

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MOJCA ZAKRAJŠEK

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2011

Univerza v Ljubljani
Fakulteta za farmacijo



MOJCA ZAKRAJŠEK

**NAČRTOVANJE, IZDELAVA IN VREDNOTENJE DOSTAVNIH
SISTEMOV Z DVOFAZNIM SPROŠČANJEM TEŽKO TOPNE
MODELNE UČINKOVINE**

**DEVELOPMENT, FORMULATION AND EVALUATION OF TWO
PULSE DRUG DELIVERY SYSTEMS OF POORLY WATER-
SOLUBLE MODEL DRUG**

Ljubljana, 2011

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo, na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, pod mentorstvom izr. prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm.

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Odonu Planinšku za vso strokovno pomoč in nasvete tekom izvajanja diplomske naloge. Zahvalila bi se tudi delovnemu mentorju Borutu Kovačiču, mag. farm. za vso pomoč pri eksperimentalnem delu v laboratoriju in odgovore na vrsto zastavljenih vprašanj.

Posebna zahvala gre mojim staršem za neizmerno pomoč in podporo med študijem, babi za skrb med izpitnimi obdobji in Borisu, ki je ves čas verjel vame in me spodbujal.

Hvala vsem, da ste mi pomagali pri doseganju ciljev.

Izjava

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

Mojca Zakrajšek

Ljubljana, februar 2011

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

Članica diplomske komisije: doc. dr. Anamarija Zega, mag. farm.

VSEBINA

POVZETEK	III
ABSTRACT	IV
SEZNAM OKRAJŠAV	VI
1 UVOD	1
1.1 TRDNE DISPERZIJE	2
1.1.1 Prednosti trdnih disperzij	2
1.1.2 Pomanjkljivosti trdnih disperzij	2
1.1.3 Porozne pomožne snovi za izdelavo trdnih disperzij.....	3
1.1.4 Porozni silicijev dioksid (Sylsia® 350)	3
1.1.5 Magnezijev aluminometasilikat (Neusilin US2®)	4
1.2 PRIREJENO SPROŠČANJE	5
1.2.1 Ciljana dostava učinkovin v kolon	5
1.2.2 Pristopi ciljane dostave zdravil v kolon po peroralni poti	6
1.3 DOSTAVNI SISTEMI S PULZNIM SPROŠČANJEM	9
1.3.1 Enoenotni sistemi.....	11
1.3.2 Večenočni sistemi	15
1.4 OBLAGANJE TRDNIH FARMACEVTSKIH OBLIK	18
1.4.1 Materiali za oblaganje	18
1.4.2 Gastrozistentni polimeri.....	19
1.4.3 Temperatura steklastega prehoda in uporaba mehčal pri oblaganju trdnih farmaceutskih oblik	19
1.5 MODELNA UČINKOVINA	21
2 NAMEN DELA	22
3 MATERIALI IN METODE	23
3.1 MATERIALI.....	23
3.2 APARATURE.....	26
3.3 METODE DELA	27
3.3.1 Določanje topnosti modelne učinkovine pri različnih pH vrednostih	27
3.3.2 Izdelava trdnih disperzij	27
3.3.3 Granuliranje trdnih disperzij z gastrozistentnimi polimeri	28

3.3.4	Tabletiranje	30
3.3.5	Oblaganje tablet	30
3.3.6	Vrednotenje trdnih disperzij, granulatov in tablet	31
4	REZULTATI IN RAZPRAVA.....	34
4.1	FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI MODELNE UČINKOVINE.....	34
4.1.1	Morfologija delcev.....	34
4.1.2	Topnost modelne učinkovine	35
4.2	MORFOLOGIJA POROZNIH NOSILCEV TRDNIH DISPERZIJ	36
4.3	IZDELAVA TRDNIH DISPERZIJ.....	37
4.3.1	Fizikalno-kemijske lastnosti trdne disperzije izdelane z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine s Sylysio 350	37
4.3.2	Fizikalno-kemijske lastnosti trdne disperzije izdelane z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine z Neusilinom	42
4.3.3	Fizikalno-kemijske lastnosti trdne disperzije učinkovine in Neusilina izdelane z metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku	48
4.4	GRANULIRANJE TRDNIH DISPERZIJ	51
4.4.1	Sproščanje učinkovine iz granulirane TD (učinkovina: Sylysia = 0,35:1) s polimerom Eudragit L 30 D-55 (2 x 12,5 mg odmerka).....	54
4.4.2	Sproščanje učinkovine iz granulirane TD (učinkovina: Neusilin = 0,11:1) s polimerom Eudragit L 30 D-55 (2 x 25 mg odmerka).....	56
4.4.3	Sproščanje učinkovine iz TD (učinkovina: Sylysia = 0,35:1), granulirane s polimerom Eudragit FS 30 D (2 x 12,5 mg odmerka).....	57
4.5	TABLETIRANJE TRDNE DISPERZIJE IN OBLAGANJE TABLET Z GASTROREZISTENTNIM POLIMEROM.....	58
4.5.1	Sproščanje učinkovine iz tablet TD (učinkovina: Neusilin = 0,25:1) in tablet fizikalne zmesi (UČ/Neusilin/pomožne snovi), obloženih s polimerom Eudragit L 100-55 (1 x 25 mg odmerka).....	60
5	SKLEP	61
6	LITERATURA	62

POVZETEK

Raztapljanje učinkovine v bioloških medijih je poleg permeabilnosti pomemben parameter, ki vpliva na njeno biološko uporabnost. V zadnjem času se med novimi učinkovinami pojavlja velik delež težko topnih spojin. Raztapljanje lahko izboljšamo z uporabo različnih metod, ena izmed obetavnejših pa je vgrajevanje učinkovin v trdne disperzije z uporabo poroznih pomožnih snovi. Trdne disperzije z izboljšanim raztapljanjem učinkovine so primerne za izdelavo različnih dostavnih sistemov s prirejenim sproščanjem. Pogosti so sistemi z zakasnjениm in/ali pulznim sproščanjem učinkovine v gastrointestinalnem traktu. Namen dela je bila izdelava trdnih disperzij, s katerimi smo želeli izboljšati raztapljanje v vodi težko topne modelne učinkovine. Trdne disperzije smo izdelali s pomočjo poroznih nosilcev Sylysie 350 in Neusilina US2 z metodo vzpostavitve ravnotežja iz raztopine in z metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku. Na ta način smo izboljšali raztapljanje učinkovine v medijih s pH vrednostjo 1.2, 6.8 in 7.2. Z granuliranjem delcev trdnih disperzij z različnimi gastrozistentnimi polimeri pa smo želeli izdelati sistem s prirejenim dvopulznim sproščanjem učinkovine v kislem mediju s pH=1.2 in fosfatnem mediju s pH=6.8 in pH=7.2 ter tako doseči hiter porast plazemske koncentracije učinkovine po prvem in drugem pulzu. To nam je uspelo z uporabo dveh gastrozistentnih polimerov, in sicer Eudragit L 30 D-55 in Eudragit FS 30 D. Na koncu smo izdelali še tablete trdne disperzije in jih obložili z gastrozistentnim polimerom Eudragit L 100-55. Kombinacija neobloženih tablet z obloženimi prav tako omogoča izdelavo formulacije za dvopulzno sproščanje učinkovine v želodcu in tankem črevesu.

Lastnosti vgrajene učinkovine v trdne disperzije, čiste kristalne oblike učinkovine in učinkovine v fizikalni zmesi s poroznimi nosilci smo vrednotili s termično analizo, lastnosti raztapljanja kristalne oblike učinkovine, trdnih disperzij, granulatov in tablet pa smo vrednotili s preskusom raztapljanja.

Ugotovili smo, da se učinkovina iz trdne disperzije bolje in hitreje raztaplja kot njena kristalna oblika ter da lahko z uporabo različnih koncentracij polimerov izdelamo dvopulzni dostavni sistem, ki vedno omogoča hitro sproščanje učinkovine. Izdelava takih sistemov bi zaradi izboljšanja biološke uporabnosti učinkovine, ki se sicer po absorpciji hitro metabolizira, omogočila manjši odmerek vgrajene učinkovine v zdravilu v primerjavi s podobnimi registriranimi zdravili. Enkratno odmerjanje učinkovine dnevno namesto dvakratno pa bi omogočilo zmanjšanje neželenih učinkov, manjšo frekvenco odmerjanja zdravila in s tem tudi boljšo sprejemljivost zdravljenja pri pacientih.

ABSTRACT

Apart from permeability, drug dissolution is another important parameter that affects bioavailability. The percentage of poorly water-soluble drugs has risen recently. There are a number of techniques which can improve drug dissolution. One of the most promising methods to improve drug dissolution is to incorporate a drug into solid dispersions with the use of porous excipients. Solid dispersions with improved drug dissolution are also appropriate for the development of various drug delivery systems with modified release. An example of these systems are systems with delayed or/and pulse drug release in the gastrointestinal tract.

The aim of our study was the formulation of solid dispersions, which would improve the dissolution of a poorly water-soluble drug. We prepared solid dispersions using the porous carriers Sylsilia 350 and Neusilin US2. We applied the equilibration method from solution and evaporation of solvent in a vapor evaporator. In this way the drug dissolution in the pH levels 1.2, 6.8 and 7.2 was improved. Through the granulation of solid dispersion particles with gastro resistant polymers, we aimed to create a modified drug delivery system that would release the drug in two pulses. Firstly releasing in an acid with a pH of 1.2 and secondly releasing in a phosphate with the pH levels of 6.8 and 7.2. The objective would be to increase fast plasma drug concentration after the first and second pulse. We managed to formulate a two pulse drug delivery system with the use of two gastro resistant polymers, Eudragit L 30 D-55 and Eudragit FS 30 D. At the end of our study we prepared tablets, which were compressed with the solid dispersion and were coated with a gastro resistant polymer Eudragit L 100-55. With combination of uncoated and coated tablets, it is possible to formulate a two pulse delivery system with drug release in stomach and in small intestine.

Through differential scanning calorimetry analysis, we evaluated the characteristics of a crystalline drug. We further evaluated then properties of a drug incorporated into solid dispersions and physical mixtures with porous carriers. Using *in vitro* dissolution studies, we also evaluated the characteristics of drug dissolution from solid dispersions, granulates, tablets, physical mixtures and its crystalline form.

From our analysis we could conclude that the improvement of the drug solubility and its dissolution rate was due to its incorporation into solid dispersion particles. We could also conclude that with the use of various concentrations of gastro resistant polymers, a two pulse drug delivery system with fast drug release can be formed. Through the improvement

of drug bioavailability, which is highly exposed to first pass metabolism after its absorption, it requires a reduced dosage compared to other registered medicine and the administration of this medicine can be given once a day, which reduces side effects and also improves patient compliance.

SEZNAM OKRAJŠAV

CAP	celulozni acetat ftalat
CMEC	karboksimetiletilceluloza
DSC	diferenčna dinamična kalorimetrija
GIT	gastrointestinalni trakt
HPMC-AS	hidroksipropilmetilcelulozni acetat sukcinat
HPMC	hidroksipropilmetilceluloza (hipromeloza)
HPMCP	hidroksipropilmetilcelulozni ftalat
IUPAC	Mednarodno združenje za čisto in uporabno kemijo
PVA	polivinil acetat
PVAP	polivinil acetat ftalat
SDS	natrijev dodecilsulfat
SEM	vrstični elektronski mikroskop
TD	trdna disperzija
TEC	trietilcitrat
T_g	temperatura steklastega prehoda
TGA	termogravimetrična analiza
THF	tetrahidrofuran
UČ	učinkovina

1 UVOD

Raztapljanje učinkovine v bioloških medijih je poleg njene permeabilnosti najpomembnejši parameter, ki vpliva na biološko uporabnost (1). Problem topnosti je bil vedno prisoten pri določenem številu učinkovin, ki so predstavljale izziv pri razvoju ustreznih oblik za peroralno aplikacijo. Med novimi potencialnimi učinkovinami je velik delež težko topnih spojin, kar je posledica novih metod njihovega odkrivanja (2) in novo odkritih tarč, ki za zadosten učinek zahtevajo bolj lipofilne komponente (3). V vodi težko topna snov je definirana kot snov, katere manj kot 1 del se raztopi v 10000 delih vode. Z drugimi besedami je topnost snovi nižja od 100 µg/ml. Kot slabo topne pa lahko opredelimo tudi učinkovine, ki za raztapljanje v gastrointestinalnih tekočinah zahtevajo dlje časa, kot je čas njihove absorpcije (4).

Za izboljšanje raztapljanja lahko uporabimo metode tvorbe soli, solubilizacije in zmanjševanja delcev, ki pa imajo v praksi določene omejitve. Tvorba soli ne pride v poštev pri nevtralnih učinkovinah, prav tako metoda ni praktična pri šibkih kislinah in bazah. Kljub možnosti tvorbe soli ni zagotovila, da bomo dosegli boljše raztapljanje snovi, saj se lahko sol v prebavnem traktu pretvori v prvotno obliko. Solubilizacija učinkovin v vodnih ali organskih topilih vodi v izdelavo tekočih formulacij, ki so komercialno manj zaželeno od trdnih farmacevtskih oblik (5). Možnost za izboljšanje hitrosti raztapljanja je tudi povečanje površine, ki je na voljo za raztapljanje. To lahko dosežemo z zmanjšanjem velikosti delcev trdne snovi ali z izboljšanjem močenja snovi. Zmanjševanje velikosti delcev z mletjem praškaste učinkovine pa ima določene omejitve glede minimalne velikosti delcev, ki jo lahko dosežemo. Majhni delci lahko težijo k aglomeraciji, oteženo pa je tudi delo v proizvodnji (2, 5). Teoretično lahko stanjšamo debelino difuzijske plasti, vendar je to praktično težko dosegljivo, zato je bolj smiselno zagotavljanje »sink« pogojev, ki pa so odvisni od permeabilnosti mukoze in sestave ter razpoložljivosti volumna tekočin v prebavnem traktu (5). Eden od pristopov je tudi aplikacija učinkovine sočasno s hrano. S tem lahko podaljšamo čas, ki je na voljo za raztapljanje, hkrati se poveča količina GIT tekočin in posledično se lahko izboljša biološka uporabnost učinkovine (6). Uporaba različnih formulacijskih pristopov predstavlja najbolj zanimivo skupino možnosti za izboljšanje hitrosti raztapljanja težko topnih učinkovin. Objavljenih je bilo že kar nekaj preglednih člankov na temo fizikalnih pristopov za izboljšanje hitrosti raztapljanja težko topnih učinkovin, kot so izdelava polimorfov ali amorfne oblike učinkovin in

kompleksacije učinkovin (2). Med najbolj uspešne metode lahko prištevamo izdelavo trdnih disperzij (5).

1.1 TRDNE DISPERZIJE

Trdna disperzija je disperzija ene ali več aktivnih komponent v inertnem nosilcu, oziroma ogrodju, ki je v trdnem agregatnem stanju (7). Učinkovina in pomožna snov lahko tvorita različne strukture. Glede na organizacijo molekul jih delimo na enostavne evtektične zmesi, trdne raztopine, steklaste raztopine in suspenzije, amorfne precipitate v kristalnem nosilcu, amorfne in kristalinične trdne raztopine ter različne kombinacije teh (8). Trdne disperzije lahko pripravimo z metodo taljenja ali raztapljanja in različnih kombinacij obeh. Predstavljajo enega najbolj obetavnih sistemov za izboljšanje absorpcije in biološke uporabnosti učinkovin, ki so opredeljene kot slabo vodotopne in imajo dobro permeabilnost skozi biološke membrane. Poleg izboljšanja biološke uporabnosti je bilo veliko nedavnih raziskav trdnih disperzij usmerjenih tudi v razvoj vgrajevanja le teh v sisteme s podaljšanim sproščanjem (5).

1.1.1 Prednosti trdnih disperzij

Zaradi povečanja hitrosti raztapljanja pride tudi do povečanja hitrosti in obsega absorpcije zdravilne učinkovine. Odmerek učinkovine lahko tako tudi zmanjšamo. Posledica povečane absorpcije je lahko zmanjšanje predsistemskega metabolizma zaradi nasičenja nekaterih encimskih sistemov, ki so odgovorni za metabolizem (7). Prednosti se kažejo tudi v primerjavi z drugimi formulacijskimi in kemijskimi pristopi. Izboljšanje proizvodnih metod izdelave trdnih disperzij, ki so jih razvili v zadnjih letih, predvsem metoda z iztiskanjem taline, predstavlja pomemben napredek na področju njihove uporabe v registriranih zdravilih. Pomožne snovi, ki jih uporabljamo pri izdelavi trdnih disperzij so že poznane farmacevtski industriji, zato dodatne toksikološke študije niso potrebne (2).

1.1.2 Pomanjkljivosti trdnih disperzij

Vgrajevanje trdnih disperzij v sisteme omejujejo številni dejavniki, kot so zapletene, slabo definirane in drage metode izdelave, slaba ponovljivost izdelave, težave pri razvoju ustrezne farmacevtske oblike, težave pri povečevanju proizvodne serije in fizikalna nestabilnost (1, 5). Med postopkom izdelave (mehanska obremenitev) ali shranjevanjem (neustrezna temperatura in vlažnost) lahko učinkovina podleže neugodnim pogojem in

preide iz amorfne oblike nazaj v kristalno. Tako se s časom slabša tudi raztapljanje. Vlaga med shranjevanjem vpliva na mobilnost molekul, kar pospeši kristalizacijo učinkovine, vlago pa adsorbirajo tudi polimeri, kar lahko vodi v ločitev faz, rast kristalov in pretvorbo manj stabilnih oblik učinkovine v stabilnejše (5). Omejitev izdelave trdnih disperzij lahko predstavlja tudi prevelika masa odmerka in pomožnih snovi, ki zagotavljajo ustrezne lastnosti farmacevtske oblike (tablete ali kapsule) (2).

1.1.3 Porozne pomožne snovi za izdelavo trdnih disperzij

Za izdelavo trdnih disperzij lahko uporabljamo vodotopne in netopne pomožne snovi. Med netopnimi najpogosteje uporabljamo porozne materiale. Njihova značilnost so ozke pore in velika specifična površina, na katero se lahko adsorbira učinkovina. Zaradi širokega spektra ugodnih lastnosti lahko porozne nosilce v farmacevtski industriji uporabimo za številne namene. To vključuje tudi razvoj novih dostavnih sistemov, kot so plavajoči sistemi, sistemi z zadržanim sproščanjem, lahko pa tudi izboljšamo raztapljanje slabo topnih učinkovin. V farmaciji uporabljamo naslednje netopne porozne pomožne snovi: porozni silicijev dioksid (Syllysia[®]), polipropilenska pena v prahu (Accurel[®]), porozni kalcijev silikat (Florite[®]), magnezijev aluminometasilikat (Neusilin[®]), porozna keramika in porozno silikatno steklo (9). Glede na IUPAC nomenklaturu delimo nosilce 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 (10).

1.1.4 Porozni silicijev dioksid (Syllysia[®] 350)

Syllysia je mikroniziran, amorfni prašek z visoko poroznostjo, ki se uporablja kot pomožna snov v farmacevtski, prehrambeni in kozmetični industriji. Izdelana je iz kemijsko inertnega amorfnega silikagela visoke čistote (99,7 % SiO₂). Povprečna velikost delcev znaša od 3,1 do 20,0 μm, povprečna velikost por pa je 25 nm (11). V prehrambeni industriji jo uporabljamo kot aditiv za preprečevanje aglomeracije, vezavo vlage in izboljšanje pretočnih lastnosti snovi. Prav tako je pomemben dodatek pri tabletiranju, oblaganju in izboljšanju pretočnosti praškov (12).

Takeuchi in sodelavci so izdelali disperzije z raztapljanjem tolbutamida in suspendiranjem SiO_2 v etanolu. Vzorce so sušili z razprševanjem ali z odparevanjem topila pri znižanem tlaku. Silikati lahko s svojimi mnogimi silanolnimi skupinami na površini tvorijo vodikove vezi z učinkovinami. Različne oblike SiO_2 imajo različne lastnosti, kot so velikost delcev, stopnja hidrofilnosti in struktura por. Porozna struktura lahko povzroči tudi znižanje temperature taljenja in kristaliničnosti učinkovine, ki je vanjo vgrajena (13). Učinkovina se je v trdnih disperzijah oborila pretežno v amorfni obliki. Raztapljanje tolbutamida je bilo pri uporabi hidrofilnega SiO_2 (neporozni Aerosil 200 in porozna Sylysia 350) glede na čisto učinkovino bistveno izboljšano. Izboljšanje raztapljanja so pripisali boljšemu močenju, večji disperzibilnosti delcev v mediju za raztapljanje, zmanjšanju velikosti delcev in znižanju kristaliničnosti učinkovine (1, 13). V raziskavi, ki je sledila pa so z metodo razprševanja zopet naredili trdne disperzije, tokrat s kristalno učinkovino indometacin. Ponovno so uporabili hidrofilna nosilca neporozni Aerosil 200 in porozno Sylysio 350. Tudi tokrat je bilo raztapljanje indometacina izboljšano. Ne glede na tip silike je bila učinkovina v disperziji v amorfem stanju. Učinkovina pa se je hitreje sproščala iz disperzije, kjer so uporabili porozni SiO_2 . Razlog za razlike v hitrosti raztapljanja je lahko različna oblika oziroma stopnja kristaliničnosti vgrajene učinkovine v trdni disperziji (14).

1.1.5 Magnezijev aluminometasilikat (Neusilin US2[®])

Neusilin US2 je sintetičen, amorfni prašek, lahko je tudi v obliki granul. Povprečna velikost granul sega od 44 do 177 μm , povprečna velikost por pa 14,9 nm. Kemijsko je snov sestavljena iz magnezijevega oksida, aluminijevega oksida in silicijevega dioksida. Zaradi velike specifične površine, zmožnosti vezave olj in adsorpcije vode je pogosto v uporabi v farmacevtski industriji. Zaradi svojih fizikalno-kemijskih lastnosti se uporablja kot pomožna snov pri direktnem tabletiranju, izboljšanju pretočnih lastnosti, preprečevanju zlepljenja higroskopskih praškov, kot stabilizator in antacid. Lahko je v dveh različnih oblikah, ki imata enako strukturo, vendar pa izkazuje različne površinske lastnosti, kot so nasipna gostota, vsebnost vode, velikost delcev in pH (15, 16).

1.2 PRIREJENO SPROŠČANJE

Peroralna pot je eden izmed najpogostejših načinov vnosa zdravil v organizem, namen novejšega raziskovanja pa je le to čim bolj izpopolniti. Prirejeno sproščanje učinkovine lahko dosežemo z oblikami z zadržanim ali podaljšanim sproščanjem. Dostavni sistemi s prirejenim sproščanjem zagotavljajo zmanjšanje toksičnih stranskih učinkov, izboljša pa se tudi sprejemljivost zdravljenja pri pacientih, saj lahko s tem načinom zmanjšamo večkratni vnos zdravila na en sam odmerek dnevno. Vendar pa zaradi različnih lastnosti zdravilnih učinkovin takšno sproščanje ni vedno zaželeno. Obsežen metabolizem, kratka razpolovna doba in nizka stopnja absorpcije so le nekateri izmed vzrokov, ki zahtevajo ponavljajoče odmerjanje zdravila. V primeru, da se za tovrstne učinkovine uporabljajo oblike s podaljšanim ali zakasnjениm sproščanjem, to lahko privede do zmanjšane biološke uporabnosti zdravila. Kot alternativo lahko v tem primeru uporabimo oblike s pulznim sproščanjem zdravilne učinkovine (17).

1.2.1 Ciljana dostava učinkovin v kolon

Kolon so v preteklosti smatrali kot organ, namenjen izključno absorpciji vode, elektrolitov in začasnemu zadrževanju blata, v zadnjem času pa je postal za raziskovalce zanimiv in pomemben člen v razvoju dostavnih sistemov s prirejenim sproščanjem. S pomočjo ciljane dostave učinkovin v kolon lahko zagotovimo večjo učinkovitost pri zdravljenju:

- bolezni in zapletov kot posledica zaprtja, diareje, vnetnih črevesnih bolezni (ulcerativni kolitis in Chronova bolezen), rak debelega črevesa;
- kolon predstavlja pomembno vlogo za apliciranje in dostavo učinkovin v sistemski krvni obtok;
- zmanjšano možnost razpada učinkovine zaradi manjšega števila encimov v primerjavi s tankim črevesom;
- bolezni, ki so podvržene cirkadianemu ritmu organizma (18);
- boljša absorpcija velikih makromolekul (kot so na primer peptidi) po peroralni aplikaciji (19).

S ciljano dostavo učinkovin lahko dosežemo še neposredno zdravljenje bolezenskega stanja, zmanjšamo potreben odmerek zdravila in zmanjšamo sistemske neželene učinke zdravila (19).

