stiskanjem obložili tablete iz TD. Pokazali smo, da lahko zakasnitveni čas načrtujemo s spreminjanjem mase obloge, viskoznosti polimera in sile stiskanja pri oblaganju. Potrdili smo tudi, da so s polimerom HPC obložene jedrne tablete časovno odvisen sistem, torej sprememba pH ne vpliva na pričetek sproščanja učinkovine. Kljub precejšnjim odstopanjem debeline obloge pri obloženih tabletah smo dobili dobro ponovljive rezultate sproščanja učinkovine znotraj posameznih serij. Vendar pa vseeno menimo, da bi bil edini sprejemljivi način potencialne proizvodnje obloženih tablet po metodi s stiskanjem v industriji metoda OSDRC (angl. one-step dry-coated tablets). Z naborom razpoložljivih tipov polimera HPC nam ni uspelo doseči zelenega zakasnitvenega časa 10 do 12 ur, vseeno pa smo pokazali, da bi ga lahko dosegli z uporabo ustreznega tipa polimera (npr. HPC tip GF).

Na koncu smo izdelali dvoplastne tablete in dobili zeleni profil dvopulznega sproščanja. Tako prvi kot tudi drugi odmerek učinkovine sta se sprostila v celoti in to zelo hitro, med njima pa sproščanja učinkovine ni bilo. S tem smo izdelali formulacijo, iz katere bi bilo možno razviti zdravilo, ki bi uspešno nadomestilo dvakraten dnevni režim odmerjanja zdravila z enkratnim. Pokazali smo, da je sproščanje učinkovine iz dvoslojnih tablet podobno ne glede ali ga apliciramo pred ali po jedi.

Predlog za optimizacijo izdelane dvopulzne formulacije je izdelava TD z manjšim deležem Neusilina US2, npr. z razmerjem učinkovina : Neusilin US2 1:2 ali 1:1. Ob tem bi morali preveriti ali s tem poslabša topnostni profil učinkovine. Z manjšo maso Neusilina

US2, kot pomožne snovi, bi bile izdelane jedrne tablete manjše in hkrati lažje, zato pa bile lažje ter manjše tudi končne dvoslojne tablete ter bolj sprejemljive za uporabo.

## 6 LITERATURA

- 1 Shajahan Abdul, S.S. Poddar. A flexible technology for modified release of drugs: multi layered tablets. *Journal of Controlled Release* 2004; 97: 393-405.
- 2 Dhirendra K, Lewis S, Udupa N et al. Solid Dispersions: A Review. *Pak J Pharm Sci* 2009; 22(2): 234-246.
- 3 Leuner C, Dressman J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur J of Pharm and Biopharm* 2000; 50: 47-60.
- 4 Tiwari R, Tiwari G, Srivastava B, Rai AK. Solid Dispersions: An Overview To Modify Bioavailability Of Poorly Water Soluble Drugs. *Int J PharmTech Res* 2009; 1(4): 1338-1349.
- 5 Planinšek O. Sodobni pristopi k izdelavi trdnih disperzij z izboljšano biološko uporabnostjo učinkovin. *Farm Vestnik* 2009; 53: 169-176.
- 6 Ukmar T, Mali G, Planinšek O. Sistemi s prirejenim sproščanjem na osnovi mezoporoznih ogrodij. *Farm Vest* 2009; 60: 313-318.
- 7 Sharma S, Pawar A. Low density multiparticulate system for pulsatile release of meloxicam. *Int J Pharm* 2006; 313: 150-158.
- 8 Neusilin, Fuji Chemical Industry Co., Ltd. Pharmaceuticals & Excipients. Dostopno na: <http://www.fujichemical.co.jp/english/medical/medicine/neusilin/index.html> (marec 2011)
- 9 Neusilin, Fuji Chemical Industry Co., Ltd. Product information. Dostopno na: [http://www.neusilin.com/product/general\\_properties.php](http://www.neusilin.com/product/general_properties.php) (marec 2011)
- 10 Krupa A, Majda D, Jachowicz R, Mozgawa W. Solid-state interaction of ibuprofen and Neusilin US2. *Thermochimica Acta* 2010; 509: 12-17.
- 11 Bahl D, Bogner R. Amorphization of Indomethacin by Co-Grinding with Neusilin US2: Amorphization Kinetics, Physical Stability and Mechanism. *Pharm Res* 2006; 23(10): 2317-2325.