1.2.2 Pristopi ciljane dostave zdravil v kolon po peroralni poti

Peroralna pot je za paciente sprejemljivejša od rektalne aplikacije. Ker je kolon najbolj oddaljen del GIT, moramo doseči, da bo formulacija zagotovila zakasnjeno, vendar popolno in hitro sprostitve učinkovine ob vstopu v kolon. Kljub majhni količini in viskoznosti tekoče vsebine v kolonu, lahko pričakujemo variabilnost pri raztapljanju in sproščanju učinkovine iz formulacije. Na stabilnost sproščene učinkovine pa vpliva tudi mikroflora v tem predelu črevesa. Glede na vse navedene pogoje, ki spremljajo farmacevtsko obliko, so razvili naslednje sisteme za ciljano dostavo do kolona (18):

pH odvisni dostavni sistemi

pH vrednost se spreminja vzdolž GIT. V želodcu je vrednost približno 1.2, na začetku tankega črevesa naraste na 6.6, na koncu tankega črevesa naraste do 7.5, v kolonu pa pade na vrednost 6.4. Z uporabo gastrozistentnega polimera Eudragit S, ki ga uporabljajo za ciljano dostavo v kolon, bi tako lahko prišlo do predčasne sprostitve učinkovine, saj se polimer raztopi nad pH 7, na podlagi česar bi lahko zaključili, da pH GIT ni najbolj zanesljiv kriterij za ciljano dostavo učinkovin. Problem predčasne sprostitve učinkovine lahko rešimo z uporabo polimera Eudragit FS (18). Tovrstne dostavne sisteme so raziskovalci uporabili že pri razvoju gastrozistentnih oblik z namenom dostave učinkovin v tanko črevo. Z uporabo debelejših oblog in polimerov, ki se topijo pri višjih vrednostih pH pa jim je uspela tudi ciljana dostava v kolon. Pri črevesnih obolenjih pa so pH vrednosti pogosto znižane. Kshirsagar in sodelavci so zato poleg polimera Eudragit S 100 uporabili še Eudragit FS 30 D, saj Eudragit S 100 doseže ciljano dostavo v kolon samo ob visokih pH vrednostih, polimer Eudragit FS 30 D pa se je izkazal kot obetavnejši pri ciljani dostavi diklofenaka v kolon tudi ob nekoliko znižanih vrednostih pH. Razlog je v različnem razmerju esterskih in karboksilnih skupin pri obeh polimerih, kar vpliva na razlike v njunem raztapljanju (19).

Tablete, ki vsebujejo učinkovino mesalazin, so lahko obložene s polimerom Eudragit S 100, ki se raztaplja pri pH nad vrednostjo 7, ali pa s polimerom Eudragit L 100, ki se raztopi nad pH 6. Klein in sodelavci so raziskovali sproščanje mesalazina iz štirih različno formuliranih peroralnih oblik. Želeli so oceniti sposobnost različnih formulacij za dostavo učinkovine v različne dele vnetega črevesja in tako zagotoviti optimalno mesto delovanja pri posameznikih. Dve obliki sta vsebovali tablete obložene z istim polimerom Eudragit L, ena oblika so bile tablete obložene s polimerom Eudragit S, pri zadnji pa so za pH

neodvisno sproščanje uporabili mikrogranule. Ugotovili so, da so bili le pH odvisni polimeri primerni za ciljano dostavo v kolon. Formulacija s polimerom Eudragit S se je v tem primeru izkazala kot primerna za zdravljenje najbolj oddaljenega dela – kolona, saj je bil zakasnitveni čas sproščanja najdaljši. Formulaciji obloženih tablet mesalazina s polimerom Eudragit L pa sta kljub enaki sestavi tablet (enaka količina mesalazina in uporaba istega polimera za oblaganje) kazali različen čas zakasnitve sproščanja in ju tako lahko uporabljamo za zdravljenje vnetnih obolenj v različnih delih tankega črevesa. V tem primeru je bil eden od vzrokov različnega časovnega zamika sproščanja verjetno različna količina obloge polimera pri obeh formulacijah. Predvsem se je razlikovala debelina obloge na robovih obeh tablet (20).

Cole in sodelavci pa so raziskovali HPMC kapsule, ki so jih oblagali s polimeroma Eudragit L 30 D-55 in Eudragit FS 30 D. Problem trdih želatinskih kapsul lahko nastane zaradi njihove občutljivosti pri oblaganju, saj lahko njihova gladka površina omeji interakcije polimera s površino. Želatinske kapsule je zato potrebno predhodno oblagati, na primer s celuloznimi derivati, zato so kot nadomestek uporabili HPMC kapsule, saj se HPMC kot polimer pogosto uporablja za predhodno oblaganje obloženih tablet. Tako je pričakovano, da bodo HPMC kapsule izboljšale adhezivnost in kompatibilnost s polimernimi oblogami. Kapsule so nato oblagali z različnimi količinami dveh gastrozistentnih polimerov in izvedli teste raztapljanja pri treh različnih pH vrednostih. Eudragit L 30 D-55 se raztaplja nad pH 5.5. Ne glede na količino polimera so ugotovili, da kapsula zadrži vso učinkovino 2 h v kislem, pri pH 6.8 pa se hitro sprosti celoten odmerek. Tudi Eudragit FS 30 D zadrži učinkovino 2 h pri pH 1.2 in 1 h pri pH 6.8. Ko pa se pH dvigne na vrednost 7.4, se kapsula raztopi in sprosti odmerek. Dokazali so, da ima količina polimera tukaj majhen vpliv na zakasnjeno sproščanje, ki je posledica dobrih bariernih lastnosti materiala kapsule in njene kompatibilnosti s polimetakrilati. Mnogi raziskovalci so trdili, da uporaba pH vrednosti GIT za razvoj ciljane dostave v distalni del tankega črevesa in kolon ni dovolj zanesljiv kriterij. V tej študiji pa so ponovno dokazali, da so kapsule obložene z relativno novim polimerom Eudragit FS 30 D dovolj odporne, da zadržijo sproščanje učinkovine tudi do distalnega dela tankega črevesa (21).

Dostavni sistemi na osnovi tlaka

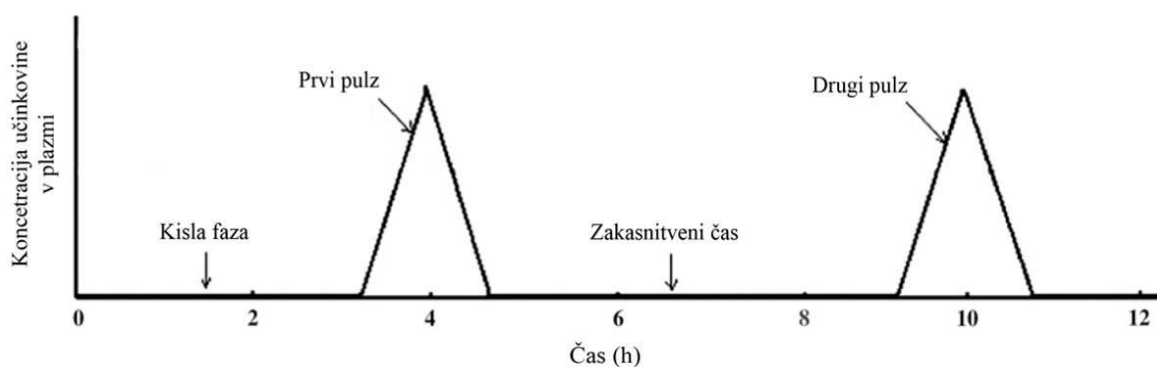
Dostavne kapsule delujejo na podlagi povečanega tlaka luminalne vsebine kolona. Učinkovina je dispergirana v podlagi in obložena z etilcelulozo. Telesna temperatura povzroči, da se začne podlaga taliti. Tako se poveča volumen, ki tvori balon etilceluloze, napolnjen s tekočino. Balon lahko ostane nedotaknjen ob pogojih blage peristaltike v tankem črevesu, ob prihodu v kolon pa se pretrga zaradi močnejših kontrakcij in večje viskoznosti črevesne vsebine (18).

Od bakterijske razgradnje odvisni dostavni sistemi

Količina bakterij v kolonu je ocenjena na okoli 10^{11} /g in obsega okoli 400 različnih vrst. Terapevtski sistemi za ciljanje kolona so narejeni tako, da jih te bakterije lahko razgradijo. Najprej so za ta namen uporabljali potencialno kancerogene polimere, ki vsebujejo azo aromatsko skupino, vendar so jih zamenjali modificirani polisaharidi, ki izkazujejo dobre lastnosti za tvorbo filma in obstanek do kolona (18).

Časovno odvisni dostavni sistemi – pulzni sistemi

Osnovni namen tega pristopa je zakasnitev sprostitve učinkovine med potovanjem dostavnega sistema od ust pa vse do kolona. Zadostna zakasnitev za ciljano dostavo je okoli 5 h, saj traja prehodni čas skozi tanko črevo ponavadi 3–4 h in je dokaj konstanten (18). Slika 1 predstavlja hipotetični model dvopulznega sproščanja učinkovine.



Slika 1: Hipotetični model plazemske koncentracije učinkovine po dvopulznem sproščanju (28).

1.3 DOSTAVNI SISTEMI S PULZNIM SPROŠČANJEM

Pulzni dostavni sistemi učinkovin so sistemi, ki zagotavljajo popolno in hitro sprostitve učinkovine po točno določenem predhodnem času zakasnitve sproščanja (22). Zakasnitev sproščanja se nanaša na čas, ko se iz farmacevtske oblike ne sprost nič učinkovine. Ti sistemi so v zadnjem času postali zelo zanimivi zaradi svojega mehanizma delovanja. Večina dostavnih sistemov je namenjena konstantnemu sproščanju učinkovine skozi daljši čas, pulzni sistemi pa nastopijo takrat, ko ne želimo zagotoviti konstantne koncentracije učinkovine v plazmi (23). Omogočajo, da se učinkovina sprost po določenem času, na pravem mestu in v zadostni količini (22, 24). Pulzno sproščanje je primerno predvsem za učinkovine, ki so močno podvržene metabolizmu prvega prehoda skozi jetra, za učinkovine, ki jih uporabljamo v časovno odvisnem zdravljenju, imajo specifično mesto absorpcije iz GIT, jih uporabljamo za ciljano dostavo v kolon, ali pa v terapiji, kjer je primerno nočno odmerjanje zdravila (22, 24, 25). Z uporabo tovrstnih sistemov imamo tudi možnost izogiba toleranci zdravila, ki se lahko pojavi ob konstantnem in dolgotrajnem vnosu učinkovine v organizem. Tako se ti sistemi najpogosteje uporabljajo pri zdravljenju simptomov hipertenzije, ishemične bolezni srca, bronhialne astme, revmatoidnega artritisa, hiperholesterolemije, kroničnih črevesnih bolezni in drugih. Za našteje bolezni je značilna podvrženost cirkadianemu ritmu organizma (26). Cirkadiani ritem uravnava številne funkcije v našem organizmu, in sicer metabolizem, fiziološke procese, vedenje, vzorce spanja, produkcijo in izločanje hormonov ter druge. Znano je, da je pojavnost srčnih napadov višja v zgodnjih jutranjih urah (22), nivo kortizola je višji v jutranjih urah in se postopoma znižuje čez dan. Krvni tlak je prav tako najvišji v jutranjih urah in do poznega popoldneva, ponoči pa pade. Pacienti z osteoartritisom naj bi imeli manj bolečin zjutraj kot ponoči, medtem ko tisti z revmatoidnim artritisom bolečine bolj občutijo zjutraj (27). Mnoge študije, ki so bile izvedene na tem področju, kažejo na to, da lahko farmakokinetiko učinkovin, učinkovitost in stranske učinke povežemo z biološkim ritmom. Ključni faktor za doseg maksimalnega učinka je torej dostava zadostne količine učinkovine na mesto delovanja ob času, ki sovpada s fiziološkim ritmom, značilnim za določeno bolezen (28).

Pulzni sistemi se v splošnem delijo na časovno nadzorovane sisteme in sisteme specifične glede na mesto dostave učinkovine. Sproščanje iz prve skupine je ponavadi nadzorovano s strani samega sistema, medtem ko je pri drugi skupini sproščanje pogojeno glede na biološko okolje samega GIT, kot so pH vrednost in encimi. Večina pulznih dostavnih

sistemov sestavlja jedro, ki služi kot vsebnik učinkovine, prekrito z bariero (29, 30). Bariera se lahko raztopi, razpade zaradi erozije ali pa se razgradi ali pretrga po določenem času zakasnitve, učinkovina pa se nato hitro sprostí iz jedra. Razpad bariere je pospešen s privzemom vode v jedro skozi oblogo, širitev pa lahko povzročíjo šumeče pomožne snovi ali nabrekajoče snovi (24). V grobem jih delimo na enoenotne in večnotne sisteme. Enoenotni sistemi so lahko formulirani na dva načina, in sicer kot kapsule ali pa delujejo na osnovi osmoze. Večnotni sistemi pa učinkovino sprostijo na osnovi spreminjanja prepustnosti membrane ali z oblaganjem z razpadno membrano. Tako prvi kot tudi drugi delujejo v osnovi po enakem mehanizmu, vendar pa zadnje raziskave kažejo na več prednosti večnotnih sistemov (28). V preglednici I so zbrane nekatere prednosti in slabosti večnotnih sistemov.

Preglednica I: Nekatere prednosti in pomanjkljivosti večenotnih pulznih dostavnih sistemov (28).

Prednosti
• Predvidljiv, ponovljiv in kratek čas zadrževanja v želodcu
• Zmanjšanje variabilnosti pri in med posamezniki
• Izboljšana biološka uporabnost
• Zmanjšanje neželenih učinkov in boljše prenašanje zdravila
• Zmanjšanje lokalnega draženja
• Manjše izgube učinkovine
• Možnost prilagajanja pri izdelavi
• Enostavno kombiniranje pelet z različno sestavo ali različnimi vzorci sproščanja
• Izboljšana stabilnost
• Izboljšana complianca
• Poenoten vzorec sproščanja
Pomanjkljivosti
• Možna je majhna vsebnost vgrajene učinkovine
• Potreba po večjih količinah pomožnih snovi
• Pomanjkanje proizvodne ponovljivosti in učinkovitosti
• Veliko procesnih spremenljivk izdelave
• Večstopenjski proces izdelave
• Visoki stroški izdelave
• Potrebe po napredni tehnologiji
• Več izobraževanj strokovnjakov na tem področju

1.3.1 Enoenotni sistemi

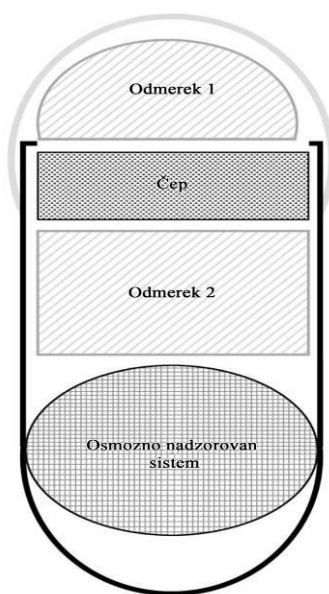
Dostavni sistemi na osnovi kapsule

So najpogostejša oblika enoenotnih sistemov. Čas zakasnitve je nadzorovan s pomočjo čepa, ki ga nabrekanje in erozija po določenem času izpodrineta in tako pride do pulzne sprostitve odmerka iz netopnega jedra kapsule. Tovrstna kapsula pod zaščitnim imenom Pulsincap® je bila izdelana pri R.P. Scherer International Corporation iz Michigana, ZDA.

Čep je narejen iz nabrekajočega hidrogela, s pomočjo katerega lahko zapremo v vodi netopno kapsulo in tako preprečimo izhajanje učinkovine iz jedra (31). Ko pride kapsula v stik z medijem, začne čep nabrekati in se po določenem času samodejno izpodrine ter omogoči sprostitve pulza. Čep lahko sestavljajo polimeri z različno stopnjo viskoznosti. To so hidroksipropilmetilceluloza, polimetilmetakrilati, polivinil acetat in polietilen oksid. Čas zakasnitve sprostitve učinkovine je odvisen od dolžine čepa in mesta, kamor ga vstavimo. Stevens in sodelavci so razvili podoben sistem z izpodrivajočo stisnjeno tableto (32). Nadalje sta Krögel in Bodmeier preučevala sproščanje klorfeniramina, vgrajenega v kapsulo z razpadnim čepom, in s spreminjanjem sestave in količine čepa, spreminjala sproščanje (29). Stevens in sodelavci pa so izdelali še hidrofilne »sendvič kapsule«, ki so bile narejene tako, da so eno kapsulo zaprli v večjo, vmesni prostor pa so zapolnili s hidrofilnim ovojem iz HPMC. Ko se v mediju zunanja kapsula raztopi, je čas zakasnitve drugega pulza odvisen od razpada ovoja (22).

Osmozno nadzorovani dostavni sistemi

Narejeni so podobno sistemom na osnovi kapsule, ki je obložena s polprepustno membrano. Znotraj kapsule je vgrajen netopen čep, ki vsebuje osmotsko aktivne snovi in učinkovino (Slika 2).



Slika 2: Kapsula z osmozno nadzorovanim pulznim sproščanjem učinkovine (17).

Tak sistem so izdelali v laboratoriju v ZDA, in sicer pod imenom Port[®] (22). Ko kapsula pride v stik z medijem, voda prodre v notranjost kapsule skozi polprepustno membrano,

kar povzroči porast tlaka in posledično po določenem času izžene čep. Tovrsten sistem so razvili za dostavo metilfenidata za zdravljenje motenj v pomanjkanju pozornosti s hiperaktivnostjo. S pomočjo dvopulznega sproščanja učinkovine (del odmerka učinkovine se je sprostil takoj, drugi del odmerka pa po določenem času zakasnitve) so dosegli pomembno prednost, saj so z enkratnim odmerjanjem zdravila izboljšali sprejemljivost zdravljenja pri šolskih otrocih (22).

Dostavni sistemi s topno ali erodirajočo oblogo

Delujejo na osnovi vsebnika z učinkovino, ki ga obdaja topna bariera, ki se po določenem času raztopi in jedro sprostí učinkovino. Kot polimer za oblaganje lahko uporabimo hidrofilni HPMC. Za preprečitev variabilnosti v stopnji zadrževanja v želodcu pa lahko sistem še dodatno obložimo s filmom. Čas zakasnitve je pri tem odvisen od debeline obloge in viskoznosti. Oblika je poznana pod imenom Chronotropic® (33).

Dostavni sistemi z razpadno membrano

Sistemi prav tako delujejo na osnovi vsebnika z učinkovino, ki je obložen z razpadno membrano. Zunanja membrana razpade ali se pretrga zaradi tlaka, ki nastane zaradi šumečih ali nabrekajočih pomožnih snovi. Sungthongjeen in sodelavci so razvili pulzni dostavni sistem, kjer so z različnimi količinami laktoze in mikrokristalne celuloze direktno stisnili tablete buflomedila in jih obložili. Notranjo oblogo je predstavljala plast nabrekajočega premreženega natrijevega karmelozata, zunanjo pa razpadna plast etilceluloze. Ugotovili so, da so z večanjem količine zunanje obloge, podaljšali čas zakasnitve sproščanja učinkovine. Nasprotno pa se je s povečevanjem notranje plasti čas skrajšal (24). Bussemer in sodelavci so razvijali sisteme na osnovi trdih želatinskih kapsul. Najprej so jih obložili z nabrekajočo oblogo in nato še z nevodotopno, a prepustno oblogo. Ob stiku z medijem kapsula privzame medij. Zaradi pritiska nabrekajoče plasti pride do razpada zunanje obloge in učinkovina se sprostí (34).

Tablete v kapsuli

Na področju pulznega sproščanja se kaže velik napredek pri razvoju pulznih tablet (24), pulznih mikrosfer (35), pulznih kapsul (36), v zadnjem času pa tudi pulznih implantatov (37). Večinoma so vsi sistemi zasnovani tako, da pride do sprostitve enega ali dveh pulzov učinkovine po določenem času. Z namenom, da z enkratnim apliciranjem odmerka v telo

dnevno dosežemo tripulzno sprostitve učinkovine ob točno določenih časih pa so razvili tako imenovane »tablete v kapsulni napravi«, ki so v osnovi podobne drugim enoenotnim sistemom. Sestavljajo jih neprepustna kapsula s topnim pokrovom, trislojna tableta, ki predstavlja prva dva pulza, dvoslojna tableta, iz katere se sprosti tretji pulz ter laktoza kot polnilo na dnu kapsule. Tableti sta vgrajeni v kapsulo, ki je pokrita s topnim pokrovom. Ob stiku z želodčnim medijem se vrh raztopi in sprosti se prvi pulz. Za tem pride do nabrekanja in erozije bariere, kar predstavlja zakasnitveni čas pred drugim sproščanjem. Podobno se dogaja tudi pri drugi tableti. Faktorji, ki jih lahko reguliramo, in s tem vplivamo na sproščanje, so vrsta in količina snovi, ki tvorijo bariere, lokacija tablet v kapsuli in polnilo. Raziskave so pokazale, da najboljše lastnosti za zadržano sproščanje izkazuje natrijev alginat in HPMC E5. S povečevanjem koncentracij polimera pride do večjega časovnega zamika, hkrati pa lahko povzroči tudi težavo pri polnjenju kapsul zaradi velikosti tablet (38).

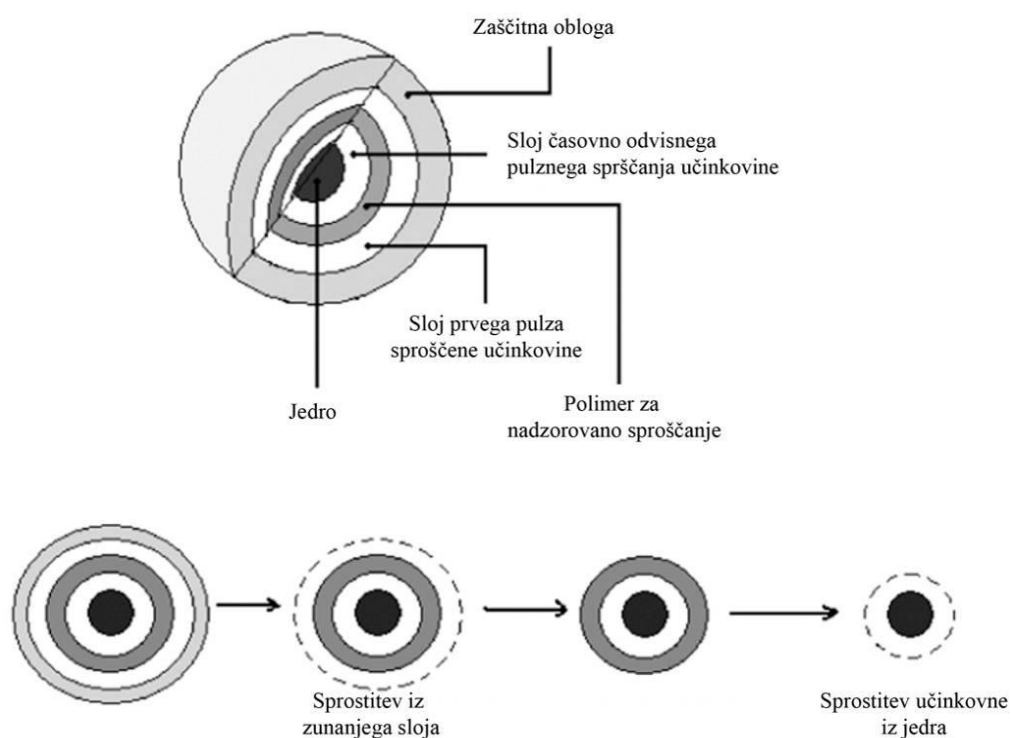
Tridimenzionalno tiskanje tablet

Nova tehnika oblikovanja peroralnih oblik je tudi tridimenzionalno tiskanje (3DP™), ki predstavlja alternativo konvencionalno stisnjenim tabletam s podobnim profilom sproščanja učinkovin. Z metodo so razvili štiri različne tipe dostavnih sistemov s prirejenim sproščanjem. To so oblike s takojšnjim sproščanjem in podaljšanim delovanjem, razpadne tablete, oblike za dvopulzno sproščanje v črevesju in druge dvopulzne oblike. Prvo obliko tablet sestavljata dva dela z učinkovino, odmerek pa sproščata na osnovi različnih pH lastnosti. Po zakasnitvenem času 10 min se najprej sprosti prvi pulz, nato pa se podaljšano skozi obdobje 7 h sprošča še drugi odmerek. Druga oblika razpadne tablete je sestavljena iz treh delov. Notranja hitro razpadna enota razpolovi tableto na dve podenoti, ki potem sprostita učinkovino v 30–45 min po razpadu. Intestinalna dvopulzna oblika je sestavljena iz enofazne pomožne snovi, v kateri je v dveh ločenih področjih natiskana učinkovina natrijev diklofenak. Zaradi erozije se nato učinkovina sprosti v črevesju v dveh pulzih, med katerima je določen čas zakasnitve. Druge dvopulzne tablete pa ravno tako vsebujejo dve podenoti, ki se razlikujeta v pH lastnostih, zato se prvi pulz sprosti v kislem, drugi pa v bazičnem mediju (39).

1.3.2 Večenočni sistemi

Dostavni sistemi na osnovi sprememb v prepustnosti membrane

Sistem sestavljajo jedra pelet, ki vsebujejo učinkovino in sukcinso kislino, obloženo z amonij-metakrilatnim kopolimerom. Voda razgradi sukcinso kislino, učinkovina v notranjosti in kisel medij pa povečata prepustnost polimernega filma (22, 28). Chen je razvil večenočni dostavni sistem na osnovi osmoze za dostavo diltiazema. Narejen je tako, da se učinkovina sprosti v dveh različno časovno določenih pulzih. Želatinska kapsula vsebuje tri tipe različnih pelet. Vsaka peleta vsebuje jedro, ki je sestavljeno iz učinkovine in NaCl. Pelete so obložene z netopnimi, a za vodo prepustnimi pomožnimi snovmi, ki so tvorilci filma. Debelina filma vpliva na lastnosti posameznih pelet in sproščanje učinkovine po stiku z medijem v GIT. Učinkovina se sprošča neodvisno od pH okolja v GIT, saj je obloga narejena iz pH neodvisnega materiala (40). Slika 3 prikazuje primer sestave večenočne pelete (28).



Slika 3: Prikaz sestave večenočne pelete in dvopulzno sproščanje učinkovine iz pelete (28).

Dostavni sistemi z razpadno oblogo

Podobno kot pri enoenotnih tudi tukaj dosežejo učinek s pomočjo šumečih in nabrekajočih snovi. Bai je razvil sistem, ki ga sestavljajo mnogi posamezni delci, vsak s svojo sestavo. Razlikujejo se v debelini obloge, kar je tudi merilo oziroma razlog za pulzno sproščanje. V tem primeru imajo vsa jedra enako sestavo (41).

Plavajoči sistemi z nizko gostoto

V nasprotju z ostalimi večenočnimi sistemi imajo plavajoči to prednost, da se zaradi svojih lastnosti zadržujejo v želodcu in ne podležejo variabilnosti, ki lahko nastane kot posledica pH vrednosti ali različnih drugih vplivov. Namenjeni so tudi učinkovinam, ki se absorbirajo iz želodca ali pa so namenjene lokalnemu delovanju v njem (28). Sharma in sodelavci so razvili sistem z uporabo poroznega kalcijevega silikata Florite® RE in pH odvisnega premreženega polimera natrijevega alginata, in sicer za namen časovno in krajevno odvisnega zdravljenja revmatoidnega artritisa z meloksikamom. Bolezen je diagnosticirana na podlagi jutranjih bolečin v sklepih, zato je časovno odvisno pulzno sproščanje zanesljiv način, da bo učinkovita plazemska koncentracija meloksikama sovpadala z bolečinami. Učinkovino so adsorbirali na nosilec s postopkom hitrega odparevanja topila iz raztopine z učinkovino in poroznim nosilcem. Nato so trdno disperzijo uporabili pri pripravi jeder z natrijevim alginatom, in sicer s pomočjo ionotropnega geliranja. Čas plavanja delcev so regulirali z gostoto delcev in hidrofobnimi lastnostmi učinkovine. Večina učinkovin se absorbira iz zgornjega dela tankega črevesa, kar jim omogoča izboljšano terapevtsko učinkovitost. V kislem mediju se iz te oblike ni sprostilo skoraj nič učinkovine, v tankem črevesu pa je prišlo do takojšnjega pulza. Razvoj plavajočih sistemov z zakasnjnim pulznim sproščanjem tako predstavlja dobro rešitev problema, saj mnoge učinkovine povzročajo tudi draženje želodčne sluznice in posledično razjede. Količina poroznega nosilca in natrijevega alginata značilno vplivata na obnašanje jeder. S povečevanjem koncentracij obeh sestavin lahko nadzorujemo čas plavanja jeder, ki znaša od 1,9 do 7,8 h. Sproščanje učinkovine v kislem mediju je odvisno od obeh sestavin, medtem ko je sproščanje v simuliranem okolju intestinalnega trakta nadzorovano predvsem s strani natrijevega alginata (9).

Metode izdelave formulacij s podaljšanim zadrževanjem v želodcu temeljijo na različnih mehanizmih. To so vzgon, nabrekanje/čep, visoka gostota ali adhezija na mukozo. Kalcijev alginat je rezultat kompleksacije poliglukuronskega dela s kalcijevim ionom in je znan po svoji netopnosti v kislem mediju (42).

Whitehead je s sodelavci razvil jedra kalcijevega alginata iz gela s postopkom sušenja z zamrzovanjem. Delci velikosti premera približno 2,5 mm so plavali več kot 12 h v simuliranem želodčnem mediju. V *in vivo* študiji pa so izvedli primerjavo plavajočih sistemov z neplavajočimi večenočnimi sistemi. Obe obliki so označili z radioaktivnim pertehnetatom ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) ter jih po peroralni poti aplicirali sedmim zdravim prostovoljcem po zaužitju zajtrka. Prehod plavajočih in neplavajočih jeder so spremljali s pomočjo gama scintigrafije. Plavajoča jedra so se zadrževala v želodcu od 5,5 do 9 h, medtem ko neplavajoča jedra niso izkazovala enakih lastnosti, saj je bil njihov čas zadrževanja v želodcu le 1 h (43). Iannuccelli in sodelavci so razvili obliko, ki jo sestavlja jedro kalcijevega alginata, ovito z membrano kalcijevega alginata z dodatkom poroznega PVA. Membrano in jedro ločuje zračni mehurček, ki poleg porozne membrane zagotavlja plavajoče lastnosti (44). Murata pa je s sodelavci razvil modificirano obliko, ki jo je razvijal že Whitehead. Z dodatkom rastlinskega olja so želeli povečati vzgon, z dodatkom hitosana pa dodatno bioadhezijo na mukozo. Obe obliki sta v želodcu plavali, zato sta zaradi svojih lastnosti primerni tako za pripravo dostavnih sistemov z zadržanim sproščanjem kot tudi za ciljno dostavo zdravil v želodcu, na primer za zdravljenje infekcije s *Helicobacter pylori* (45). Namen nadaljnje raziskave je tako bil razvoj metode za izdelavo večenočne oblike s kalcijevim alginatom z izboljšanim vzgonom. Na podoben način, kot je to storil Whitehead s sodelavci, so pripravili želatinska jedra s sončničnim oljem. Vgradili so tri različne učinkovine in nato preverjali različne parametre. Jedra napolnjena z oljem so uspešno plavala 24 h, prazna jedra pa ne. Raziskava je tudi pokazala, da se je vzgon zmanjšal z manjšo količino olja in večjo koncentracijo vgrajene učinkovine (42).

1.4 OBLAGANJE TRDNIH FARMACEVTSKIH OBLIK

Trdne farmacevtske oblike s polimeri oblagamo iz več razlogov. Prvotno je bil namen prekriti neprijeten okus in zagotoviti lepši videz, lahko pa oblagamo tudi zaradi zaščite zdravilne učinkovine ali drugih razlogov. Z oblaganjem trdnih farmacevtskih oblik lahko dosežemo:

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

Eden glavnih razlogov oblaganja tablet pa je tudi sprememba sproščanja zdravilne učinkovine. Tako lahko zagotovimo prirejeno sproščanje, zaščitimo želodčno sluznico pred dražečimi učinkovinami ali pa z uporabo gastrozistentnih polimerov zaščitimo učinkovino pred razpadom v kislem pH v želodcu (46).

1.4.1 Materiali za oblaganje

Polimeri za oblaganje izkazujejo različne lastnosti glede topnosti in načina razgradnje. Najpogosteje se uporabljajo celulozni derivati in akrilati. Obloge, ki so namenjene gastrozistentnim oblikam, vsebujejo pH odvisne polimere. To so polimeri, ki vsebujejo karboksilne skupine in so netopni v kislem pH želodca. Pri nizkih pH vrednostih so karboksilne kisline neionizirane, ob stiku z višjim pH pa se ionizirajo in polimer postane topen. Taki polimeri se raztapljajo pri pH vrednostih višjih od 5 ali 6, in sicer s tvorbo soli v bazičnem pH. Najpogosteje uporabljeni polimeri na trgu so derivati celuloze: celulozni acetat ftalat - CAP (Aquateric®), hidroksipropilmetilcelulozni ftalat - HPMCP, karboksimetilceluloza - CMEC, hidroksipropilmetilcelulozni acetat sukcinat - HPMC-AS (Aqoat®); derivati polivinila: polivinil acetat ftalat - PVAP (Sureteric®) in

polimetakrilati – kopolimeri metakrilne kisline in metilmetakrilata ali etilakrilata (Eudragit®) (21, 46, 47).

1.4.2 Gastrozistentni polimeri

V preglednici II so zbrani nekateri gastrozistentni polimeri in njihove lastnosti.

Preglednica II: Gastrozistentni polimeri in njihove lastnosti.

ZAŠČITENO IME	OKRAJŠAVA POLIMERA	KEMIJSKO IME	VRSTA POLIMERA	pH TOPNOST POLIMERA
Aqoat®	HPMC-AS	Hidroksipropilmetil- celulozni acetat sukcinat	AS-LF	$\text{pH} \geq 5,5$
			AS-MF	$\text{pH} \geq 6,0$
			AS-HF	$\text{pH} \geq 6,8$
			AS-LG	$\text{pH} \geq 5,5$
			AS-MG	$\text{pH} \geq 6,0$
			AS-HG	$\text{pH} \geq 6,8$
Aquateric®	CAP	Celulozni acetat ftalat	$\text{pH} \geq 5$	
HPMCP®	HP	Hidroksipropilmetil- celulozni ftalat	HP-55 HP-55S	$\text{pH} \geq 5,5$
			HP-50	$\text{pH} \geq 5,0$
Eudragit®	L, S, FS...	Polimetakrilat	L 30 D-55 L 100-55	$\text{pH} > 5,5$
			L 100	$\text{pH} > 6,0$
			S 100 FS 30 D	$\text{pH} > 7,0$
Kollicoat®	MAE	Polimetakrilat	MAE 30 DP MAE 100 P	$\text{pH} \geq 5,5$
Sureteric®	PVAP	Polivinil acetat ftalat	$\text{pH} \approx 5$	

1.4.3 Temperatura steklastega prehoda in uporaba mehčal pri oblaganju trdnih farmacevtskih oblik

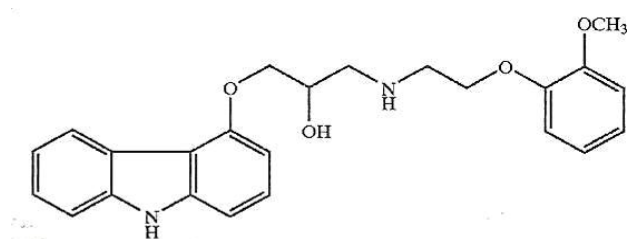
Temperatura steklastega prehoda je značilna za nekristalne, torej amorfne in delno amorfne snovi, kot so polimeri. Predstavlja mejno temperaturo, pri kateri snov spremeni svoje lastnosti. Pod temperaturo steklastega prehoda je snov v tako imenovanem steklastem stanju, je trdna, krhka in lahko lomljiva. Nad to temperaturo pa molekule postanejo gibljive, zato je tudi snov bolj elastična (48).

Polimer raztopimo v vodnem ali organskem topilu in ga razpršujemo na površino delcev. Ob segrevanju topilo odpareva in delci polimera se zaradi kohezivnih sil začnejo združevati. Proces poteka pri povišani temperaturi, kar posledično pospeši odparevanje topila in povzroči hitrejšo tvorbo filma. Po zaključku oblaganja je potrebno segrevanje pri temperaturi nad steklastim preходом polimera, saj tako zagotovimo, da se filmska obloga lepo zlije in postane gladka. Temperaturo steklastega prehoda pa lahko znižamo z dodatkom mehčal (46). Izbira mehčala mora ustrezati polimeru po lastnostih in tudi po količini, ki jo dodamo. Z dodatkom mehčala raztopini za oblaganje zmanjšamo krhkost polimera, preprečimo razpoke po sušenju in povečamo odpornost na mehanske obremenitve. Polimer se po dodatku zmehča, poveča se gibljivost verižnih molekul. Z dodatkom mehčala lahko tako celoten postopek izvajamo pri nižji temperaturi in dosežemo nastanek homogenega filma (47). Kot mehčala se najpogosteje uporabljajo ftalatni estri (dietilftalat), derivati glicerola (gliceroltriacetat), polietilenglikoli, nekatere površinsko aktivne snovi (Tweeni) in citratni estri, med katerimi je najpogostejši trietilcitrat - TEC (46).

Thoma in sodelavci so raziskovali vpliv vodnih raztopin polimerov na stabilnost obloženih pelet in tablet. Uporabili so različne gastrozistentne polimere, raztopljene v vodi in organskih topilih. Uporaba organskih topil za oblaganje je sporna zaradi splošnih priporočil, kot so eksplozijska varnost v proizvodnih obratih in toksičnost, ter problema z rezidualnimi topili, vendar pa ima tudi uporaba vodnih disperzij določene omejitve. To so mikrobiološka kontaminacija, daljši čas odparevanja in hlapnost mehčala. V raziskavi so med drugim ugotovili, da so pri vseh polimerih, razen pri Eudragitu, potrebne večje količine vodne raztopine polimera za doseg gastrorezistence, v primerjavi z organskimi topili. Z različnimi koncentracijami dodanega mehčala so želeli pokazati vpliv na tvorbo filma. Rezultati so pokazali, da se z večanjem koncentracije izbranega TEC, tvori bolj gladek in homogen film, vendar pa na rezultate in količino mehčala po odparevanju topila, vpliva tudi temperatura procesa, ki ne sme biti previsoka, saj lahko pride do prevelikih izgub mehčala in posledično neustrezne obloge. Tvorbo filma iz vodnih disperzij lahko izboljšamo tudi s skrajšanjem verig polimera ali pa uporabimo predhodno oblaganje, ki omogoči uporabo manjše količine raztopine polimera (47).

1.5 MODELNA UČINKOVINA

Modelna učinkovina, ki je prikazana na sliki 4, je neselektivni zaviralec adrenergičnih receptorjev α in β , natančneje α_1 , β_1 in β_2 receptorjev. Posledica zaviranja α_1 in β adrenoreceptorjev je padec krvnega tlaka, učinkovina pa ima tudi antioksidativne in antiproliferativne lastnosti. Uporablja se pri zdravljenju esencialne hipertenzije, kronične stabilne angine pectoris, kroničnega srčnega popuščanja in za zdravljenje po miokardnem infarktu. Priporočeni največji dnevni odmerek učinkovine je 2 x 25 mg. Učinkovina je racemat. S(-) enantiomer zavira β receptorje, medtem ko oba enantiomera izkazujeta enako zaviranje receptorjev α_1 . Absolutna biološka uporabnost učinkovine v telesu je približno 25 %. Biološka uporabnost je stereo-selektivna, 30 % za R-obliko in 15 % za S-obliko. Učinkovina je zelo lipofilna, približno 98 % do 99 % se je veže na plazemske beljakovine. V jetrih pride do obsežne presnove z oksidacijo in konjugacijo, učinek prvega prehoda po peroralnem dajanju znaša približno 60–75 % (49).



Slika 4: Modelna učinkovina (50).

Na stranski verigi učinkovine je prisotna sekundarna aminska skupina, katere pKa je 7,8. Topnost učinkovine v nevtralnem in alkalnem pH je razmeroma nizka. Pri pH 9 je topnost < 1 $\mu\text{g/ml}$. S padanjem vrednosti pH topnost narašča in doseže plato blizu pH 5. Topnost nasičene raztopine pri pH 7 je okoli 23 $\mu\text{g/ml}$, pri pH 5 pa okoli 100 $\mu\text{g/ml}$ (pri pogojih sobne temperature). Pri vrednostih pH od 1 do 4 je topnost učinkovine omejena glede na topnost njene protonirane oblike ali *in situ* tvorbe soli. Tvorba soli s klorovodikovo kislino *in situ* povzroči zmanjšanje topnosti v kislem mediju (50). Ekstremno nizka topnost v alkalnem pH močno omejuje absorpcijo učinkovine v tankem črevesu in kolonu (51).

2 NAMEN DELA

Namen dela je načrtovanje in izdelava dostavnih sistemov s prirejenim dvopulznim sproščanjem v vodi težko topne modelne učinkovine.

1. Izdelali bomo trdne disperzije modelne učinkovine z netopnimi poroznimi pomožnimi snovmi. Kot porozni nosilec bomo uporabili hidrofilno Sylysio 350, porozni silicijev dioksid s povprečno velikostjo por 25 nm in velikostjo delcev od 3,1 do 20,0 μm . V drugem primeru pa bomo učinkovino vgrajevali v porozno ogrodje Neusilina US2, sintetični porozni magnezijev aluminometasilikat s povprečno velikostjo por 14,9 nm in povprečno velikostjo delcev od 44 do 177 μm . Trdne disperzije bomo izdelali z metodo vzpostavitve ravnotežja iz raztopine učinkovine v organskem topilu ter z metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku. Namen vgrajevanja modelne učinkovine v trdne disperzije je izboljšanje raztapljanja in posledično izboljšanje biološke uporabnosti učinkovine. Raztapljanje kristalne oblike učinkovine in vgrajene v trdne disperzije bomo vrednotili s preskusom raztapljanja po Ph. Eur. 6th Ed. Lastnosti vgrajene modelne učinkovine v trdne disperzije bomo vrednotili še z diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC) ter termogravimetrično analizo (TGA), morfologijo delcev pa z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM).
2. Trdne disperzije bomo granulirali z različnimi gastrorezistentnimi polimeri, to so vodne disperzije Eudragit L 30 D-55, Eudragit FS 30 D in Aqoat AS-MF, alkalne raztopine Eudragit L 100-55 in Aqoat AS-MF ter raztopine Aqoat AS-MF v kloroformu. Z granuliranjem trdne disperzije z različnimi koncentracijami polimerov želimo doseči dvopulzno sproščanje učinkovine, pri katerem se bo polovica odmerka sprostila takoj v kislem mediju s pH=1,2, zakasnjeno v mediju s pH=6,8 ali pH=7,2 pa ji bo sledila še hitra sprostitvev druge polovice odmerka.
3. Izdelali bomo tudi tablete iz trdne disperzije in pomožnih snovi, ki jih bomo oblagali z etanolno raztopino gastrorezistentnega polimera Eudragit L 100-55. Naš namen je doseči zakasnjeno sproščanje učinkovine v tankem črevesu, kjer se bo odmerek v celoti in hitro sprostil. Sproščanje učinkovine iz granulatov in obloženih tablet bomo vrednotili s preskusom raztapljanja po Ph. Eur. 6th Ed.

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.

Porozna nosilca za pripravo trdnih disperzij:

- Sylysia[®] 350: porozni silicijev dioksid (Fuji Chemical Industry Co. LTD, Japonska)
- Neusilin[®] US2: porozni magnezijev aluminometasilikat (Fuji Chemical Industry Co. LTD, Japonska)

Organska topila za pripravo trdnih disperzij:

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

Gastrorezistentni polimeri za granuliranje trdnih disperzij in oblaganje tablet:

- Polimetakrilat Eudragit[®] L 30 D-55 (Röhm GmbH, Nemčija)
- Polimetakrilat Eudragit[®] FS 30 D (Röhm GmbH, Nemčija)
- Polimetakrilat Eudragit[®] L 100-55 (Röhm GmbH, Nemčija)
- Hidroksipropilmetilcelulozni acetat sukcinat Aqoat[®] AS-MF (Shin-Etsu, Chemical Co., Japonska)

Pomožne snovi pri tabletiranju (razgrajevala):

- Vivasol: Natrijev karmelozat, premreženi (JRS Pharma, Nemčija)
- PROSOLV SMCC HD 90: Mikrokristalna celuloza in koloidni silicijev dioksid (JRS Pharma, Nemčija)

Topila za pripravo raztopin in disperzij za oblaganje:

- Prečiščena voda
- Kloroform; CH_3Cl (Merck, Nemčija)
- Etanol, absolutni; $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (Merck, Nemčija)
- Natrijev hidroksid; NaOH (Merck, Nemčija)

Mehčalo za pripravo obloge gastrozistentnega polimera za oblaganje tablet:

- Trietilcitrat (TEC)

Kemikalije in reagenti za pripravo kislih in fosfatnih medijev za preskus raztapljanja:

- Prečiščena voda
- Koncentrirana klorovodikova kislina (37 % HCl), (Merck, Nemčija)
- Natrijev hidroksid; NaOH (Merck, Nemčija)
- Natrijev hidrogenfosfat; Na_2HPO_4 (Merck, Nemčija)
- Natrijev dihidrogenfosfat dihidrat; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ (Merck, Nemčija)
- Površinsko aktivna snov SDS - natrijev dodecilsulfat (Merck, Nemčija)
- Natrijev fosfat dodekahidrat; $\text{Na}_3\text{PO}_4 \times 10\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, Nemčija)

Filtri:

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

Priprava medijev za preskus raztapljanja:Klorovodikova kislina pH=1,2

V 1000 ml bučo smo nalili 900 ml prečiščene vode in v digestoriju dodali 8,5 ml 37 % koncentrirane HCl. Raztopini smo dodali še 1 g/l SDS. Bučo smo nato dopolnili s prečiščeno vodo do oznake ter dobro premešali na magnetnem mešalu.

Fosfatni pufer pH=6,8

6,8 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ in 1g/l SDS smo zatehtali v 1000 ml bučo in dopolnili s prečiščeno vodo do oznake. Nato smo med mešanjem na magnetnem mešalu preverili pH raztopine in ga uravnali z dodatkom vodne raztopine NaOH. Raztopino smo pripravili tako, da smo 0,9 g NaOH dodali 100 ml prečiščene vode, da se NaOH raztopi.

Fosfatni pufer pH=7,2

Pufer smo pripravili na enak način kot fosfatni pufer pH=6,8, le da smo dodali večjo količino raztopine NaOH.

Pufer za dvig pH do 6,8

0,2 M raztopino natrijevega fosfata dodekahidrata pripravimo tako, da 19 g natrijevega fosfata dodekahidrata in 250 mg SDS (1 g/l) raztopimo v 250 ml prečiščene vode. Če reagenta natrijevega fosfata dodekahidrata ni na izbiro, pripravimo enako raztopino tako, da v 250 ml bučko zatehtamo 7,1 g Na_2HPO_4 , 250 mg SDS in 1,85 g NaOH ter dopolnimo s prečiščeno vodo do oznake. Raztopino mešamo na magnetnem mešalu. 250 ml tako pripravljene raztopine pufra smo dodali 750 ml 0,1 M HCl s pH=1.2 za dosego pH vrednosti 6.8.

Pufer za dvig pH do 7,2

V 250 ml bučko smo zatehtali 7,1 g Na_2HPO_4 , 250 mg SDS in 2,3 g NaOH ter dopolnili s prečiščeno vodo do oznake. 250 ml te raztopine pufra smo dodali 750 ml 0,1 M HCl s pH=1.2 za dosego pH vrednosti 7.2.

Pufri za spiranje brizg

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

3.2 APARATURE

Pri eksperimentalnem delu smo uporabljali naslednje aparature:

- Analizna tehtnica, A-150-sx, Cobos, Španija;
- Tehtnica 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, Tehtnica, Slovenija;
- Sito: analysensieb Retsch, 1,00 mm, Nemčija;
- Naprava za merjenje pH raztopin: pH METER, Mettler Toledo MA235, Švica;
- Sušilnik Kambič Laboratorijska oprema TIP SP-45, Slovenija;
- Vakuumski sušilnik Heraeus;
- Stresalnik VIBROMIX 403 EVT;
- Vodna kopel: Variomag telesystem (Komet), mešalnik IKA, grelec Julabo;
- Naprava z vesli za spremljanje raztapljanja: ERWEKA DT 6, Švica;
- 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;
- Termogravimetrični analizator: Thermogravimetric analyzer Mettler-Toledo, TGA, opremljen s programsko opremo STARe Software v9.30, Švica;
- Vrstični elektronski mikroskop (SEM): FE-SEM, Supra 35 VP, Carl Zeiss, Nemčija;
- Instrumentirana tabletirka na ekscenter Kilian SP 300;
- Za merjenje trdnosti tablet: Tablet hardness tester VK 200 Vanderkamp[®], ZDA.