- 12 Gupta M, Vanwert A, Bogner J. Formation of Physically Stable Amorphous Drugs by Milling with Neusilin. *Pharm Sci* 2003; 92: 536-551.
- 13 Lemmer B. Circadian rhythms and drug delivery. *J. Control. Release* 1991; 16: 63–74.
- 14 Youan, B.-B.C. Chronopharmaceutics: gimmick or clinically relevant approach to drug delivery? *J. Control. Release* 2004; 98: 337–353.
- 15 Michael PL. Chronobiology and Chronotherapeutics - Possible Strategy for Hypertension and Ischemic Heart Disease. Available from: <http://www.touchcardiology.com/articles/chronobiology-and-chronotherapeutics-possible-strategy-hypertension-and-ischemic-heart-disease>
- 16 Ura J, Shirachi D, Ferrill M. The chronotherapeutic approach to pharmaceutical treatment. *California Pharmacist* 1992; 23(9): 46-53.
- 17 Subal CB. Chronotherapeutics: Optimising drug delivery. Available from: [www.pharmabiz.com/article/detnews.asp? Arch=a&articleid=28993&sectionid=46](http://www.pharmabiz.com/article/detnews.asp?Arch=a&articleid=28993&sectionid=46)
- 18 Maroni, A., Zema, L., Cerea, M., Sangalli, M.E. Oral pulsatile drug delivery systems. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2005; 2: 855–871.
- 19 Gazzaniga, A., Palugan, L., Foppoli, A., Sangalli, M.E. Oral pulsatile delivery systems based on swellable hydrophilic polymers. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008; 68: 11–18.
- 20 Maroni A., Zema L., Dorly Del Curto M., Loreti G., Gazzaniga A. Oral pulsatile delivery: Rationale and chronopharmaceutical formulations. *International Journal of Pharmaceutics* 2010; 398: 1–8.
- 21 Takayama, T., Goji, T., Taniguchi, T., Inoue, A. Chemoprevention of colorectal cancer – experimental and clinical aspects. *J. Med. Invest.* 2009; 56: 1–5.
- 22 Gazzaniga, A., Maroni, A., Sangalli, M.E., Zema, L. Time-controlled oral delivery systems for colon targeting. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2006; 3: 583–597.
- 23 Md. Habban Akhter, Nitin Saigal, Sanjula Baboota, Md. Shah Faisal, Javed Ali. A two pulse drug delivery sysem for amoxicillin: an attempt to counter the scorage of bacterial resistance against antibiotics. 2009.

- 24 A. Streubel, J. Siepmann, N.A. Peppas, R. Bodmeier. Bimodal drug release achieved with multi-layer matrix tablets: transport mechanisms and device design. *Journal of Controlled Release* 2000; 69: 455-468.
- 25 Sharma S, Pawar A. Low density multiparticulate system for pulsatile release of meloxicam. *Int J Pharm* 2006; 313: 189-197.
- 26 Karavas E, Georgarakis E, Bikiaris D. Application of PVP/HPMC miscible blends with enhanced mucoadhesive properties for adjusting drug release in predictable pulsatile chronotherapeutics. *Eur J Pharm Biopharm* 2006; 64: 115-126.
- 27 Conte, U., Colombo, P., La Manna, A., Gazzaniga, A., Sangalli, M.E., Giunchedi, P. A new ibuprofen pulsed release oral dosage form. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1989; 15: 2583–2596.
- 28 Conte, U., Giunchedi, P., Maggi, L., Sangalli, M.E., Gazzaniga, A., Colombo, P., La Manna, A. Ibuprofen delayed release dosage forms: a proposal for the preparation of an in vitro/in vivo pulsatile system. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1992; 38: 209–212.
- 29 Halsas, M., Ervasti, P., Veski, P., Jürjenson, H., Marvola, M. Biopharmaceutical evaluation of time-controlled press-coated tablets containing polymers to adjust drug release. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 1998a.; 23: 190–196.
- 30 Halsas, M., Penttinen, T., Veski, P., Jürjenson, H., Marvola, M. Time-controlled release pseudoephedrine tablets: bioavailability and in vitro/in vivo correlations. *Pharmazie* 2001; 56: 718–723.
- 31 Maffione, G., Iamartino, P., Guglielmini, G., Gazzaniga, A. High-viscosity HPMC as a film-coating agent. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 1993; 19: 2043–2053.
- 32 Gazzaniga, A., Sangalli, M.E., Giordano, F. Oral Chronotopic® drug delivery systems: achievement of time and/or site specificity. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1994c; 40: 246–250.
- 33 Karavas, E., Georgarakis, E., Bikiaris, D., Felodipine nanodispersions as active core for predictable pulsatile chronotherapeutics using PVP/HPMC blends as coating layer. *Int. J. Pharm.* 2006b; 313: 189–197.
- 34 Matsuo, M., Nakamura, C., Arimori, K., Nakano, M. Evaluation of hydroxyethylcellulose as a hydrophilic swellable material for delayed-release tablets. *Chem. Pharm. Bull.* 1995; 43: 311–314.