3.3 METODE DELA

3.3.1 Določanje topnosti modelne učinkovine pri različnih pH vrednostih

Za določanje topnosti modelne učinkovine smo pripravili nasičene raztopine učinkovine v medijih s tremi različnimi pH vrednostmi (pH=1.2, pH=6.8 in pH=7.2) in dodatkom 1 g/l površinsko aktivne snovi SDS. Nasičene raztopine smo pustili mešati na stresalniku VIBROMIX 403 EVT 24 h. Preden smo z UV spektrofotometrom izmerili absorbance pri valovni dolžini 332 nm in iz umeritvenih premic določili koncentracijo raztopljene učinkovine, smo nasičene raztopine filtrirali skozi filter Minisart® SR 0,45 µm. Absorbanco vzorcev smo merili s kiveto iz kvarčnega stekla in potjo žarka 1,0 cm.

3.3.2 Izdelava trdnih disperzij

Vzorci smo izdelovali po dveh postopkih, in sicer z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine in z metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku. Pri obeh postopkih smo uporabili isto modelno učinkovino, kot porozna nosilca trdne disperzije pa smo uporabili silicijev dioksid Sylysio 350 in sintezni magnezijev aluminometasilikat Neusilin US2. Zaradi težke topnosti učinkovine v vodi moramo izbrati ustrezna organska topila, v katerih bo učinkovina topna, zato smo uporabljali organski topili aceton in tetrahidrofuran (THF). Paziti moramo, da izberemo topila, v katerih mezoporozna nosilca nista topna. Učinkovina se obori v porah nosilnega ogrodja pomožnih snovi, zaradi nastanka amorfne oblike, povečane specifične površine in izboljšanja močenja pa se tako izboljša tudi njeno raztapljanje.

Metoda A: Izdelava trdnih disperzij z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine

Z metodo vzpostavitve ravnotežja smo izdelali dve različni trdni disperziji. V prvem primeru smo 6 g modelne učinkovine raztopili v 100 ml acetona in postavili v ultrazvočno kadičko, da se je popolnoma raztopila. Nato smo raztopini dodali 2 g porozne hidrofilne Sylysie 350 in pustili mešati na magnetnem mešalu 3 h do vzpostavitve ravnotežja. Nato smo suspenzijo filtrirali pri znižanem tlaku skozi filter DURAPORE® MEMBRANE FILTERS filter type 0,1 µm. Znižanje tlaka smo dosegli z vodno črpalko. Trdno disperzijo smo sušili čez noč, in sicer na aparaturi za odparevanje topila pri znižanem tlaku BUCHI Rotavapor R-114 (50 obratov/min; 10 mbar nad parnim tlakom vode; T_{sobna}). V drugem primeru pa smo enako količino 6 g modelne učinkovine raztopili v 100 ml THF ter raztopini dodali 2 g poroznega magnezijevega aluminometasilikata Neusilin US2. To

raztopino smo pustili mešati na magnetnem mešalu 3 h. Zaradi razbitja delcev, ki ga je povzročil magnet, smo trdno disperzijo izdelali tudi brez magneta, in sicer s 3 h mešanjem na stresalniku VIBROMIX 403 EVT. Pri uporabi Neusilina smo po opazovanju slik z uporabo vrstičnega elektronskega mikroskopa ugotovili, da je nekaj učinkovine ostalo tudi na površini trdne disperzije, zato smo jo med filtriranjem pri znižanem tlaku dodatno spirali s 100 ml THF, da se je odvečna učinkovina odstranila. Filtrirano trdno disperzijo smo z zrakom sušili v sušilniku Kambič, in sicer pri 30 °C čez noč. Neusilin smo pred uporabo presejali skozi sito velikosti 0,45 µm in tako poenotili velikost delcev, ki smo jih uporabili za izdelavo trdne disperzije. Masno razmerje po vzpostavitvi ravnotežja v TD učinkovina: Sylysia je bilo 0,35:1, pri TD učinkovina: Neusilin pa 0,11:1.

Metoda B: Izdelava trdnih disperzij z odparevanjem topila pri znižanem tlaku

S tem postopkom smo izdelali trdne disperzije, ki smo jih nato uporabili za tabletiranje. Raztopino smo pripravili podobno, le da smo tokrat kot porozni nosilec uporabili samo Neusilin US2. 1 g učinkovine smo raztopili v 50 ml THF in nato v raztopino suspendirali 4 g Neusilina US2. Te suspenzije nismo pustili mešati, ampak smo takoj začeli z odparevanjem topila na aparaturi za odparevanje topila pri znižanem tlaku BUCHI Rotavapor R-114 (50 obratov/min; 50 mbar in postopno zniževanje do 10 mbar nad parnim tlakom vode; T=50 °C). Te trdne disperzije nismo dodatno spirali s THF, saj smo jo tabletirali in nato oblagali z gastrozistentnim polimerom. Masno razmerje v TD učinkovina: Neusilin je bilo 0,25:1.

3.3.3 Granuliranje trdnih disperzij z gastrozistentnimi polimeri

Trdne disperzije, ki smo jih izdelali po metodi A, smo granulirali z gastrozistentnimi polimeri z namenom, da zadržimo sproščanje učinkovine v kislem pH=1.2 in omogočimo hitro sprostitev v mediju s pH 6.8. Disperzije smo granulirali ročno, tako da smo ustrezni količini disperzije dodajali določeno količino disperzije gastrozistentnega polimera ter dobro premešali s stekleno palčko. Ko smo dodali celotno polimerno disperzijo, smo vlažno zmes s plastično kartico potiskali skozi sito s premerom odprtin 1 mm in s tem poenotili velikost delcev. Nastale granulate smo nato z zrakom sušili v sušilniku Kambič 1 h pri temperaturi 70 °C. Granulate, ki smo jih izdelali s polimernimi disperzijami v kloroformu, smo sušili v digestoriju ali na aparaturi za odparevanje topila pri znižanem tlaku BUCHI Rotavapor R-114. Sestava polimernih disperzij, količine polimernih

disperzij, ki smo jih uporabili za oblaganje in pogoji sušenja granulatov so zbrani v preglednici III.

Preglednica III: Sestava in količina uporabljenih polimernih disperzij pri granuliranju TD ter pogoji sušenja granulatov.

Sestava TD	Sestava polimerne disperzije za oblaganje	Razmerje TD: polimerna disperzija	Pogoji sušenja granulata
Učinkovina: Sylysia = 0,35:1	30 % vodna disperzija Eudragit L 30 D-55	1:6, 1:7.3 in 1:9	1 h pri 70 °C v sušilniku
	30 % vodna disperzija Eudragit FS 30 D	1:6	1 h pri 70 °C v sušilniku
	10 % Eudragit L 100-55 v 10 % vodni raztopini NaOH	1:2.3	1 h pri 70 °C v sušilniku
	20 % Eudragit L 100-55 v 10 % vodni raztopini NaOH	1:2.65	1 h pri 70 °C v sušilniku
	30 % Eudragit L 100-55 v 10 % vodni raztopini NaOH	1:3	1 h pri 70 °C v sušilniku
	10 % Aqoat AS-MF v 10 % vodni raztopini NaOH	1:3	1 h pri 70 °C v sušilniku
	20 % Aqoat AS-MF v 10 % vodni raztopini NaOH	1:3.1	1 h pri 70 °C v sušilniku
	30 % Aqoat AS-MF v 10 % vodni raztopini NaOH	1:4.8	1 h pri 70 °C v sušilniku
	10 % Aqoat AS-MF v kloroformu	1:6	Digestroij pri T sobni
	7 % Aqoat AS-MF v vodi+ 28 % TEC	1:3	1 h pri 70 °C v sušilniku
	7 % Aqoat AS-MF v kloroformu+ 28 % TEC	1:6	Rotavapor 10mbar, 70 °C
	10 % Aqoat AS-MF v kloroformu+ 28 % TEC	1:6	Rotavapor 10mbar, 70 °C
Učinkovina: Neusilin = 0,11:1	30 % vodna disperzija Eudragit L 30 D-55	1:5, 1:5.5, 1:7.5 in 1:8.5	1 h pri 70 °C v sušilniku

3.3.4 Tabletiranje

Trdno disperzijo, ki smo jo izdelali po metodi B, smo uporabili za tabletiranje. Kot pomožne snovi smo uporabili 10 % mikrokristalne celuloze s koloidnim silicijevim dioksidom in 5 % razgrajevala premreženi natrijev karmelozat. Ustrezno količino homogeno premešane tabletirne zmesi za dosego 25 mg učinkovine v eni tableti smo ročno tabletirali z instrumentirano tabletirko na ekscenter Kilian SP 300. Za dosego ustrezne mase tablete smo spreminjali položaj spodnjega pečata, za ustrezno trdnost tablet pa položaj zgornjega pečata. Zgornji pečat smo tako nastavili na 60, spodnji pa na 81. Trdnost tablet smo preverjali z aparaturo za merjenje trdnosti tablet Tablet hardness tester VK 200 Vanderkamp® (Ph. Eur. 6th Ed., poglavje 2.9.8). Povprečna trdnost tablet je znašala 46,7 N. Preverili smo tudi enakomernost mase narejenih tablet (Ph. Eur. 6th Ed., poglavje 2.9.5). Teoretična masa tablete s pomožnimi snovmi je bila 143,75 mg. Izdelali smo okrogle tablete s premerom 10 mm in povprečno debelino 0,42 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 fizikalne zmesi je bila 25 mg.

3.3.5 Oblaganje tablet

Tablete ustrezne mase smo oblagali z etanolno raztopino polimera Eudragit L 100-55 z dodatkom mehčala trietilcitrat (TEC). Dodali smo 28 % mehčala glede na suho maso polimera. Raztopino polimera smo pripravili tako, da smo mehčalo najprej raztopili v absolutnem etanolu pri sobni temperaturi 25 °C in mu nato dodali 10 % polimera Eudragit L 100-55. Pustili smo, da se meša čez noč na magnetnem mešalu. Zaradi majhne serije tablet smo oblogo nanašali ročno s čopičem. Sušenje polimerne obloge je potekalo pri sobni temperaturi, na koncu pa smo obložene in suhe tablete še 2 h dodatno sušili v sušilniku pri temperaturi 40 °C. Oblagali smo tudi tablete, stisnjene iz fizikalne zmesi učinkovine, Neusilina in razgrajevala. Za dosego gastrozistentnosti smo na 1 tableto nanesli 25 % suhe obloge polimera glede na maso tablete.

3.3.6 Vrednotenje trdnih disperzij, granulatov in tablet

Določanje vsebnosti učinkovine v trdnih disperzijah

Vsebnost učinkovine v trdnih disperzijah smo določali s termogravimetrično analizo s TGA Mettler Toledo in/ali 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 0,1 M 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. Absorbanco vzorcev smo merili s kiveto iz kvarčnega stekla in potjo žarka 1,0 cm. Raztopino smo pred merjenjem filtrirali skozi filter Minisart® SR 0,45 µm (vodni medij) ali skozi filter Minisart® SRP 15 0,2 µm (nevodni medij - metanol).

Test zadržanja/sproščanja učinkovine v kislem mediju s pH 1.2 in sproščanja v fosfatnem mediju s pH 6.8

Test zadržanja sproščanja učinkovine v kislem mediju smo določali pri granulatih. Zatehtali smo določeno količino granulata z znano koncentracijo učinkovine. V prvo bučko smo zatehti dodali kisel pufer s pH 1.2 z dodatkom 1 g/l SDS, v drugo pa smo dodali fosfatni pufer s pH 6.8 z dodatkom 1 g/l SDS. Oba vzorca smo za 2 h postavili na magnetno mešalo v termostatirano vodno kopel s temperaturo $37 \pm 0,5$ °C. Nato smo spektrofotometrično pri 332 nm določili koncentracijo sproščene učinkovine iz granulata. Raztopino smo pred merjenjem filtrirali skozi filter Minisart® SR 0,45 µm. Glede na obe izmerjeni koncentraciji smo določili razmerje med sproščeno koncentracijo učinkovine v kislem in fosfatnem mediju.

Preskus raztapljanja

Preskus raztapljanja smo uporabili za vrednotenje vseh pripravljenih vzorcev, to so trdne disperzije, granulati in tablete, hkrati pa smo za primerjavo raztapljali tudi 25 mg odmerok same kristalne učinkovine ter fizikalne zmesi učinkovine s poroznima nosilcema (v ustreznih razmerjih, kot je bila vsebnost učinkovine v trdnih disperzijah) ter tabletirano fizikalno zmes. Raztapljali smo trdne disperzije z vsebnostjo 25 mg (enkratni odmerok) in granulate (granulirana TD (UČ/Sylsya)) z vsebnostjo učinkovine 25 mg (2 x 12,5 mg) in (granulirana TD (UČ/Neusilin)) z vsebnostjo učinkovine 50 mg (2 x 25 mg) ter tablete, ki

so vsebovale 25 mg učinkovine, kar v tem primeru ustreza enkratnemu odmerku. Preskus smo izvedli po Ph. Eur. 6th Ed., poglavje 2.9.3 (52), pri čemer smo uporabili napravo Erweka DT 6 z vesli. Vzorce smo raztapljali v pufrih s tremi različnimi pH vrednostmi. Pripravili smo kisel medij s pH=1.2 in fosfatni medij s pH=6.8 in/ali pH=7.2. Vsem smo dodali 1 g/l SDS. Učinkovino, fizikalne zmesi, trdne disperzije in neobložene tablete smo raztapljali 2 h v kislem in posebej še drugi dve paralelki 2 h v fosfatnem mediju pri ustreznih pogojih: volumen posode 1000 ml, $T_{\text{medija}} = 37 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in 50 obratov na minuto. Pri raztapljanju granulatov in obloženih tablet pa smo vzorce najprej raztapljali 2 h v kislem mediju s pH 1.2, nato pa smo v posodo za raztapljanje dodali 250 ml ustrezne mešanice fosfata, s katero smo dosegli želeni dvig pH (do 6.8 ali 7.2) medija, in isti vzorec raztapljali še nadaljnji 2 h pri povišani pH vrednosti.

Vzorčili smo ročno z brizgo (10 ml), in sicer ob časih 1, 2, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60 in 120 min, če pa smo vzorčili granulate ali obložene tablete, smo v enakih časovnih intervalih vzorce odvezemali še nadaljnji 2 h pri povišani pH vrednosti. Odvzetih vzorcev nismo nadomeščali, ampak smo to računsko upoštevali pri izrisu profila sproščanja. Koncentracijo učinkovine v odvzetih vzorcih smo določili spektrofotometrično z merjenjem absorbanca pri 332 nm in računanjem na osnovi umeritvene premice učinkovine v mediju za raztapljanje. Vse študije raztapljanja smo izvedli v dveh paralelkah.

Z dodatkom površinsko aktivne snovi smo v fosfatnem pufru zagotovili »sink« pogoje in dosegli, da raztapljanje učinkovine ni bilo omejeno s topnostjo. Zagotavljanje »sink« pogojev pomeni, da končna koncentracija učinkovine v mediju za sproščanje ne presega 1/3 nasičene topnosti v tem mediju (52).

Morfologija delcev (SEM)

Morfologijo delcev poroznih nosilcev in izdelanih trdnih disperzij smo preučevali z vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM). Posušene vzorce smo nalepili na dvostranski ogljikov lepilni trak in jih nato vrednotili z vrstičnim elektronskim mikroskopom SEM Supra 35 VP (Carl Zeiss, Nemčija).

Diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC)

Termično analizo učinkovine, vzorcev trdnih disperzij, fizikalnih zmesi in polimera Eudragit L 30 D-55 smo izvedli z diferenčnim dinamičnim kalorimetrom Mettler Toledo Differential Scanning Calorimeter DSC1, opremljenim s programsko opremo STARE Software v9.30. 3–5 mg 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.

Termogravimetrična analiza (TGA)

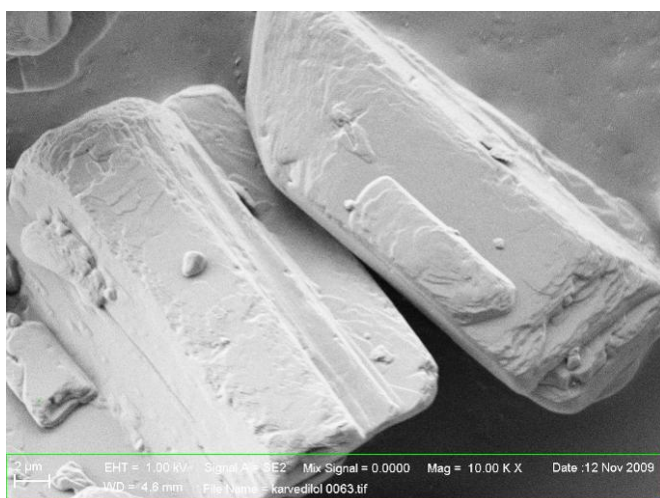
Termogravimetrično analizo trdnih disperzij smo izvedli z aparaturo TGA/DSC1 Mettler Toledo, opremljenim s programsko opremo STARE Software v9.30. Vzorec smo zatehtali v lonček in segrevali od 0 do 1000 °C. Hitrost segrevanja je bila 20 K/min. Meritve so bile izvedene v kisikovi atmosferi. S termogravimetrično analizo smo določali vsebnost učinkovine v TD, ki smo jo izdelali z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine acetona s Sylysio.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

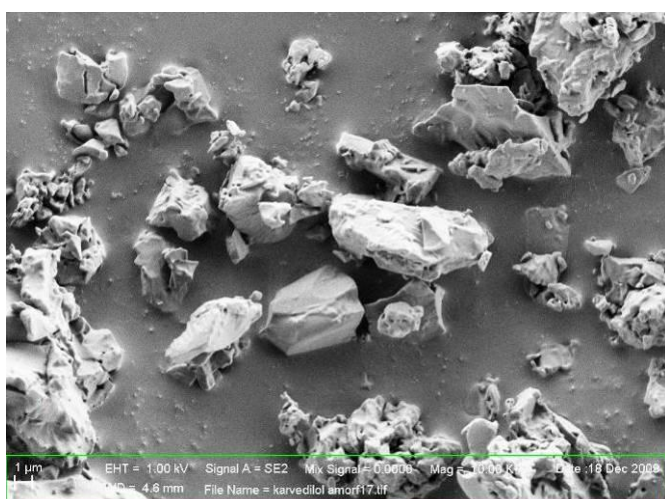
4.1 FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI MODELNE UČINKOVINE

4.1.1 Morfologija delcev

Modelna učinkovina se lahko nahaja v kristalni ali amorfni obliki. Slika 5 prikazuje kristalno obliko učinkovine, posneto z vrstičnim elektronskim mikroskopom, slika 6 pa njeno amorfno obliko.



Slika 5: Elektronsko mikroskopska slika kristalne strukture modelne učinkovine; 10000 X povečava (Vir: Fakulteta za farmacijo).



Slika 6: Elektronsko mikroskopska slika amorfnih delcev modelne učinkovine (Vir: Fakulteta za farmacijo).

4.1.2 Topnost modelne učinkovine

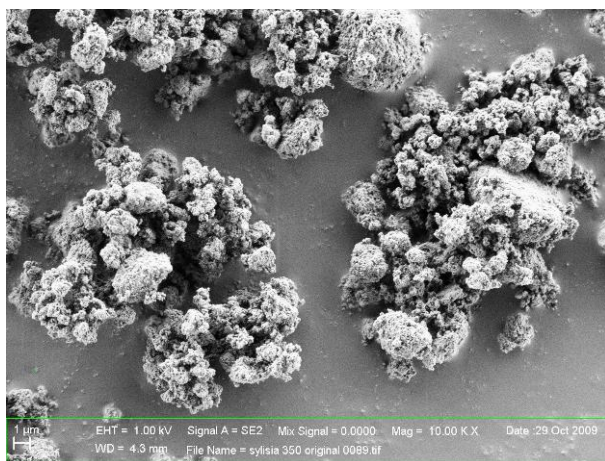
Modelna učinkovina je praktično netopna v vodi, v gastrointestinalnih tekočinah pa izkazuje pH odvisno topnost (51, 53, 54). Njeno topnost smo določali pri treh različnih pH vrednostih, in sicer pri pH 1.2 (0.1 M HCl + 1 g/l SDS), pri pH 6.8 (fosfatni pufer + 1 g/l SDS) in pH 7.2 (fosfatni pufer + 1 g/l SDS). UV spektrofotometrično smo pri valovni dolžini 332 nm določili koncentracijo nasičene, filtrirane in ustrezno redčene raztopine učinkovine v medijih. V fosfatnih medijih je bila učinkovina lepljiva, tvoril se je aglomerat, ki se tudi po 24 h stresanju na stresalniku ni razbil. V pufru s pH 6.8 smo izmerili topnost 60 mg/l, v pufru s pH vrednostjo 7.2 pa 50 mg/l. V mediju s pH 1.2 se je učinkovina dispergirala, izmerjena topnost pa je bila nižja kot v medijih s pH 6.8 in 7.2, in sicer 10 mg/l.

Izmerjeni rezultati topnosti modelne učinkovine pri različnih pH vrednostih so višji kot literaturni podatki, kjer je izmerjena topnost pri pH=7.0 23 mg/l (50). Možna razloga za razlike v topnosti učinkovine pri višjih pH vrednostih sta lahko uporaba drugih medijev, v katerih smo določali topnost, ali pa dodatek površinsko aktivne snovi SDS pufernim raztopinam, ki izboljša raztapljanje.

Topnost pri vrednostih pH od 1 do 4 (v različnih pufernih raztopinah) je omejena s topnostjo protonirane oblike učinkovine, oziroma tvorbe njene soli *in situ*. Na primer učinkovina, ki *in situ* tvori sol s klorovodikovo kislino, je v tem mediju slabše topna (50). To je lahko tudi razlog, da pri nizkem pH nismo mogli določiti intrinzične topnosti učinkovine. Možno je, da se je čista učinkovina v mediju najprej raztopila, nato pa se je zaradi slabše topnosti po tvorbi soli s protiionom znova oborila.

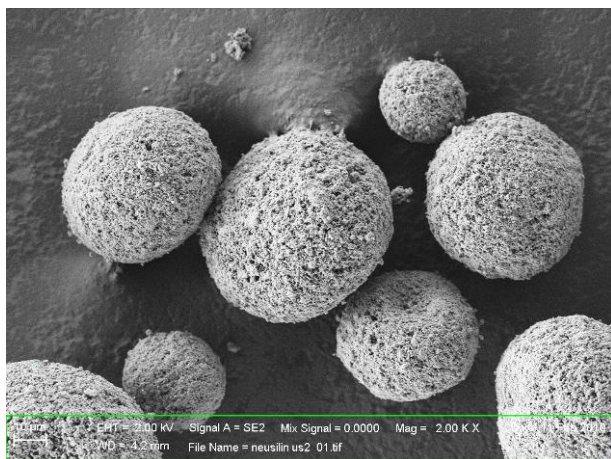
4.2 MORFOLOGIJA POROZNIH NOSILCEV TRDNIH DISPERZIJ

Slika 7 prikazuje hidrofilno Sylysio 350, posneto z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM). Delci so v obliki aglomeratov nepravilnih oblik in velikosti od 3,1 do 20,0 μm .



Slika 7: Elektronsko mikroskopska slika Sylysie 350; povečava 10000 X (Vir: Fakulteta za farmacijo).

Slika 8 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 μm .

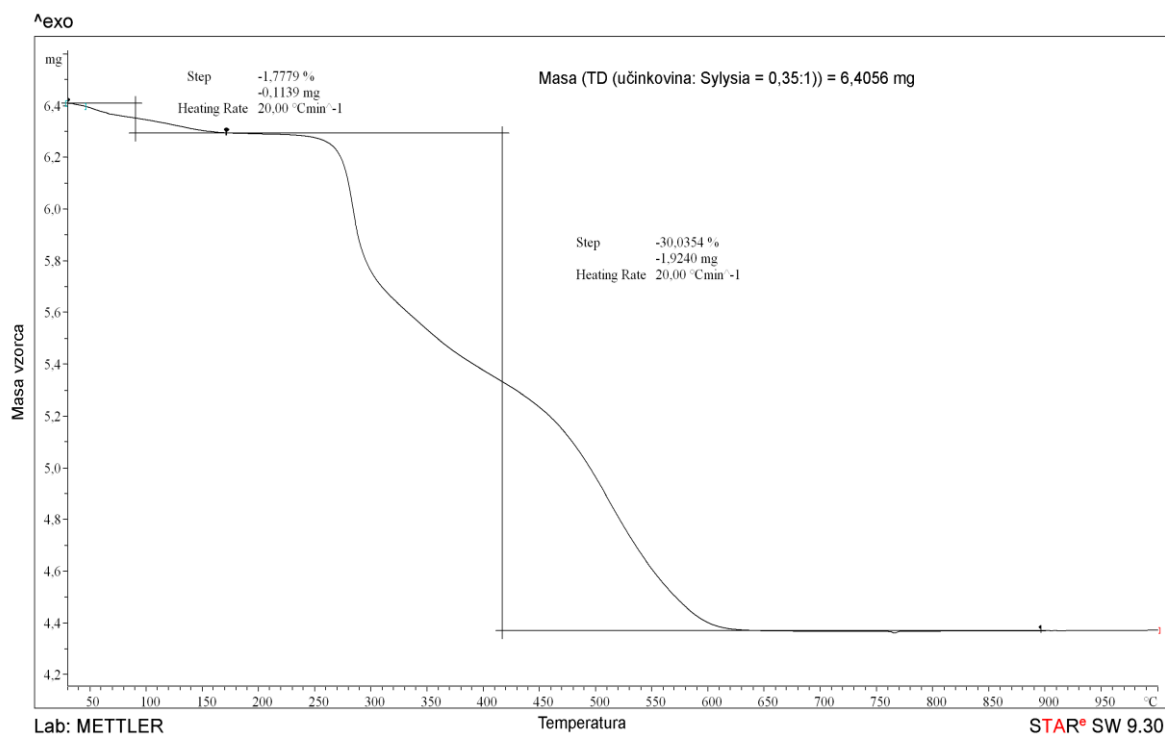


Slika 8: Elektronsko mikroskopska slika Neusilin US2; povečava 2000 X (Vir: Fakulteta za farmacijo).

4.3 IZDELAVA TRDNIH DISPERZIJ

4.3.1 Fizikalno-kemijske lastnosti trdne disperzije izdelane z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine s Sylysio 350

Pri izdelavi TD smo uporabili organsko topilo aceton, v katerem je učinkovina dobro topna. Aceton je tudi zelo hlapen, zato smo ga po končanem postopku lahko odstranili. Kot nosilec smo v tem primeru uporabili hidrofilno Sylysio 350. Izdelali smo raztopino učinkovine v acetonu v dveh koncentracijah, in sicer 30 g/l in 60 g/l. Pri določanju vsebnosti učinkovine v TD smo ugotovili, da se z večanjem koncentracije raztopine, večja tudi vsebnost učinkovine v TD. Pri nadaljnjih poskusih smo uporabili samo TD, ki smo jo izdelali iz raztopine s koncentracijo 60 mg/l. Povprečna vrednost vsebnosti učinkovine, ki smo jo določili UV spektrofotometrično v raztopini metanola je znašala 25,65 %, v 0,1 M HCl pa 24,71 %. Vsebnost smo določili še s termogravimetrično analizo vzorca na TGA, kjer smo dobili nekoliko višjo vrednost, in sicer 30,58 % učinkovine. Masno razmerje učinkovina:Sylysia v TD po vzpostavitvi ravnotežja je bilo 0,35:1.

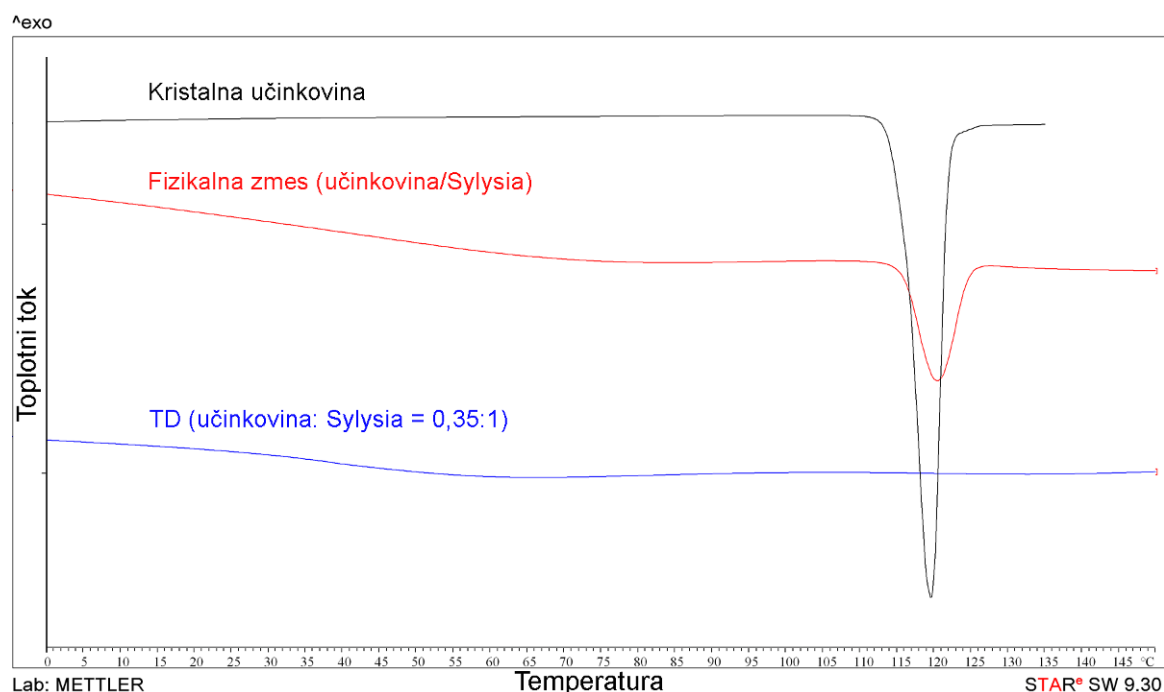


Slika 9: Termogravimetrično merjenje vsebnosti učinkovine v trdni disperziji.

Slika 9 prikazuje termogravimetrično merjenje vsebnosti učinkovine v TD. Vidimo lahko, da so s segrevanjem vzorca do temperature 150 °C odparevala topila, ki so bila prisotna v vzorcu, nato na intervalu od 150 do 300 °C ni bilo sprememb, nad to temperaturo pa je prišlo do razpada učinkovine. Sylysia je ostala nespremenjena. Iz deleža padca mase vzorca (upoštevali smo tudi padec mase zaradi odparevanja topil) smo tako izračunali vsebnost učinkovine v TD. Pri določanju vsebnosti je med obema metodama prišlo do razlik, ki so manjše od 10 % in po našem mnenju sprejemljive. Vzrok v odstopanju vrednosti je tudi vsebnost topil v vzorcih, ki je pri metodi raztapljanja ne poznamo, medtem ko jih pri termogravimetrični analizi izmerimo.

Termična analiza trdne disperzije izdelane z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine s Sylysio 350

Slika 10 prikazuje DSC krivulje TD (učinkovina:Sylysia = 0,35:1), kristalne oblike učinkovine in fizikalne zmesi kristalne oblike učinkovine in Sylysie v ustreznem razmerju.



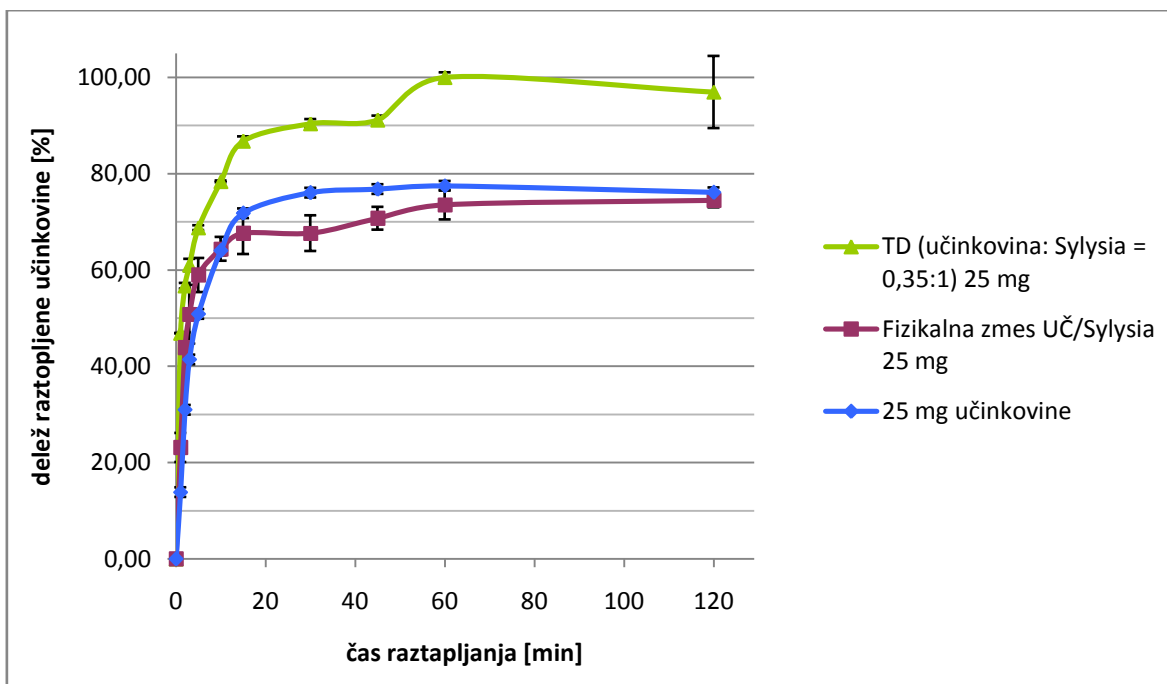
Slika 10: DSC krivulje kristalne učinkovine (črna krivulja), kristalne učinkovine v fizikalni zmesi (rdeča krivulja) in v TD (učinkovina:Sylysia = 0,35:1; modra krivulja).

Učinkovina je bila v fizikalni zmesi prisotna v kristalni obliki, kar se na sliki 10 vidi kot talilni vrh pri temperaturi 120 °C, ki sovпада s talilnim vrhom njene čiste kristalne oblike. Pri krivulji TD pa je talilni vrh odsoten. Opazen je steklasti prehod v območju med 30 in 40 °C, iz česar lahko sklepamo, da je bila vgrajena učinkovina v amorfni obliki.

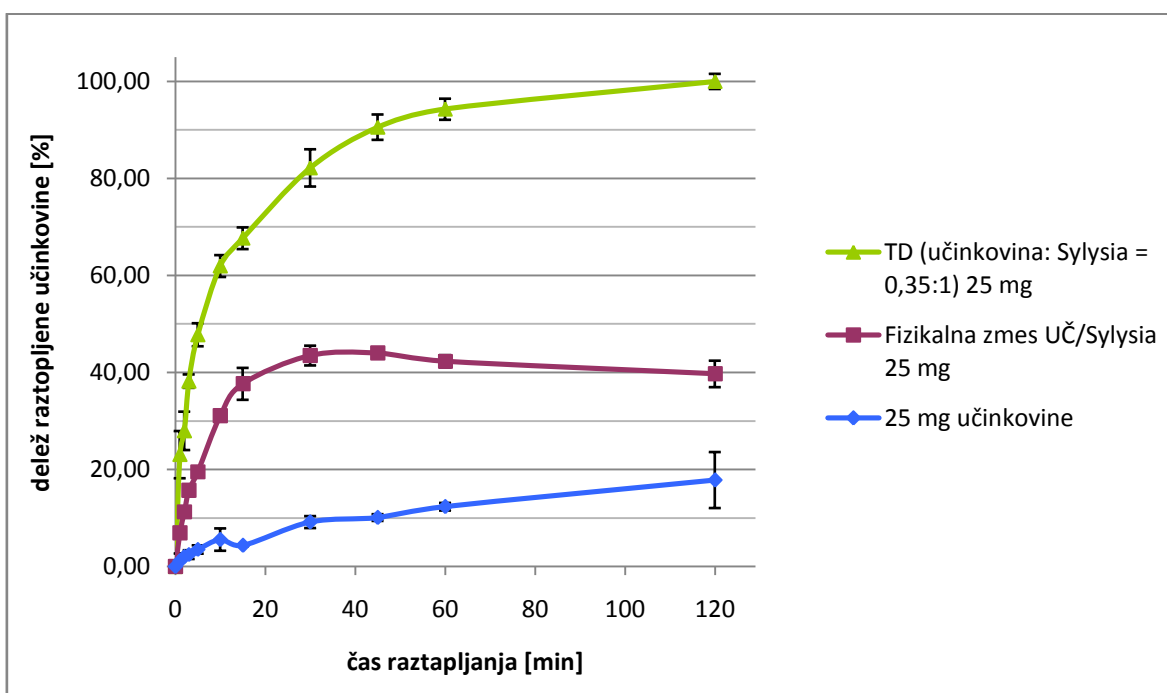
Ponavadi se učinkovine nahajajo v njihovi termodinamsko stabilni kristalni obliki. Pretvorba kristalne oblike v amorfno je lahko ena izmed možnosti izboljšanja topnosti in hitrosti raztapljanja učinkovine, kar omogoča izboljšanje biološke uporabnosti v vodi težko topnih učinkovin. Vendar pa obstaja možnost, da amorfna oblika zaradi mehanskega stresa ali neustreznih pogojev med shranjevanjem (temperatura in vlaga) preide nazaj v kristalno strukturo, zato je med procesom amorfizacije učinkovine potrebna tudi njena stabilizacija. Amorfno obliko lahko stabiliziramo s shranjevanjem učinkovine pri temperaturi, ki je vsaj 50 °C nižja od temperature steklastega prehoda učinkovine, vendar pa je T_g naše modelne učinkovine razmeroma nizka (39 °C), zato to ni mogoče. Kot alternativo lahko za stabilizacijo učinkovine izberemo tudi izdelavo trdnih disperzij z učinkovino in pomožnimi snovmi. S tem omogočimo tvorbo kemijskih in fizikalnih vezi med učinkovino in pomožnimi snovmi ter povečamo njeno stabilnost. V našem primeru je poleg interakcij med učinkovino in površino pomožne snovi možen mehanizem stabilizacije amorfne učinkovine tudi obarjanje v ozkih porah Sylysie (55).

Preskus raztapljanja kristalne učinkovine in učinkovine iz trdne disperzije

Slika 11 in slika 12 prikazujeta raztapljanje 25 mg odmerka učinkovine v kristalni obliki in sproščanje učinkovine iz TD v masnem razmerju učinkovina:Sylysia = 0,35:1 ter raztapljanje učinkovine v fizikalni zmesi s Sylysio v ustreznem razmerju. Raztapljanje smo izvajali v pufrih s pH=1.2 (+1 g/l SDS) in pH=6.8 (+1 g/l SDS).



Slika 11: Raztapljanje 25 mg kristalne oblike učinkovine, 25 mg učinkovine iz TD (učinkovina:Sylysia = 0,35:1) in 25 mg učinkovine iz fizikalne zmesi (UČ/Sylysia) v pufru s pH=1.2 (+1 g/l SDS).



Slika 12: Raztapljanje 25 mg kristalne oblike učinkovine, 25 mg učinkovine iz TD (učinkovina:Sylysia = 0,35:1) in 25 mg učinkovine iz fizikalne zmesi (UČ/Sylysia) v pufru s pH=6.8 (+1 g/l SDS).

Na obeh slikah lahko vidimo, da se je kristalna oblika učinkovine slabše raztapljala, kot učinkovina vgrajena v TD. V mediju s pH 1.2 razlike hitrosti raztapljanja med kristalno učinkovino in vgrajeno učinkovino sicer niso tako velike, kot so v fosfatnem pufru. V kislem se je po 1 h raztapljanja iz TD sprostil celoten 25 mg odmerek učinkovine, medtem ko se kristalna učinkovina ni raztopila popolnoma. Po 30 min je koncentracija čiste učinkovine dosegla plato, vendar se je raztopilo le okoli 80 % odmerka. V tem primeru je bilo tudi raztapljanje fizikalne zmesi podobno raztapljanju same učinkovine, kar je pričakovano, saj je bila učinkovina v fizikalni zmesi ravno tako v kristalni obliki.

Razlike v raztapljanju vzorcev v mediju s pH 6.8 so večje kot v kislem. Raztopilo se je le približno 20 % od 25 mg odmerka kristalne oblike učinkovine. Razlog za to je slabša topnost učinkovine v fosfatnem mediju pri višjih pH vrednostih, kot je v kislem pri nižjih vrednostih pH. Iz TD se je tudi v fosfatnem mediju sprostito 100 % učinkovine, vendar pa je bila hitrost raztapljanja nekoliko počasnejša kot v kislem. Delež raztopljene učinkovine je naraščal vse do 60 min, nekoliko pa tudi še nadaljnjo uro raztapljanja. Iz fizikalne zmesi se je v fosfatu sprostito kar 40 % učinkovine, kar je zanimivo glede na njeno slabo topnost. Možno je, da so se v fizikalni zmesi kristalni delci učinkovine dispergirali med delce porozne Sylysie, ali pa so se celo naložili v pore. S tem se je povečala njihova specifična površina, izboljšala pa se je lahko tudi močljivost delcev in posledično raztapljanje.

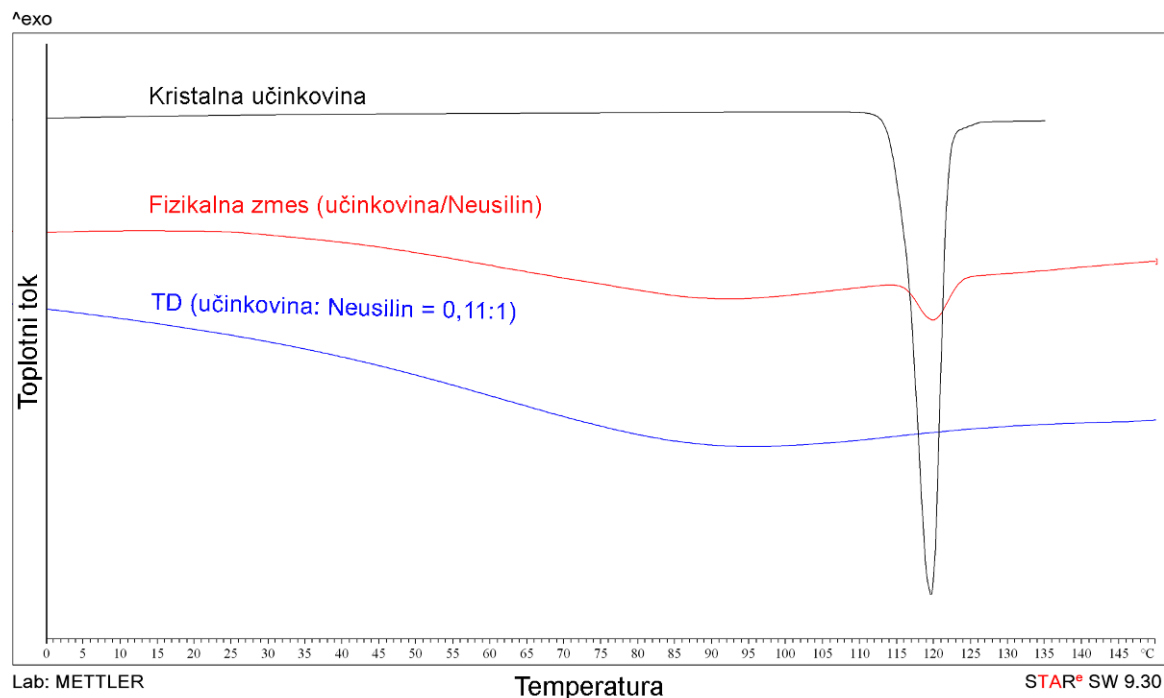
Kristalna oblika modelne učinkovine se sicer v mediju s pH 1.2 in pH 6.8 bolje raztaplja kot sama amorfná učinkovina, čeprav na splošno velja, da so amorfne oblike bolj topne. Razlog za ta pojav je verjetno v tvorbi aglomeratov pri nizki temperaturi steklastega prehoda, ki je skoraj enaka temperaturi medija, v katerem izvajamo preskus raztapljanja. Zaradi podobnih temperatur medija in T_g učinkovine lahko med preskusom pride do slabe disperzibilnosti in lepljivosti delcev (53). To je bilo možno opaziti tudi med preskusom, saj je odmerek učinkovine pogosto kazal zelo slabe lastnosti močljivosti in je kot aglomerat plaval na površini medija.

4.3.2 Fizikalno-kemijske lastnosti trdne disperzije izdelane z vzpostavitvijo ravnotežja iz raztopine z Neusilinom

Neusilin, ki smo ga uporabili pri tej metodi je sicer manj porozen in ima manjši premer por, ima pa večjo specifično površino v primerjavi s Sylysio. Prvič smo izdelali dve paralelki TD, in sicer iz raztopine z acetonom in s THF. Po spiranju odvečne učinkovine s površine TD z dodatno količino topila smo UV spektrofotometrično določili vsebnost učinkovine. Povprečna vrednost je znašala 10 %. Tokrat vsebnosti učinkovine nismo mogli izmeriti s termogravimetrično analizo, saj je med segrevanjem vzorca poleg učinkovine razpadal tudi Neusilin. V tem primeru smo TD izdelali iz raztopine s koncentracijo učinkovine 60 g/l. Masno razmerje učinkovina:Neusilin v TD po vzpostavitvi ravnotežja je bilo 0,11:1.

Termična analiza trdne disperzije izdelane z vzpostavitvijo ravnotežja

Slika 13 prikazuje DSC krivulje TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1; iz raztopine s THF), kristalne oblike učinkovine in fizikalne zmesi kristalne oblike učinkovine in Neusilina v ustreznem razmerju.

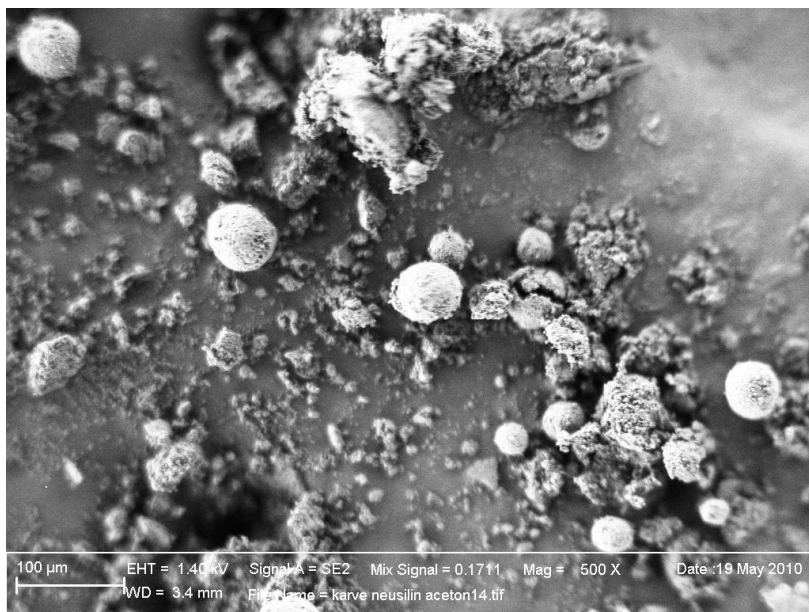


Slika 13: DSC krivulje kristalne učinkovine (črna krivulja), kristalne učinkovine v fizikalni zmesi (rdeča krivulja) in v TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1; modra krivulja).

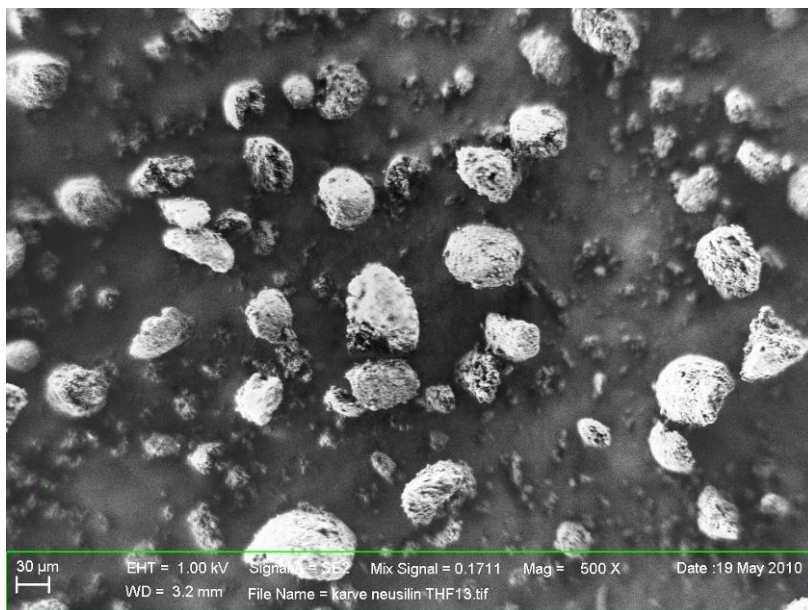
Tudi tukaj je na DSC krivulji fizikalne zmesi prisoten talilni vrh učinkovine pri $T=120\text{ }^{\circ}\text{C}$, ki sovpada s talilnim vrhom čiste kristalne oblike. Pri TD je le ta zopet odsoten, kar potrjuje prisotnost učinkovine v amorfni obliki.