- 35 Matsuo, M., Arimori, K., Nakamura, C., Nakano, M. Delayed-release tablets using hydroxyethylcellulose as a gel-forming matrix. *Int. J. Pharm.* 1996; 138: 225–235.
- 36 Fukui, E., Uemura, K., Kobayashi, M. Studies on applicability of press-coated tablets using hydroxypropylcellulose (HPC) in the outer shell for timed-release preparations. *J. Control. Release* 2000; 68: 215–223.
- 37 Takeuchi, H., Yasuji, T., Yamamoto, H., Kawashima, Y. Spray-dried lactose composite particles containing an ion complex of alginate–chitosan for designing a dry-coated tablet having a time-controlled releasing function. *Pharm. Res.* 2000; 17: 94–99.
- 38 Sawada, T., Sako, K., Fukui, M., Yokohama, S., Hayashi, M. A new index, the core erosion ratio, of compression-coated timed-release tablets predicts the bioavailability of acetaminophen. *Int. J. Pharm.* 2003b; 265: 55–63.
- 39 Sawada, T., Hiromu, K., Hiroshi, N., Sako, K., Hayashi, M. Time-release compression-coated core tablet containing nifedipine for chronopharmacotherapy. *Int. J. Pharm.* 2004; 280: 103–111.
- 40 Pozzi, F., Furlani, P., Gazzaniga, A., Davis, S.S., Wilding, I.R. The Time Clock system: a new oral dosage form for fast and complete release of drug after a predetermined lag time. *J. Control. Release* 1994; 31: 99–108.
- 41 Bussemer, T., Bodmeier, R. Formulation parameters affecting the performance of coated gelatin capsules with pulsatile release profiles. *Int. J. Pharm.* 2003; 267: 59–68.
- 42 Bussemer, T., Peppas, N.A., Bodmeier, R. Evaluation of the swelling, hydration and rupturing properties of the swelling layer of a rupturable pulsatile drug delivery system. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2003a; 56: 261–270.
- 43 Bussemer, T., Peppas, N.A., Bodmeier, R. Time-dependent mechanical properties of polymeric coatings used in rupturable pulsatile release dosage forms. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2003c; 29: 623–630.
- 44 Sungthongjeen, S., Puttipatkhachorn S., Paeratakul O., Dashevsky A., Bodmeier R. Development of pulsatile release tablets with swelling and rupturable layers. *J. Control. Release* 2004; 95: 147–159.
- 45 Morita, R., Honda, R., Takahashi, Y. Development of oral controlled release preparations, a PVA swelling controlled release system (SCRS). I. Design of SCRS and its release controlling factor. *J. Control. Release* 2000; 63: 297–304.