Morfologija delcev trdne disperzije

Z opazovanjem TD z vrstičnim elektronskim mikroskopom smo ugotovili, da so bili delci neenakomerne velikosti, razdrobljeni, nekateri pa so bili tudi presekani na pol. Sklepali smo, da je delce poškodoval magnet med mešanjem raztopine na magnetnem mešalu, zato smo ponovno izdelali še TD z enako sestavo (tokrat samo iz raztopine s THF), le da smo jo mešali na stresalniku. Tokrat smo uporabili presejan Neusilin skozi sito z velikostjo por $0,45\text{ }\mu\text{m}$ in s tem poenotili velikost delcev ter odstranili razdrobljene. Sliki 14 in 15 prikazujeta obe TD, ki smo ju izdelali na magnetnem mešalu, na sliki 16 pa je TD izdelana na stresalniku. Na zadnji sliki vidimo, da so prisotni le večji delci Neusilina, ki so napolnjeni z učinkovino. Vmes tudi ni več razdrobljenih in presekanih delcev. TD smo spirali z dodatno količino topila THF ter tako odstranili odvečno učinkovino s površine delcev. Povprečna vsebnost učinkovine po vzpostavitvi ravnotežja je bila tudi v tem primeru 10 %.



Slika 14: Elektronsko mikroskopska slika TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1 iz raztopine z acetonom) izdelane na magnetnem mešalu; povečava 500 X.



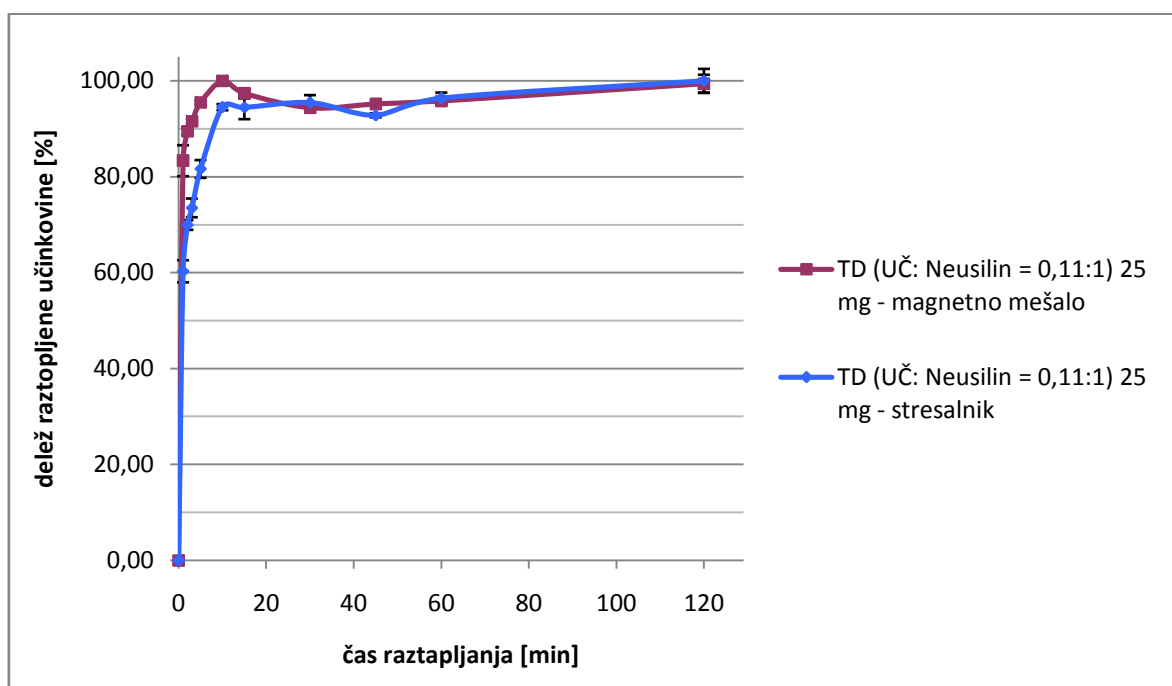
Slika 15: Elektronsko mikroskopska slika TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1 iz raztopine s THF) izdelane na magnetnem mešalu; povečava 500 X.



Slika 16: Elektronsko mikroskopska slika TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1 iz raztopine s THF) izdelane na stresalniku; povečava 500 X.

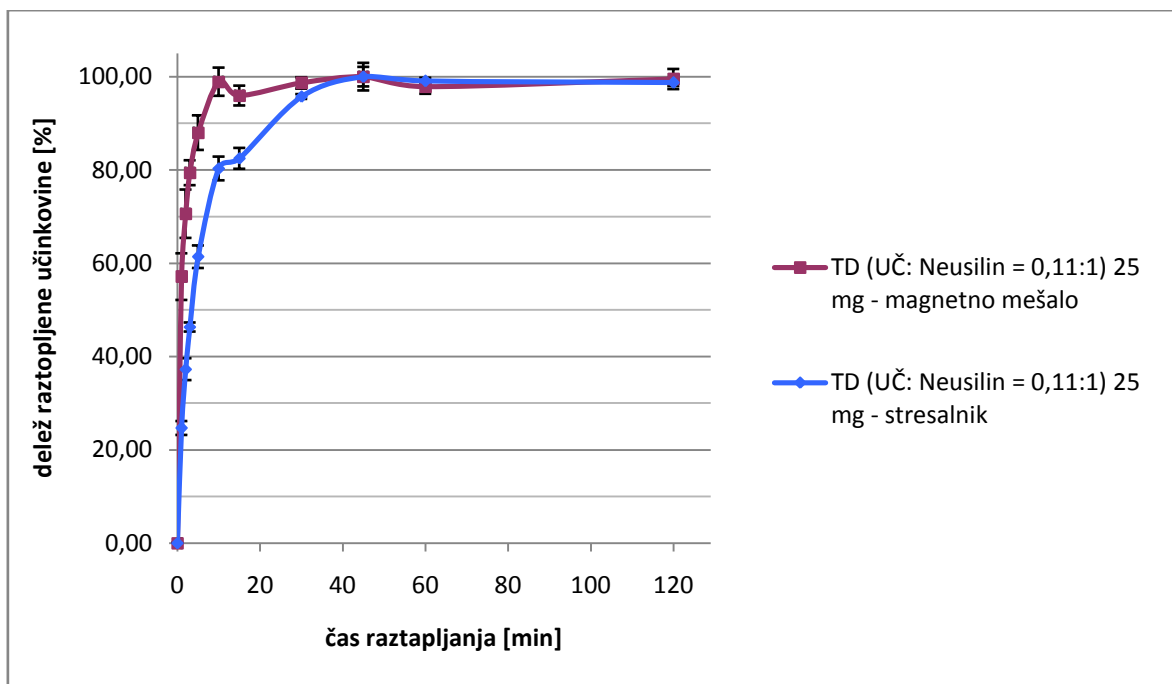
Preskus raztapljanja učinkovine iz TD izdelanih na magnetnem mešalu in stresalniku iz raztopine s THF

Glede na posnete SEM slike smo se odločili, da bomo za nadaljnje preskuse uporabili samo TD izdelane iz raztopine s THF. Naredili smo preskus raztapljanja obeh TD (izdelanih na magnetnem mešalu in na stresalniku) v mediju s pH 1.2 (Slika 17) in v fosfatu s pH 6.8 (Slika 18) ter primerjali sproščanje učinkovine iz obeh.



Slika 17: Raztapljanje 25 mg učinkovine iz TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1) izdelane na magnetnem mešalu in iz TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1) izdelane na stresalniku v pufru s pH=1.2 (+1 g/l SDS).

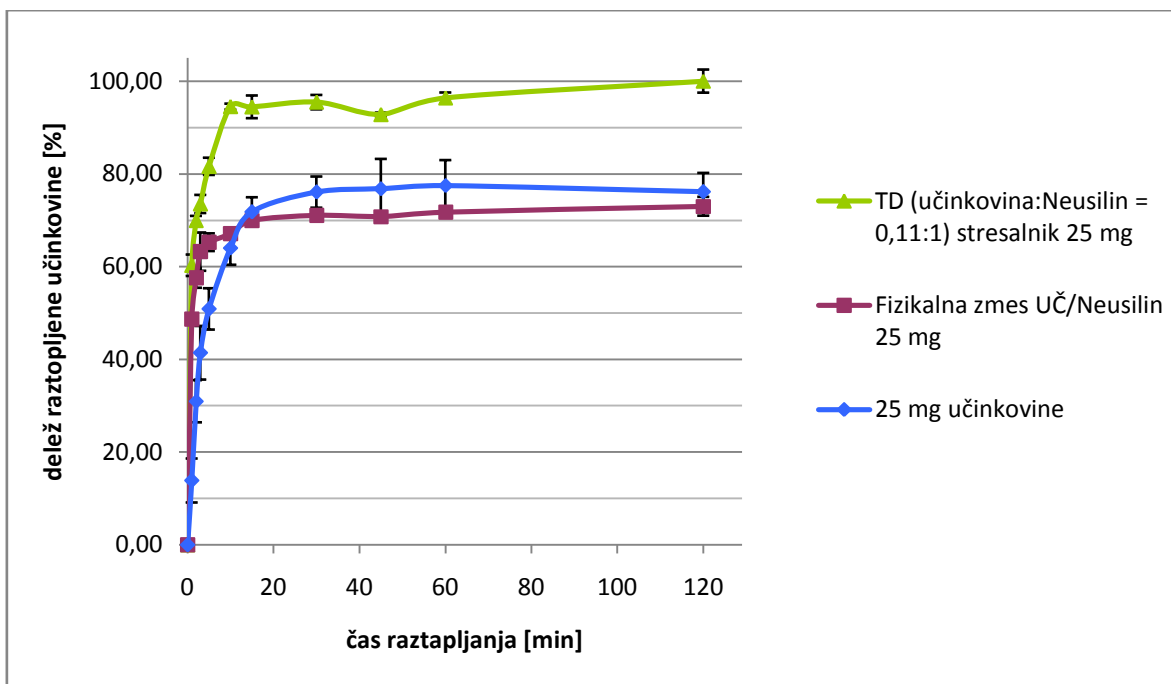
S slik je razvidno, da se je iz obeh TD sprostil celoten 25 mg odmerek učinkovine. Hitrost raztapljanja je bila nekoliko večja pri TD izdelani na magnetnem mešalu, saj se je v 1 min sprostilo preko 80 %, v 15 min pa celoten odmerek učinkovine. Pri drugi TD je bila hitrost raztapljanja v prvih 10 min nekoliko počasnejša, vendar se je do 15 min tudi sprostilo okoli 95 % učinkovine. Popolnoma se je učinkovina sprostila šele v zadnji uri. Nekoliko hitrejša raztapljanja pri prvi TD je verjetno posledica razbitja delcev Neusilina iz katerih se je učinkovina hitreje raztapljala.



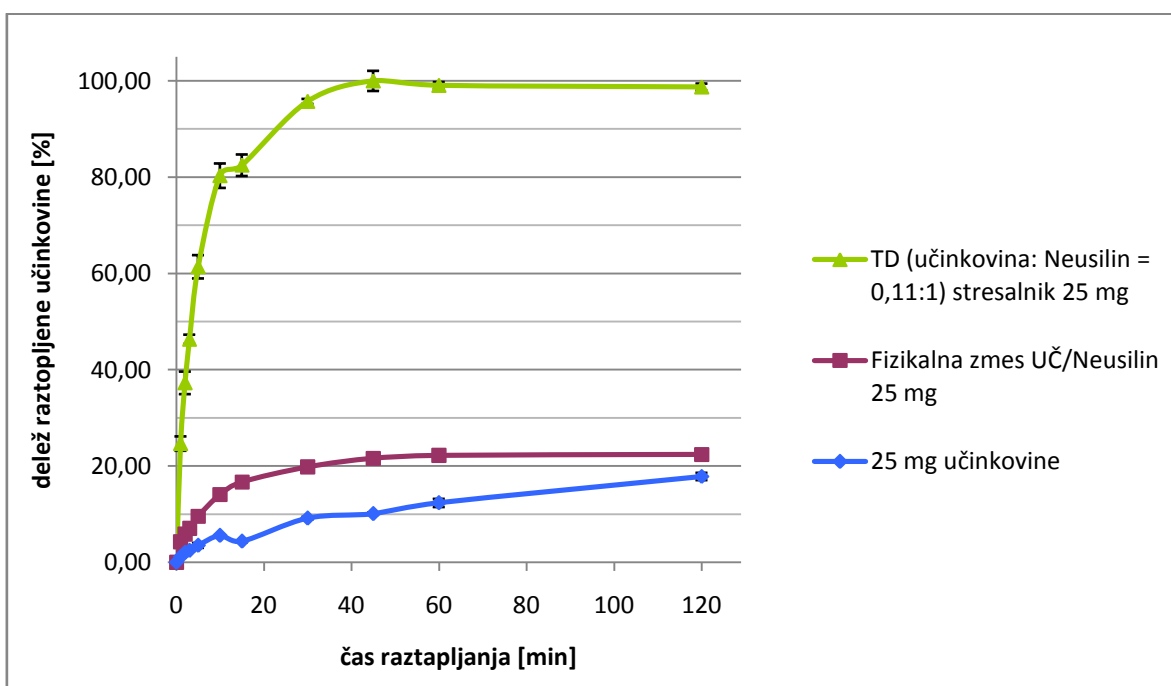
Slika 18: Raztapljanje 25 mg učinkovine iz TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1) izdelane na magnetnem mešalu in iz TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1) izdelane na stresalniku v pufru s pH=6.8 (+1 g/l SDS).

Pri pH 6.8 so razlike v hitrosti raztapljanja med vzorcema bolj opazne. Iz TD izdelane na magnetnem mešalu se je v 1 min sprostilo skoraj 60 % učinkovine, v 10 min pa se je sprostil celoten odmerek. Pri drugi TD pa se je učinkovina raztapljala počasneje in dosegla plato šele po 45 min raztapljanja. V primerjavi s kislim medijem s pH 1.2 se je učinkovina počasneje raztapljala v fosfatnem s pH 6.8 (posledica slabše topnosti). Vendar pa se je v obeh primerih učinkovina raztapljala boljše kot v primeru TD, ki smo jo izdelali s Sylysio, kar je lahko posledica večje specifične površine por v Neusilinu.

Zaradi nadaljnjega namena izdelave granulata z zadržanim in/ali dvopulznim sproščanjem, kjer bi razdrobljeni delci lahko vplivali na sproščanje učinkovine, smo nadalje TD (UČ:Neusilin) izdelovali samo z mešanjem raztopine na stresalniku. Tudi v tem primeru smo naredili primerjavo med raztapljanjem 25 mg kristalne učinkovine, 25 mg odmerkom fizikalne zmesi učinkovina/Neusilin in 25 mg odmerkom iz TD v pH 1.2 (Slika 19) in pH 6.8 (Slika 20). Ponovno lahko opazimo izboljšanje raztapljanja modelne učinkovine iz TD v kislem in fosfatnem mediju v primerjavi s samo učinkovino in fizikalno zmesjo.



Slika 19: Raztapljanje 25 mg kristalne učinkovine, 25 mg učinkovine iz TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1) in 25 mg učinkovine iz fizikalne zmesi (UČ/Neusilin) v pufru s pH=1.2 (+1 g/l SDS).

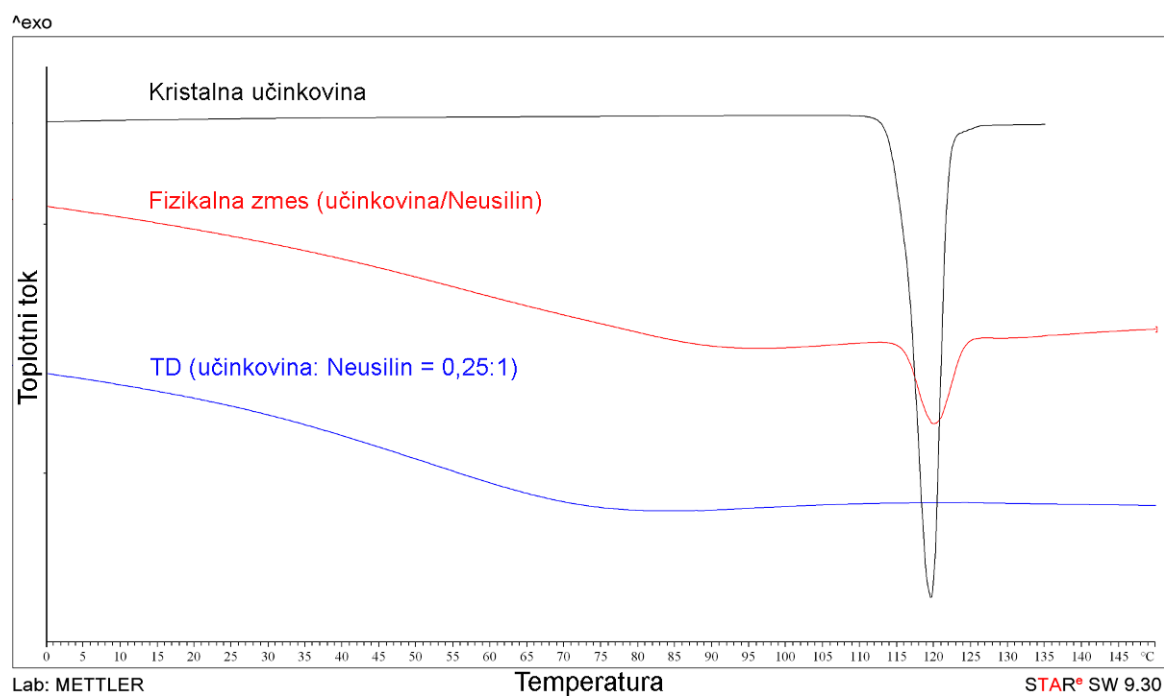


Slika 20: Raztapljanje 25 mg kristalne učinkovine, 25 mg učinkovine iz TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1) in 25 mg učinkovine iz fizikalne zmesi (UČ/Neusilin) v pufru s pH=6.8 (+1 g/l SDS).

4.3.3 Fizikalno-kemijske lastnosti trdne disperzije učinkovine in Neusilina izdelane z metodo odparevanja topila pri znižanem tlaku

Termična analiza trdne disperzije izdelane z odparevanjem topila

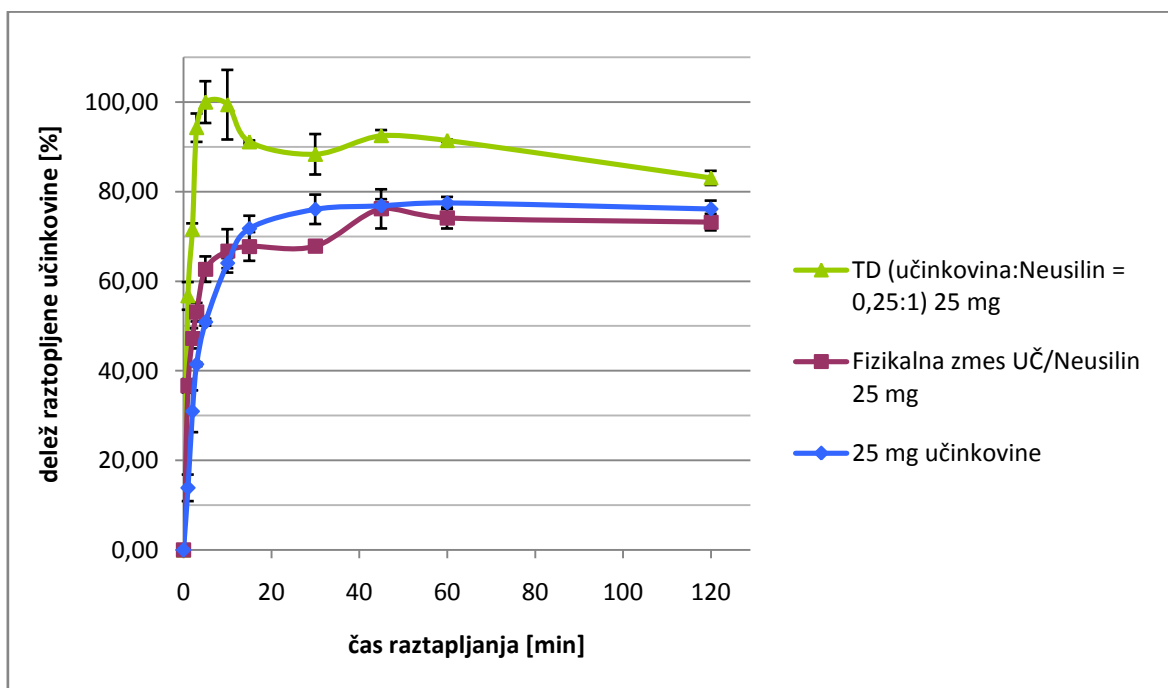
Slika 21 prikazuje DSC krivulje kristalne učinkovine in fizikalne zmesi kristalne oblike učinkovine in Neusilina v ustreznem razmerju ter TD (učinkovina:Neusilin = 0,25:1). Ponovno smo sklepali, da je bila v TD vgrajena učinkovina v amorfni obliki, saj je bil talilni vrh pri tem vzorcu odsoten. V tem primeru smo uporabili 20 g/l raztopino učinkovine v THF. UV spektrofotometrično določena vsebnost učinkovine je bila 20 %. Masno razmerje učinkovina: Neusilin v TD je bilo v tem primeru 0,25:1.



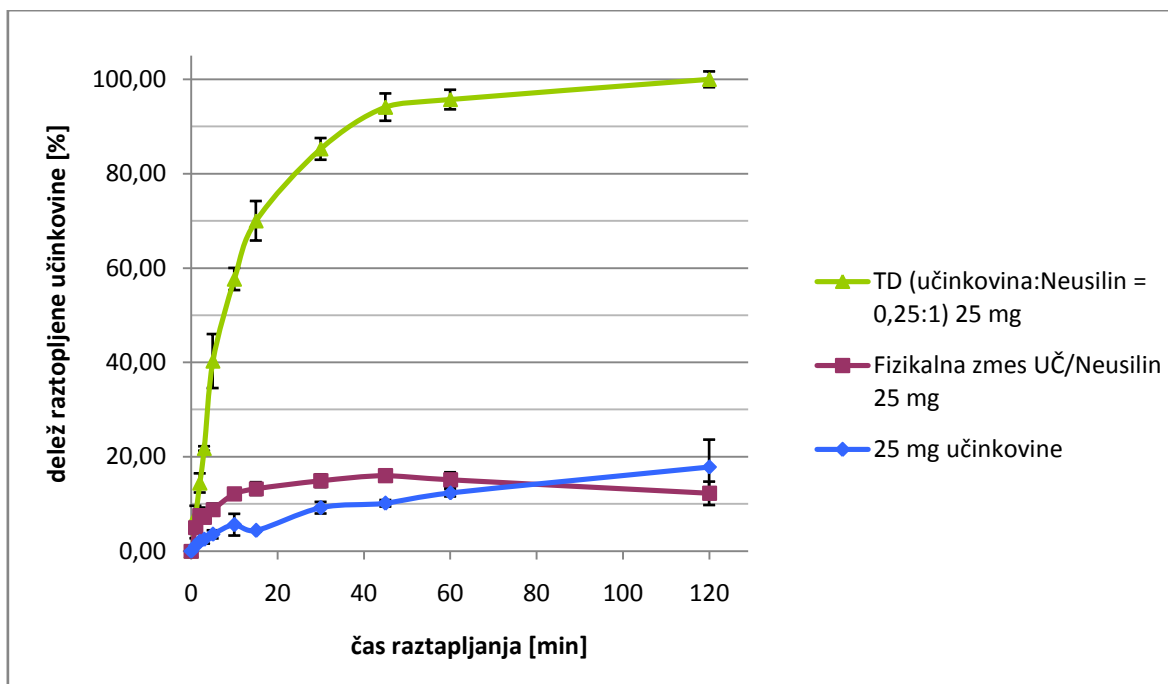
Slika 21: DSC krivulje kristalne učinkovine (črna krivulja), učinkovine v fizikalni zmesi (rdeča krivulja) in v TD (učinkovina:Neusilin = 0,25:1; modra krivulja).

Preskus raztapljanja kristalne učinkovine in učinkovine iz trdne disperzije

Primerjali smo hitrost raztapljanja učinkovine iz TD, njene kristalne oblike in ustrezne fizikalne zmesi v pH 1.2 (Slika 22) in v mediju s pH 6.8 (Slika 23). Hitrost raztapljanja iz TD je bila ponovno bistveno izboljšana, kar je razvidno iz same primerjave s fizikalno zmesjo in učinkovino. Hitrost raztapljanja je bila veliko počasnejša v mediju s pH 6.8, kjer je koncentracija učinkovine naraščala vse do konca raztapljanja. V kislem je po hitrem dosegu platoja v 5 min začela koncentracija učinkovine ponovno padati. Možen vzrok bi bil lahko v tvorbi aglomeratov, ki nastanejo zaradi lepljivosti amorfne oblike učinkovine v mediju za raztapljanje s temperaturo 37 ± 0.5 °C (53) in kristalizacija učinkovine iz prenasičene raztopine.



Slika 22: Raztapljanje 25 mg kristalne učinkovine, 25 mg učinkovine iz TD (učinkovina:Neusilin = 0,25:1) in 25 mg učinkovine iz fizikalne zmesi (UČ/Neusilin) v pufri s pH=1.2 (+1 g/l SDS).



Slika 23: Raztapljanje 25 mg učinkovine, 25 mg učinkovine iz TD (učinkovina:Neusilin = 0,25:1) in 25 mg učinkovine iz fizikalne zmesi (UČ/Neusilin) v pufru s pH=6.8 (+1 g/l SDS).

Glede na rezultate testov raztapljanja in termično analizo vseh vzorcev TD, ki smo jih izdelali po obeh metodah, lahko povzamemo, da je bila vgrajena modelna učinkovina prisotna v amorfní obliki. Tako se je izboljšala tudi njena hitrost raztapljanja.

Obe metodi izdelave TD (z vzpostavitvijo ravnotežja in z odparevanjem topila pri znižanem tlaku) imata tako prednosti kot tudi slabosti. V industrijskem merilu ima metoda odparevanja topila prednost pred metodo vzpostavitve ravnotežja, saj odparevanje topila med samim postopkom preprečuje izgubo učinkovine (54), posledično uporabimo manjše količine in tudi sam postopek je krajši. TD z vzpostavitvijo ravnotežja pa izkazujejo boljše rezultate glede hitrosti raztapljanja učinkovine (54). Razlogi za razlike v raztapljanju učinkovine iz disperzij sta najverjetneje predvsem enakomerna porazdelitev učinkovine po površini pomožne snovi in manj oborjenih delcev pri metodi vzpostavitve ravnotežja glede na metodo odparevanja topila.

4.4 GRANULIRANJE TRDNIH DISPERZIJ

Z granuliranjem TD z gastrozistentnimi polimeri smo želeli doseči hitro sprostitve učinkovine v dveh pulzih, kjer bi se prva polovica odmerka sprostila takoj v kislem pH z vrednostjo 1.2, druga polovica pa zakasnjeno pri pH vrednosti 6.8 ali 7.2. Za granuliranje smo izbrali TD, ki smo jih izdelali z metodo vzpostavitve ravnotežja. TD izdelane s to metodo smo izbrali glede na predhodno opravljene študije modelne učinkovine, ki kažejo na boljše in hitrejše raztapljanje učinkovine v primerjavi s TD, ki so izdelane s postopkom odparevanja topila. Hitro sprostitve učinkovine iz TD lahko pojasnimo s hitro desorpcijo učinkovine s površine Sylysie ali drugih poroznih nosilcev. Predhodne raziskave so pokazale, da je pri metodi izdelave TD z vzpostavitvijo ravnotežja pri raztapljanju učinkovine na voljo večja specifična površina in izboljšano močenje delcev. Izboljšanje raztapljanja je povezano tudi z manjšim stičnim kotom in krajšim časom prodiranja medija za raztapljanje v delce TD. Pri vzpostavitvi ravnotežja se v TD velika količina učinkovine relativno homogeno razporedi v tankem sloju, zato za prekinitev vezi med temi molekulami učinkovine delo ni potrebno. Tako se navidezna topnost učinkovine poveča v primerjavi s samo kristalno obliko učinkovine (54).

Prvotna ideja raziskovanja je bila izdelava granul, ki bi bile popolnoma gastrozistentne. Tako bi v končni formulaciji uporabili granulirane delce TD, ki bi jih uporabili v formulaciji skupaj z neobloženimi delci TD. To smo poskušali doseči z uporabo različnih koncentracij več različnih gastrozistentnih polimerov. S preskusom zadržanja sproščanja učinkovine v kislem mediju (2 h) smo določali odstotek sproščene učinkovine iz granulata. Ugotovili smo, da granulati v nobenem primeru niso zadostili kriterijem, saj se je v vseh primerih vedno sprostilo preveč učinkovine. Pogoji za gastrozistentnost namreč dovoljuje, da se v kislem mediju skozi gastrozistentno oblogo lahko sprosti največ 10 % celotnega odmerka po 2 do 3 h raztapljanja v kislem (Ph. Eur. 6th Ed.).

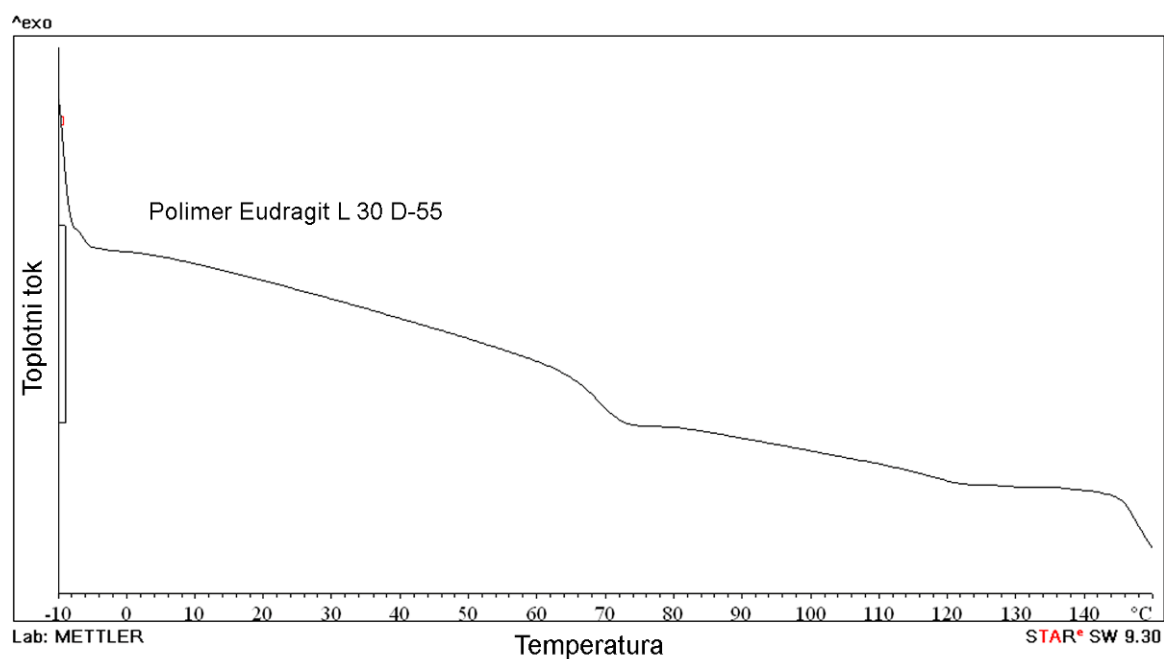
Rezultati preskusa so zbrani v preglednici IV, kjer so navedene disperzije polimerov v topilu, delež dodanega polimera (suha masa polimera/masa granulata) in delež sproščene učinkovine v kislem.

Preglednica IV: Preskus zadržanja sproščanja učinkovine iz TD, granuliranih z gastrozistentnimi polimeri v mediju s pH=1.2 (+ 1 g/l SDS).

TRDNA DISPERZIJA	POLIMERNA DISPERZIJA	DELEŽ POLIMERA	% SPROŠČENE UČINKOVINE V KISLEM
Učinkovina: Sylysia = 0,35:1	30 % vodna disperzija Eudragit L 30 D-55	64,3 %	45,3 %
		68,7 %	43,1 %
		73,0 %	55,9 %
	10 % Eudragit L 100-55 v 10 % vodni raztopini NaOH	18,7 %	95,7 %
	20 % Eudragit L 100-55 v 10 % vodni raztopini NaOH	34,6 %	81,1 %
	30 % Eudragit L 100-55 v 10 % vodni raztopini NaOH	47,4 %	97,7 %
	10 % Aqoat AS-MF v 10 % vodni raztopini NaOH	23,1 %	93,1 %
	20 % Aqoat AS-MF v 10 % vodni raztopini NaOH	38,3 %	93,2 %
	30 % Aqoat AS-MF v 10 % vodni raztopini NaOH	59,0 %	91,7 %
	10 % Aqoat AS-MF v kloroformu	37,5 %	71,8 %
	7 % Aqoat AS-MF v vodi+ 28 % TEC	17,4 %	63,7 %
	7 % Aqoat AS-MF v kloroformu+ 28 % TEC	29,6 %	70,1 %
	10 % Aqoat AS-MF v kloroformu+ 28 % TEC	37,5 %	90,7 %
Učinkovina: Neusilin = 0,11:1	30 % vodna disperzija Eudragit L 30 D-55	60,0 %	60,2 %
		62,3 %	64,9 %
		69,3 %	41,2 %
		71,8 %	34,4 %

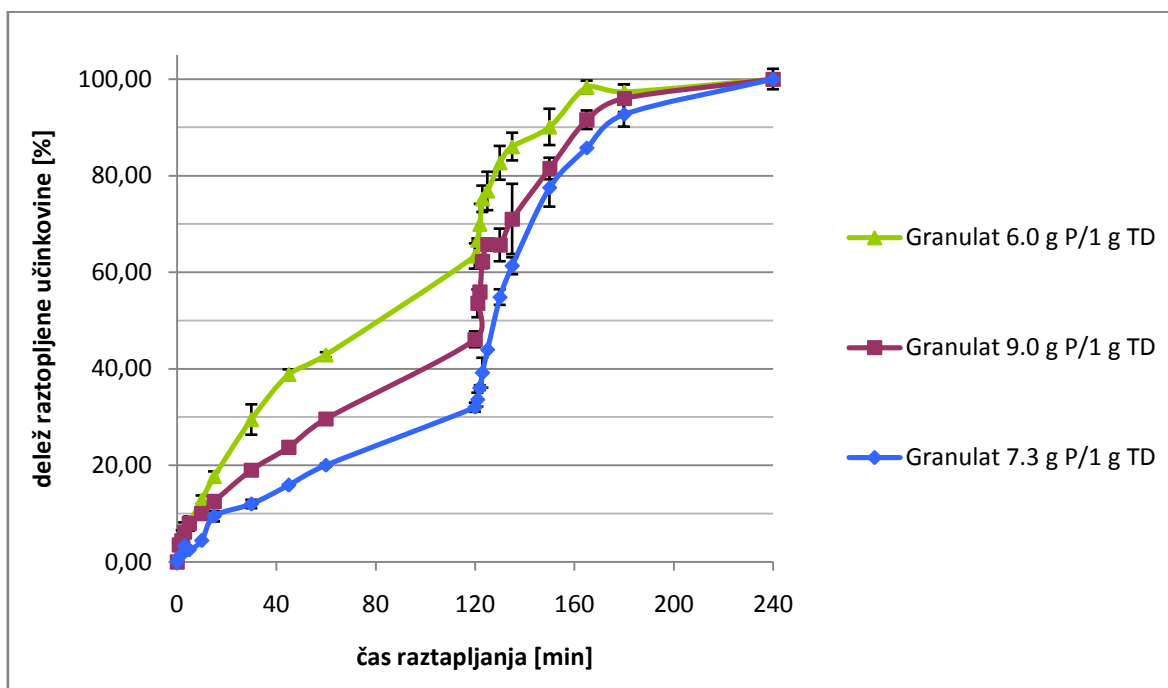
Rezultate iz preglednice IV smo zaradi neustreznosti gastrozistence nadalje uporabili za preverjanje sproščanja učinkovine v dveh pulzih. Tiste, ki so kazali obetavne rezultate, smo nato preskusili še s testom raztapljanja 2 h v kislem in nato še nadaljnji 2 h v mediju s pH 6.8. Kot obetavna se je izkazala le polimerna disperzija Eudragit L 30 D-55.

S termično analizo smo ugotovili, da ima polimer Eudragit L 30 D-55 steklasti prehod pri temperaturi približno 70 °C, kar je vidno na DSC krivulji na sliki 24, kjer prehaja iz krhkega steklastega stanja v zmečano plastično stanje. Vse granulate, pri katerih smo za granuliranje uporabili ta polimer, smo sušili pri tej temperaturi, saj smo želeli izdelavo kohezivnega filma, ki bi enakomerno in ponovljivo zadržal sproščanje določenega deleža učinkovine v kislem mediju.



Slika 24: DSC krivulja gastrozistentnega polimera Eudragit L 30 D-55.

4.4.1 Sproščanje učinkovine iz granulirane TD (učinkovina: Sylysia = 0,35:1) s polimerom Eudragit L 30 D-55 (2 x 12,5 mg odmerki)

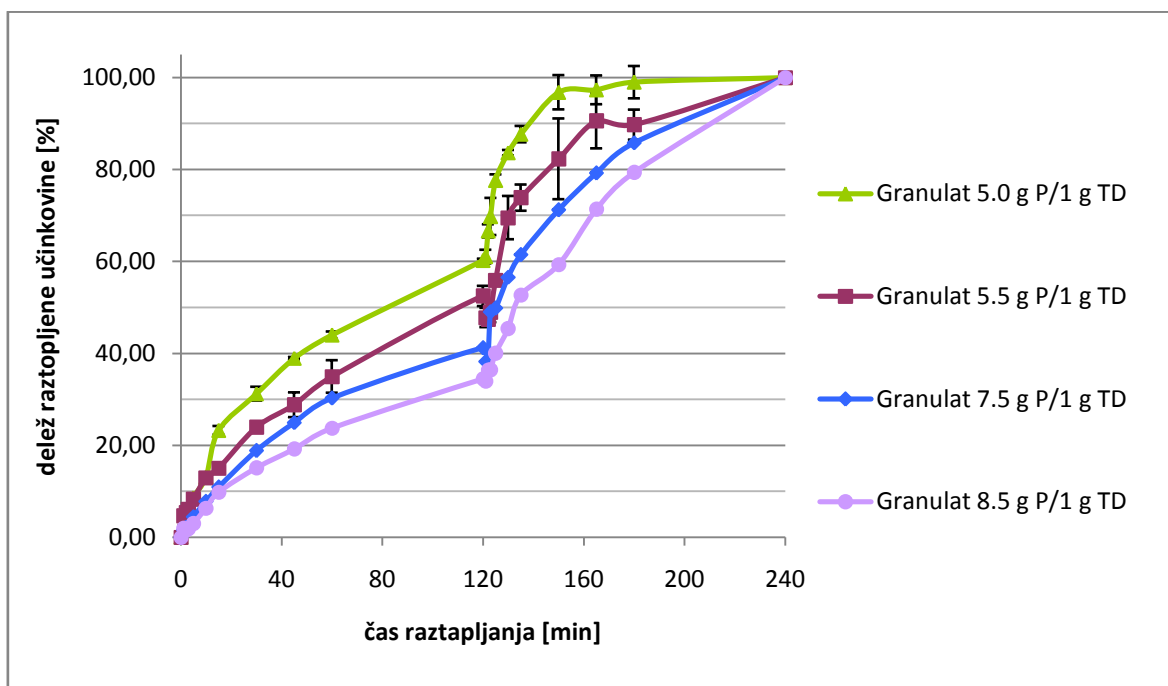


Slika 25: Sproščanje učinkovine iz granulata z dvojnimi odmerki (2 x 12,5 mg) 2 h pri pH=1.2 (+ 1 g/l SDS) ter nadaljnji 2 h pri pH=6.8 (+ 1 g/l SDS).

Pri granuliranju TD (učinkovina/Sylysia) smo uporabili tri različne koncentracije polimera Eudragit L 30 D-55. Na sliki 25 vidimo, da se je iz vseh treh granulotov učinkovina sprostila v dveh pulzih. Opazimo, da se je iz granulata s 6 g polimera v prvih 2 h v kislem mediju sprostilo približno 60 % učinkovine, pri pH 6.8 pa še preostalih 40 %. Tako kot iz same TD se je tudi tukaj sprostil celoten odmerek, kar kaže na izboljšanje topnosti in hitrosti raztapljanja učinkovine. Pričakovali smo sicer, da se bo učinkovina glede na rezultate raztapljanja TD v kislem mediju zelo hitro sprostila iz granulata, vendar je njena koncentracija pri vseh treh granulatih naraščala vse do konca 2 h raztapljanja. Razlog počasnejšega sproščanja bi lahko bil v granuliranju TD z gastrozistentnim polimerom, ki se raztaplja šele nad pH 5.5 in je tako upočasnil tudi sproščanje učinkovine v kislem mediju. Zanimivo je, da koncentracija učinkovine v kislem ne pada z večanjem koncentracije polimera, ampak je pri 9 g večja (okoli 45 %) kot pri uporabi 7,3 g polimera, kjer se je v kislem sprostilo 30 % učinkovine. Rezultat je najverjetneje posledica različne izdelave teh dveh granulotov. Granulat z 9 g polimera smo pripravili tako, da smo najprej

dodali določeno količino polimera, nato pa smo zmes malo posušili, delce zdrobili in ponovno dodali polimer. 9 g namreč nismo mogli dodati naenkrat, saj je bila granulirana zmes preveč omočena, da bi jo lahko potiskali skozi sito. Tako je možno, da smo ob ponovnem potiskanju delcev skozi sito in sušenju preveč razdrobili granulat in se je zato sprostilo nekoliko več učinkovine kot pri 7,3 g polimera. V fosfatnem mediju je bilo raztapljanje pri vseh treh vzorcih boljše kot v kislem, a je učinkovina dosegla plato le pri sproščanju iz granulata s 6 g polimera, vendar šele po 45 min raztapljanja. Pri ostalih dveh granulatih se je pri pH 6.8 sprostil celoten odmerek, vendar je koncentracija učinkovine naraščala do konca 2 h sproščanja. Če primerjamo raztapljanje učinkovine iz negranulirane in granulirane TD v fosfatnem mediju, lahko opazimo, da se je iz obeh raztapljala s podobno hitrostjo.

4.4.2 Sproščanje učinkovine iz granulirane TD (učinkovina:Neusilin = 0,11:1) s polimerom Eudragit L 30 D-55 (2 x 25 mg odmerkek)

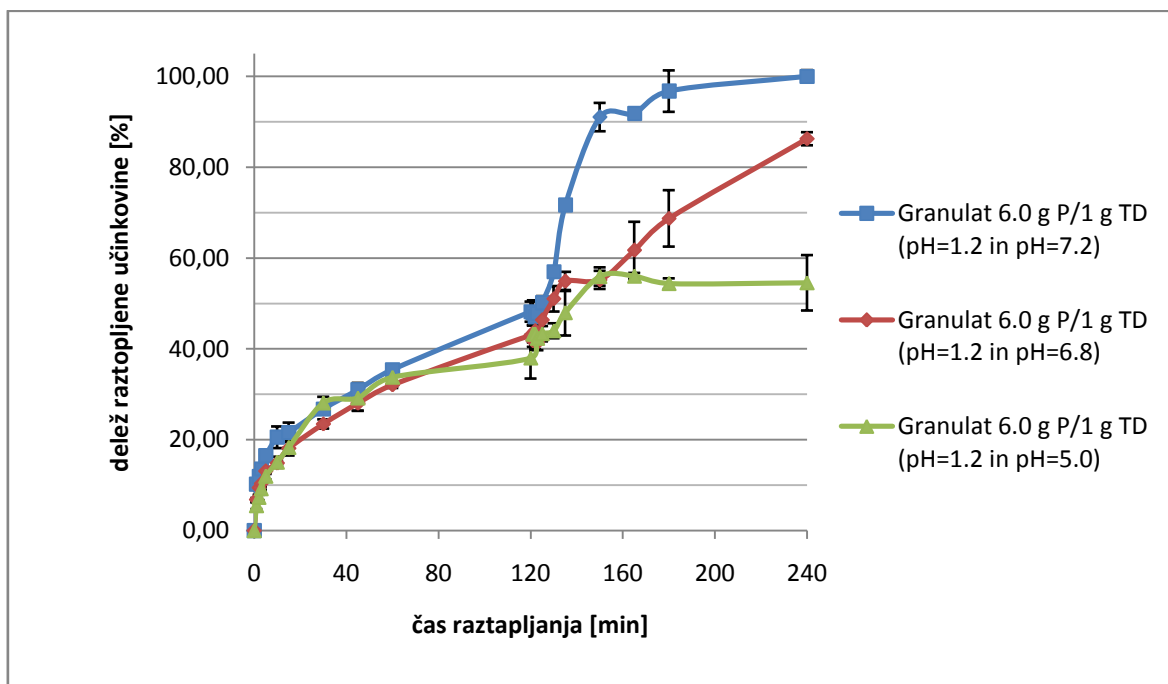


Slika 26: Sproščanje učinkovine iz granulata z dvojnimi odmerki (2 x 25 mg) 2 h pri pH=1.2 (+ 1 g/l SDS) ter nadaljnji 2 h pri pH=6.8 (+ 1 g/l SDS).

Na sliki 26 opazimo podobne lastnosti raztapljanja granularne TD (učinkovina:Neusilin) kot pri granularni TD (učinkovina:Sylsya). Pri vseh petih granulatih lahko vidimo, da se je učinkovina sprostila v dveh pulzih. V kislem se je učinkovina zopet počasneje raztapljala iz granularne TD (Slika 26) kot iz same negranularne TD (Slika 19). Pri pH 6.8 pa se je najbolje sproščala učinkovina iz prvega granulata (s 5.0 g polimera), kjer se je v prvih 30 min po naalkaljenju pufra v celoti sprostil drugi del odmerka.

Na slikah 25 in 26 vidimo, da lahko z uravnavanjem količine polimera uravnavamo tudi delež sproščene učinkovine. V primeru uporabe Neusilina kot nosilca TD smo želeni profil sproščanja dosegli z uporabo 5.5 g polimera / na maso TD. Po 2 h se je v kislem sprostilo okoli 50 % odmerka (25 mg učinkovine), nato pa se je v mediju s pH 6.8 sprostilo še preostalih 25 mg odmerka. Podobno raztapljanje opazimo tudi pri ostalih granulatih, le da so se v kislem sprostili različni deleži odmerka. Z naraščanjem koncentracije polimera se je pričakovano manjšal delež sproščene učinkovine.

4.4.3 Sproščanje učinkovine iz TD (učinkovina: Sylysia = 0,35:1), granulirane s polimerom Eudragit FS 30 D (2 x 12,5 mg odmerek)



Slika 27: Sproščanje učinkovine iz granulata z dvojnimi odmerki (2 x 12,5 mg) 2 h pri pH=1.2 (+ 1 g/l SDS) ter nadaljnji 2 h pri pH=5.0 (+ 1 g/l SDS), pri pH=6.8 (+ 1 g/l SDS) ter pri pH=7.2 (+ 1 g/l SDS).