- 46 Lin, S.Y., Lin, K.H., Li, M.J. Influence of excipients, drugs, and osmotic agent in the inner core on the time-controlled disintegration of compression-coated ethylcellulose tablets. *J. Pharm. Sci.* 2002; 91: 2040–2046.
- 47 Rane, A.B., Gattani, S.G., Kadam, V.D., Tekade, A.R. Formulation and evaluation of press coated tablets for pulsatile drug delivery using hydrophilic and hydrophobic polymers. *Chem. Pharm. Bull.* 2009; 57: 1213–1217.
- 48 Krögel, I., Bodmeier, R. Floating or pulsatile drug delivery systems based on coated effervescent cores. *Int. J. Pharm.* 1999a; 187: 175–184.
- 49 Zhang, Y., Zhang, Z., Wu, F. A novel pulsed-release system based on swelling and osmotic pumping mechanism. *J. Control. Release* 2003; 89: 47–55.
- 50 Gupta, S.K., Atkinson, L., Theeuwes, F., Wong, P., Gilbert, P.J., Longstreth, J. Pharmacokinetics of verapamil from an osmotic system with delayed onset. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1996; 42: 74–81.
- 51 Bar-Shalom, D., Wilson, C.G., Washington, N. Chronotherapy using Egalet™ technology. In: Youan, B.-B.C. (Ed.), *Chronopharmaceutics*. John Wiley & Sons, New Jersey, pp. 2009; 165–173.
- 52 Binns, J., Stevens, H.N.E., McEwen, G., Pritchard, F.M., Brewer, A., Clarke, A., Johnson, E.S., McMillan, I. The tolerability of multiple oral doses of Pulsincap™ capsules in healthy volunteers. *J. Control. Release* 1996; 38: 151–158.
- 53 Gohel, M.C., Sumitra, G.M. Modulation of active pharmaceutical material release from a novel “tablet in capsule system” containing an effervescent blend. *J. Control. Release* 2002; 79: 157–164.
- 54 Hebden, J.M., Wilson, C.G., Spiller, R.C., Gilchrist, P.J., Blackshaw, E., Frier, M.E., Perkins, A.C. Regional differences in quinine absorption from the undisturbed human colon assessed using a timed release delivery system. *Pharm. Res.* 1999; 16: 1087–1092.
- 55 Krögel, I., Bodmeier, R. Pulsatile drug release from an insoluble capsule body controlled by an erodible plug. *Pharm. Res.* 1998; 15: 474–481.
- 56 Lee, W.W., O’Mahony, B., Bar-Shalom, D., Slot, L., Wilson, C.G., Blackshaw, P.E., Perkins, A.C. Scintigraphic characterisation of a novel injection-moulded dosage form. *Proceed. Int’l Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 2000; 27: 1288–1289.



- 57 Mastiholimath, V.S., Dandagi, P.M., Jain, S.S., Gadad, A.P., Kulkarni, A.R. Time and pH dependent colon specific, pulsatile delivery of theophylline for nocturnal asthma. *Int. J. Pharm.* 2007; 328: 49–56.
- 58 McConville, J.T., Hodges, L.A., Jones, T., Band, J.P., O'Mahony, B., Lindsay, B., Ross, A.C., Florence, A.J., Stanley, A.J., Humphrey, M.J., Wilson, C.G., Stevens, H.N.E. A pharmacoscintigraphic study of three time-delayed capsule formulations in healthy male volunteers. *J. Pharm. Sci.* 2009; 98: 4251–4263.
- 59 Nayak, U.Y., Shavi, G.V., Nayak, Y., Averinen, R.K., Mutalik, S., Reddy, S.M., Gupta, P.D., Udupa, N. Chronotherapeutic drug delivery for early morning surge in blood pressure: a programmable delivery system. *J. Control. Release* 2009; 136: 125–131.
- 60 Stevens, H.N.E., Wilson, C.G., Welling, P.G., Bakhshae, M., Binns, J.S., Perkins, A.C., Frier, M., Blackshaw, E.P., Frame, M.W., Nichols, D.J., Humphrey, M.J., Wicks, S.R. Evaluation of Pulsincap™ to provide regional delivery of dofetilide to the human GI tract. *Int. J. Pharm.* 2002; 236: 27–34.
- 61 Sutch, J.C.D., Ross, A.C., Köckenberger, W., Bowtell, R.W., MacRae, R.J., Stevens, H.N.E., Melia, C.D. Investigating the coating-dependent release mechanism of a pulsatile capsule using NMR microscopy. *J. Control. Release* 2003; 92: 341–347.
- 62 Crison, J.R., Siersma, P.R., Amidon, G.L. A novel programmable oral release technology for delivering drugs: Human feasibility testing using gamma scintigraphy. *Proceed. Int'l Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 1996; 23: 51–52.
- 63 Löbenberg, R., Kim, J.S., Amidon, J.L. Pharmacokinetics of an immediate release, a controlled release and a two pulse dosage form in dogs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2005; 60: 17–23.
- 64 Dashevsky A, Mohamad A. Development of pulsatile multiparticulate drug delivery system coated with aqueous dispersion Aquacoat ECD. *Eur J Pharm Biopharm* 2006; 318: 124-131.
- 65 Hao Zou, Xuetao Jiang, Lingshan Kong, Shen Gao. Design and evaluation of a dry coated drug delivery system with floating-pulsatile release. 2007; [www.interscience.wiley.com](http://www.interscience.wiley.com), DOI 10.1002/jps.21083
- 66 R. Pallab, S. Aliasgar. Multiparticulate formulation approach to pulstatile drug delivery: Current perspectives. *Journal of Controlled Release* 2008; 134: 74–80.

- 67 R. Bodmeier. Tableting of coated pellets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 1997; 43 (1): 1–8.
- 68 S. Ueda, H. Yamaguchi, M. Kotani, S. Kimura, Y. Tokunaga, A. Kagayama, T. Hata, Development of a novel drug release system, time-controlled explosion system (TES): II. Design of multiparticulate TES and in vitro drug release properties, *Chem. Pharm. Bull.* 1994; 42 (2): 359–363.
- 69 S. Ueda, H. Yamaguchi, M. Kotani, S. Kimura, Y. Tokunaga, A. Kagayama, T. Hata, Development of a novel drug release system, time-controlled explosion system (TES): III. Relation between lag time and membrane thickness, *Chem. Pharm. Bull.* 1994; 42 (2): 364–367.
- 70 T. Guo, C.L. Zheng, H.T. Song, Y. Sui, D.S. Dang, X.H. Sun. Studies on diclofenac sodium pulsatile release pellets. *Yao Xue Xue Bao* 2003; 38 (9): 707–710.
- 71 P. Schultz, P. Kleinebudde. A new multiparticulate delayed release system: part I. Dissolution properties and release mechanism. *J. Control. Release* 1997; 47 (2): 181–189.
- 72 C.M. Chen. Multiparticulate Pulsatile Drug Delivery System. U.S. Patent 5508040, April 16, 1996.
- 73 C. Kao, S. Chen, M. Sheu. Lag time method to delay drug release to various sites in the gastrointestinal tract. *J. Control. Release* 1997; 44 (2–3): 263–270.
- 74 H.N. Shivakumar, S. Suresh, B.G. Desai. Design and evaluation of pH sensitive multi-particulate systems for chronotherapeutic delivery of diltiazem hydrochloride. *Indian J. Pharm. Sci.* 2006; 68 (6): 781–787.
- 75 M. Dittigen, S. Fricke, C. Timpe, H. Gercke, A. Eichardt. Method of making a preorally administered solid drug with controlled effective ingredient delivery. U.S. patent 6117450, September 12, 2000.
- 76 P.J.A. Hartman Kok, P. Vonk, N.W.F. Kossen. A particulate pulse-release system and mathematical description with the Maxwell–Stefan theory. *J. Control. Release* 2000; 66 (2–3): 293–306.
- 77 Felton LA. Film Coating of Oral Solid Dosage Forms. In: Swarbrick J. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Informa Healthcare ; 3: 1729-1747.

- 
- 78 Ozeki Y, Ando M, Watanabe Y, Danjo K. Evaluation of novel one-step dry-coated tablets as a platform for delayed-release tablets. *Journal of controlled release* 2004; 95: 51-60.
- 79 C.M. Chen. Pulsatile particles Drug Delivery System. U.S. patent 5472708, December 16, 1995.
- 80 <http://www.zdravila.net/>
- 81 <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01136>
- 82 Castan C, Crowley PJ, Guimberteau F et al. Carvedilol free base, salts. Anhydrous forms or solvates thereof, corresponding pharmaceutical compositions, controlled release formulations, and treatment or delivery methods. United states Patent, Patent number 0,175,695, date of patent Aug. 11, 2005.
- 83 Goldstein J.I., Newbury D.E., Echlin P., Joy D.C., Fiori C., Lifshin E.. *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*, Plenum Press, New York, 1984; 479-483.
- 84 Li X, Jasti BR. *Design of Controlled Release Drug Delivery Systems*. McGraw-Hill, New York, 2006; 173-189.