Glede na to, da je pulzno sproščanje ena izmed možnosti ciljne dostave učinkovin v kolon, smo TD (učinkovina: Sylysia = 0,35:1) granulirali še s polimerom Eudragit FS 30 D, ki ga pogosto uporabljajo v tovrstne namene. Polimer se raztaplja pri pH vrednostih nad 7,0, zato smo za raztapljanje granulata poleg kislega medija s pH 1,2 uporabili še medije s pH=5,0, pH=6,8 in pH=7,2 (Slika 27). Glede na topnost polimera smo pričakovali, da se bo pri pH 1,2 učinkovina sproščala podobno kot pri prejšnjih primerih, torej okoli 50 % vgrajene učinkovine, pri pH 5,0 in pH 6,8 pa smo pričakovali, da se bo preostanek odmerka (12,5 mg) zadržal v granulatu. V primeru pH vrednosti 7,2 smo pričakovali hitro in popolno sprostitev drugega dela odmerka. V kislem mediju se je po pričakovanjih pri vseh treh granulatih sprostil okoli 40 do 50 % celotnega odmerka. Po 2 h se je pri nadaljnjem raztapljanju pri pH 5,0 v 30 min sprostil še dodatnih 15 % učinkovine, nato je koncentracija dosegla plato in učinkovina se ni več sproščala. V celoti se je torej pri tej pH vrednosti sprostil 55 % odmerka, kar delno ustreza našim pričakovanjem. Raztapljanje pri

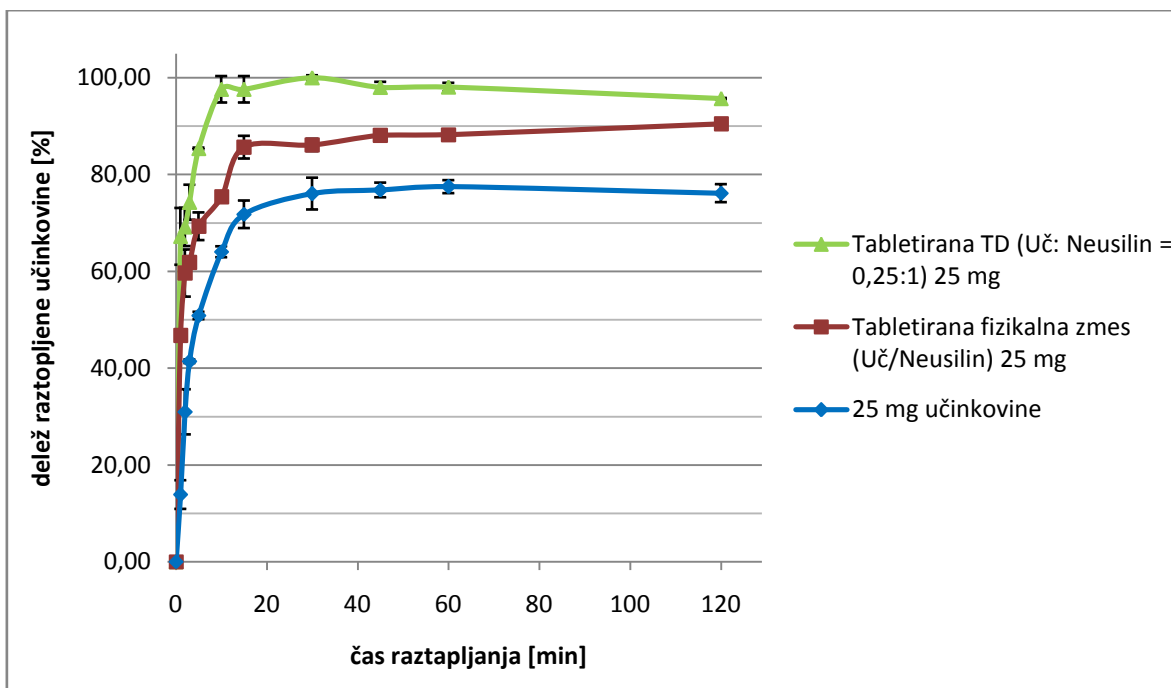
pH 6.8 je bilo podobno, vendar pa je v tem primeru koncentracija učinkovine po 30 min v fosfatnem mediju še naprej naraščala in na koncu dosegla skoraj 90 % celotnega odmerka. Razlog je lahko v vrednosti pH 6.8, ki je kljub temu, da bi moral polimer zadržati učinkovino do pH 7, vseeno povzročila počasno, a dodatno sprostitve učinkovine iz granulata po določenem času raztapljanja. Kot smo predvidevali pa se je pri pH 7.2 preostali odmerek v celoti sprostil, tako da smo tudi v tem primeru dosegli dvopulzno sproščanje učinkovine.

4.5 TABLETIRANJE TRDNE DISPERZIJE IN OBLAGANJE TABLET Z GASTROREZISTENTNIM POLIMEROM

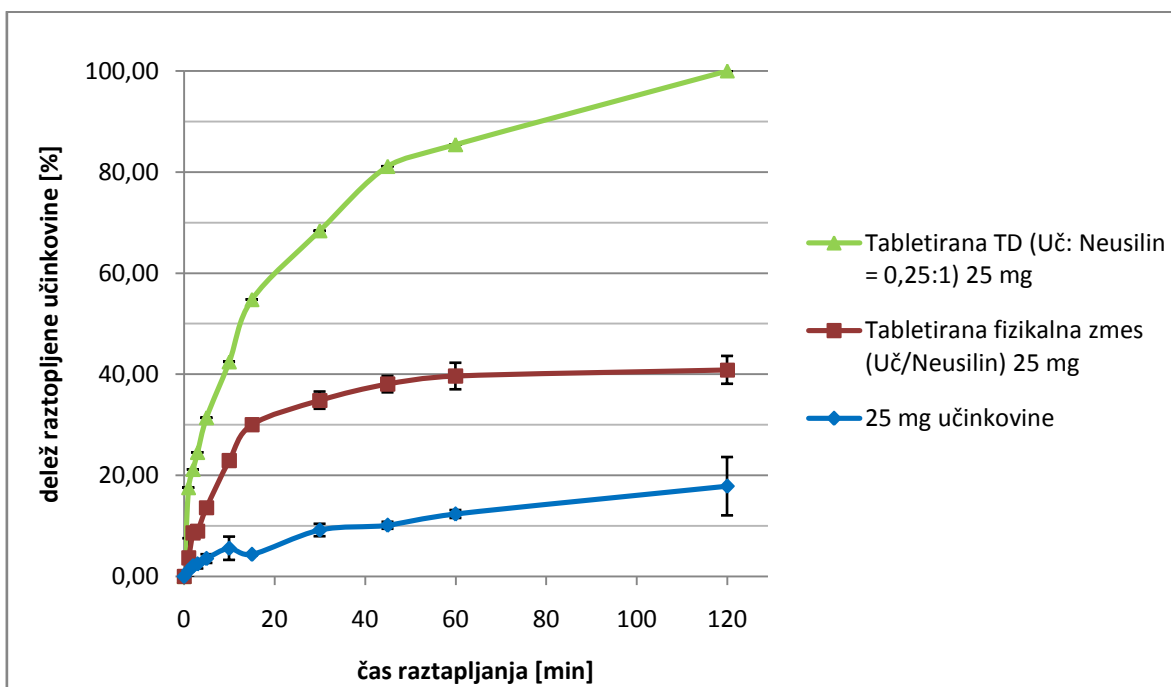
Kot alternativno metodo za zakasnjeno sproščanje v tanko črevo smo na koncu raziskovanja sistemov z dvopulznim sproščanjem izdelali še tablete iz trdne disperzije, ki smo jih obložili z gastrorezistentnim polimerom Eudragit L 100-55. S tem smo želeli izdelati formulacijo z zakasnjnim pulznim sproščanjem učinkovine. V tem primeru torej ne gre za dvopulzno sproščanje, ampak je bil naš namen hitra pulzna sprostitve odmerka učinkovine v tankem črevesu. Izdelali smo tablete s premerom 10 mm, v primeru izdelave manjših tablet pa bi lahko en del tablet obložili, jih v ustreznem razmerju pomešali z neobloženimi ter napolnili v kapsule. Tako bi lahko naredili dostavni sistem z dvopulznim sproščanjem. Z izdelavo tablet smo želeli tudi pokazati, kako dobra je hitrost raztapljanja učinkovine iz tabletirane trdne disperzije v primerjavi s tabletirano fizikalno zmesjo, kjer se učinkovina nahaja v kristalni obliki. Tokrat smo tabletirali TD (učinkovina:Neusilin = 0,25:1), ki smo jo izdelali z metodo odparevanja topila.

Preskus raztapljanja kristalne učinkovine in učinkovine iz tabletirane trdne disperzije

Slika 28 prikazuje primerjavo raztapljanja kristalne oblike učinkovine, učinkovine iz tabletirane TD in učinkovine iz tabletirane fizikalne zmesi v pH 1.2 (+ 1 g/l SDS), slika 29 pa v pH 6.8 (+ 1 g/l SDS). V kislem (pH=1.2) se je učinkovina iz tabletirane TD popolnoma in hitro sprostila v prvih 10 min, medtem ko lahko v fosfatnem mediju (pH=6.8) zopet opazimo počasnejše raztapljanje učinkovine iz tabletirane TD, vendar vseeno izboljšano glede na samo kristalno obliko.



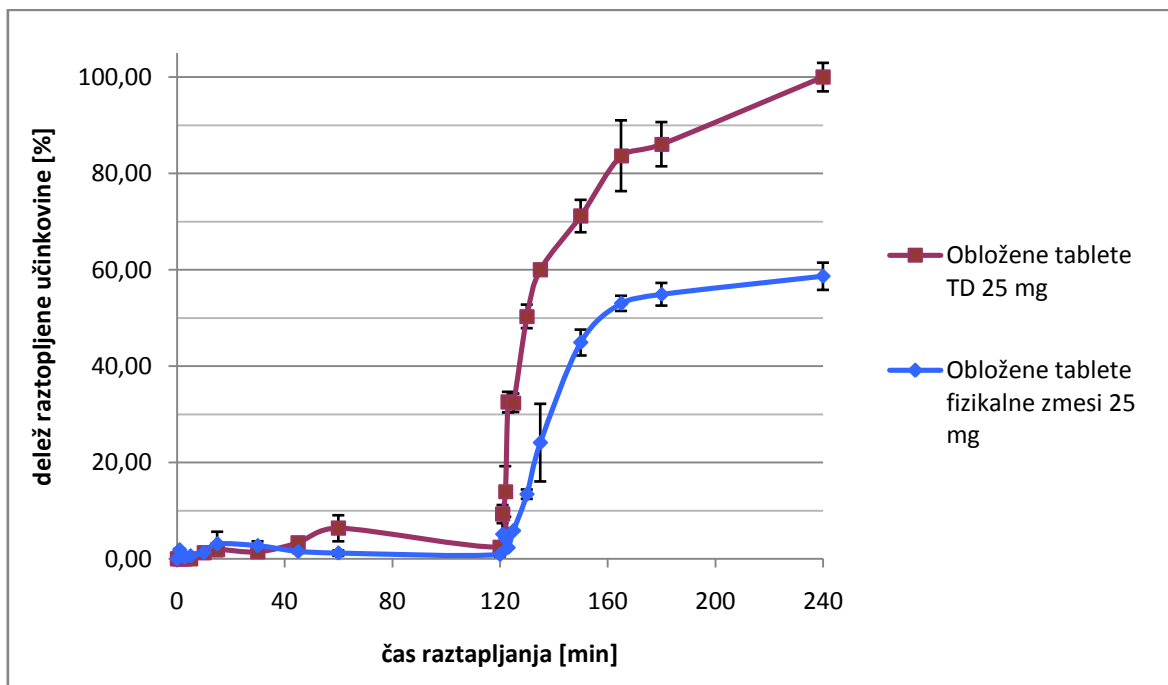
Slika 28: Raztapljanje 25 mg kristalne učinkovine, 25 mg učinkovine iz tabletirane TD (učinkovina:Neusilin = 0,25:1) in tabletirane fizikalne zmesi (UČ/Neusilin) v pH=1.2 (+ 1 g/l SDS).



Slika 29: Raztapljanje 25 mg kristalne učinkovine, 25 mg učinkovine iz tabletirane TD (učinkovina:Neusilin = 0,25:1) in tabletirane fizikalne zmesi (UČ/Neusilin) v pH=6.8 (+ 1 g/l SDS).

4.5.1 Sproščanje učinkovine iz tablet TD (učinkovina:Neusilin = 0,25:1) in tablet fizikalne zmesi (UČ/Neusilin/pomožne snovi), obloženih s polimerom Eudragit L 100-55 (1 x 25 mg odmerek)

Tablete trdne disperzije in fizikalne zmesi ustrezne mase in trdnosti smo obložili z raztopino gastrozistentnega polimera Eudragit L 100-55 v etanolu, ki smo mu dodali mehčalo TEC. Po predpisu Ph. Eur. 6th Ed. kriterij sprejemljivosti pri sproščanju učinkovine iz oblik z zakasnjnim sproščanjem dovoljuje, da se v kislem mediju po 2 do 3 h skozi gastrozistentno oblogo sprosti največ 10 % učinkovine. Slika 30 prikazuje raztapljanje obloženih tablet iz TD in fizikalne zmesi. Iz obeh formulacij se je v mediju s pH 1.2 sprostilo manj kot 10 % učinkovine, zato naše tablete ustrezajo farmakopejskim predpisom. Za doseg gastrozistence smo na tablete glede na njihovo maso nanесли 25 % suhe mase polimera. Po zakasnitvenem času 2 h, ko v kislem pH 1.2 ni bilo sproščanja, se je v mediju s pH 6.8 popolnoma sprostila učinkovina iz tablet s TD, čeprav je bila hitrost raztapljanja tudi tokrat upočasnjena, saj se je v zadnji uri raztopilo še skoraj 20 % odmerka. Opazimo pa lahko izboljšanje hitrosti raztapljanja učinkovine iz tabletirane TD v primerjavi z obloženimi tabletami kristalne učinkovine v fizikalni zmesi, kjer se je v mediju s pH 6.8 sprostilo le 60 % odmerka učinkovine.



Slika 30: Sproščanje 25 mg učinkovine iz obložene tablete TD (25 mg) in obložene tablete fizikalne zmesi (25 mg) 2 h pri pH=1.2 (+ 1 g/l SDS) ter nadaljnji 2 h pri pH=6.8 (+ 1 g/l SDS).

5 SKLEP

Z izdelavo trdnih disperzij smo izboljšali raztapljanje v vodi težko topne modelne učinkovine in s tem najverjetneje izboljšali tudi njeno biološko uporabnost. Z vgraditvijo učinkovine v porozni silicijev dioksid (Sylysia 350) in magnezijev aluminometasilikat (Neusilin US2) smo dosegli, da se je učinkovina v porah oborila v amorfni obliki, kar smo dokazali s termično analizo trdne disperzije in fizikalne zmesi kristalne učinkovine s pomožnimi snovmi. Učinkovina se je iz trdnih disperzij sproščala bolje in hitreje kot sama kristalna oblika, kar pa verjetno ni samo posledica amorfizacije učinkovine, pač pa tudi zmanjšanja velikosti delcev in s tem povečanja specifične površine ter izboljšanja močljivosti.

Z granuliranjem trdnih disperzij z različnimi disperzijami gastrozistentnih polimerov smo izdelali dostavne sisteme z dvopulznim sproščanjem učinkovine, saj nam ni uspelo izdelati popolnoma gastrozistentnih granuliranih delcev trdne disperzije. Z uporabo različnih koncentracij polimera Eudragit L 30 D-55 in Eudragit FS 30 D smo dosegli, da se je po 2 h raztapljanja približno pol odmerka iz granulirane trdne disperzije sprostilo v kislem mediju, pol pa v nadaljnjih 2 h v mediju s pH 6.8 ali pH 7.2. Dvopulzno sproščanje smo dosegli, naš namen pa je bil tudi, da se obe polovici odmerka med raztapljanjem hitro sprostita, saj bi tako še izboljšali biološko uporabnost učinkovine in zmanjšali odmerek v formulaciji. To nam je večini primerov tudi uspelo, saj se je pri vseh trdnih disperzijah in iz vzorcev granulatov sprostil celoten odmerek učinkovine. Nasprotno je bilo sproščanje učinkovine iz fizikalnih zmesi v večini primerov nepopolno. Z uporabo drugih polimerov dvopulznega sproščanja nismo dosegli.

Z oblaganjem tablet iz trdne disperzije z gastrozistentnim polimerom Eudragit L 100-55 smo izdelali dostavni sistem za zakasnjeno pulzno sproščanje. S tem smo želeli dokazati, da se tudi iz tabletirane trdne disperzije učinkovina bolje raztaplja kot iz tabletirane fizikalne zmesi učinkovine in Neusilina. Ideja za nadaljnje raziskovanje tako ostaja izdelava manjših tablet. Formulacija s polovico obloženih in polovico neobloženih tablet, ki bi jih polnili v kapsule, bi bila tako lahko metoda za izdelavo sistema z dvopulznim sproščanjem učinkovine, s katerim bi prav tako dosegli zmanjšanje odmerka učinkovine in frekvenco jemanja zdravila ter tako bolnikom zagotovili sprejemljivejše zdravljenje. Hkrati pa bi z izdelavo tablet namesto granuliranih trdnih disperzij dosegli tudi bolj zanesljivo in ponovljivo metodo v proizvodnji.

6 LITERATURA

1. Planinšek O. Sodobni pristopi k izdelavi trdnih disperzij z izboljšano biološko uporabnostjo učinkovin. *Farm Vestn* 2009; 53: 169-176.
2. Leuner C, Dressman J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur J Pharm Biopharm* 2000; 50: 47-60.
3. Van Spreybroeck M, Barillaro V, Do Thi T et al. Ordered Mesoporous Silica Material SBA-15: A Broad-Spectrum Formulation Platform for Poorly Soluble Drugs. *J Pharm Sci* 2008; 98(8): 2648-2658.
4. Dannenfelser RM, He H, Joshi Y et al. Development of Clinical Dosage Forms for a Poorly Water Soluble Drug I: Application of Polyethylene Glycol-Polysorbate 80 Solid Dispersion Carrier system. *J Pharm Sci* 2004; 93: 1165-1175.
5. 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.
6. Galia E, Nicolaides E, Horter D et al. Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs. *Pharm Res* 1998; 15: 698-705.
7. Ford JL. The current status of solid dispersions. *Pharm Acta Helv* 1986; 3: 69-88.
8. Dhirendra K, Lewis S, Udupa N et al. SOLID DISPERSIONS: A REVIEW. *Pak J Pharm Sci* 2009; 22(2): 234-246.
9. Sharma S, Pawar A. Low density multiparticulate system for pulsatile release of meloxicam. *Int J Pharm* 2006; 313: 150-158.
10. Ukmar T, Mali G, Planinšek O. Sistemi s prirejenim sproščanjem na osnovi mezoporoznih ogrodič. *Farm Vest* 2009; 60: 313-318.
11. Sylysia FCP, Fuji Sylysia Chemical Ltd. Product Information, Kozoji-cho, Kasugai-shi, Aichi-ken, Japan. Dostopno na:
<http://abstracts.aapspharmaceutica.com/expoaaps07/Data/EC/Event/Exhibitors/1228/a2f2ab2e-dd9d-4e4c-91cb-026e422e83b2.pdf> (september 2010)
12. Micronized Silica/Sylysia, Fuji Sylysia Chemical Ltd. Products. Dostopno na:
http://www.fuji-silysia.co.jp/english/product/micronized_silica/sylysia.html (oktober 2010)

13. Takeuchi H, Nagira S, Yamamoto H, Kawashima Y. Solid dispersion particles of tolbutamide prepared with fine silica particles by the spray-drying method. *Pow Tech* 2004; 141: 187-195.
14. Takeuchi H, Nagira S, Yamamoto H, Kawashima Y. Solid dispersion particles of amorphous indomethacin with fine porous silica particles by using spray-drying method. *Int J Pharm* 2005; 293: 155-164.
15. Neusilin, Fuji Chemical Industry Co., Ltd. Product information. Dostopno na: <http://www.neusilin.com/product/index.php> (oktober 2010)
16. Neusilin, Fuji Chemical Industry Co., Ltd. Pharmaceuticals & Excipients. Dostopno na: <http://www.fujichemical.co.jp/english/medical/medicine/neusilin/index.html> (oktober 2010)
17. Löbenberg R, Kim JS, Amidon 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.
18. Shruti R, Alpana R. Colon Targeted Pulsatile Drug Delivery: A Review. *Pharmainfo.net* 2007; 5(2). Dostopno na: <http://www.pharmainfo.net/reviews/colon-targeted-pulsatile-drug-delivery-review> (oktober 2010)
19. Kshirsagar SJ, Bhalekar MR, Umap RR. In vitro In vivo comparison of two pH sensitive Eudragit polymers for colon specific drug delivery. *J Pharm Sci & Res* 2009; 1(4): 61-70.
20. Klein S, Rudolph MW, Dressman JB. Drug release characteristics of different mesalazine products using USP Apparatus 3 to simulate passage through the GI tract. Dostopno na: http://www.dissolutiontech.com/DTresour/1102art/1102_art1.htm (november 2010)
21. Cole ET, Scott R, Connor AL et al. Enteric coated HPMC capsules designed to achieve intestinal targeting. *Int J Pharm* 2002; 231: 83-95.
22. Arora S, Ali J, Ahuja A et al. Pulsatile drug delivery systems: An approach for controlled drug delivery. *Ind J Pharm Sci* 2006; 68(3): 295-300.
23. Chourasia MK, Jain SK. Pharmaceutical approaches to colon drug delivery systems. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2003; 6(1): 33-66.

24. Sunghongjeen S, Puttipatkhachorn S, Paeratakul O et al. Development of pulsatile release tablets with swelling and rupturable layers. *J Control Release* 2004; 95: 147-159.
25. Gaikwad M, Belgamawar V, Tekade A et al. Formulation and evaluation of floating, pulsatile, multiparticulates using pH-dependent swellable polymers. *Pharm Development and Technology* 2010; 15(2): 209-216.
26. Fan TY, Wei SL, Yan WW et al. An investigation of pulsatile release tablets with ethylcellulose and Eudragit L as film coating materials and cross-linked polyvinylpyrrolidone in the core tablets. *J Control release* 2001; 77: 245-251.
27. Lemmer B. Chronopharmacokinetics: implications for drug treatment. *J Pharm Pharmacol* 1999; 51(8): 887-890.
28. Roy P, Shahiwala A. Multiparticulate formulation approach to pulsatile drug delivery: Current perspectives. *J Control Release* 2009; 134: 74-80.
29. Krögel I, Bodmeier R. Pulsatile drug release from an insoluble capsule body controlled by an erodible plug. *Pharm Res* 1998; 15(3): 474-481.
30. Krögel I, Bodmeier R. Floating or pulsatile drug delivery systems based on coated effervescent cores. *Int J Pharm* 1999; 187: 175-184.
31. Mc Neill ME, Rashid A, Stevens HNE. Dispensing device. GB Patent, Patent number 2,230,442, date of patent Oct. 24, 1990.
32. Stevens HNE, Rashid A, Bakshee M. Dispensing device. United states Patent, Patent number 5,474,784, date of patent Dec. 12, 1995.
33. Gazzaniga A, Sangalli ME, Giordano F. Oral Chronotropic drug delivery systems: Achievement of time and/or site specificity. *Eur J Biopharm* 1994; 40: 246-250.
34. Bussemer T, Dashevsky A, Bodmeier R. A pulsatile drug delivery system based on rupturable coated hard gelatin capsules. *J Control Release* 2003; 93: 331-339.
35. Makino K, Mogi T, Ohtake N et al. Pulsatile drug release from poly (lactide-co-glycolide) microspheres: how does the composition of the polymer matrices affect the time interval between the initial burst and the pulsatile release of drugs? *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2000; 19: 173-179.
36. Bussemer T, Bodmeier R. Formulation parameters affecting the performance of coated gelatin capsules with pulsatile release profiles. *Int J Pharm* 2003; 267: 59-68.

37. Liu X, Pettway GJ, McCauley LK, Ma PX. Pulsatile release of parathyroid hormone from an implantable delivery system. *Biomaterials* 2007; 28: 4124-4131.
38. Li B, Zhu JB, Gong W. A novel system for three-pulse drug release based on »tablets in capsule« device. *Int J Pharm* 2008; 352: 159-164.
39. Rowe CW, Katstra WE, Palazzolo RD et al. Multimechanism oral dosage forms fabricated by three dimensional printing. *J Control Release* 2000; 66: 11-17.
40. Chen CM. Multiparticulate pulsatile drug delivery system. United states Patent, Patent number 5,260,068, date of patent Nov. 9, 1993.
41. Bai JPF. Pulsatile drug delivery system. United states Patent, Patent number 5,840,329, date of patent Nov. 24, 1998.
42. Tang YD, Venkatraman SS, Boey FYC, Wang LW. Sustained release of hydrophobic and hydrophilic drugs from a floatig dosage form. *Int J Pharm* 2007; 336: 159-165.
43. Whitehead L, Fell JT, Collet JH et al. Floating dosage forms: an in vivo study demonstrating prolonged gastric retention. *J Control Release* 1998; 55: 3-12.
44. Iannuccelli V, Coppi G, Bernabei MT, Cameroni R. Air compartment multiple-unit system for prolonged gastric residence. Part I. Formulation study. *Int J Pharm* 1998; 174: 47-54.
45. Murata Y, Sasaki N, Miyamoto E et al. Use of floating gel beads for stomach-specific drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 2000; 50: 221-226.
46. Felton LA. Film Coating of Oral Solid Dosage Forms. In: Swarbrick J. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Informa Healthcare ; 3: 1729-1747.
47. Thoma K, Bechtold K. Influence of aqueous coatings on the stability of enteric coated pellets and tablets. *Eur J Pharm Biopharm* 1999; 47: 39-50.
48. Glass Transition Temperature, T_g . Dostopno na: <http://www.siliconfareast.com/tg.htm> (november 2010)
49. SmPC (Povzetek glavnih značilnosti zdravila) za Coryol[®] tablete. Dostopno na: <http://www.zdravila.net/> (oktober 2010)
50. 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.

-
51. Bhutani S, Hiremath SN, Swamy PV, Raju SA. Preparation and evaluation of inclusion complexes of carvedilol. *J Sci & Ind Res* 2007; 66: 830-834.
 52. European Pharmacopoea 6th Edition, 2.9.3. Dissolution test for solid dosage forms; 5811-5817.
 53. Pokharkar VB, Mandpe LP, Padamwar MN et al. Development, characterization and stabilization of amorphous form of a low T_g drug. *Powder Tech* 2006; 167: 20-25.
 54. Planinšek O, Kovačič B, Vrečer F. Carvedilol dissolution improvement by preparation of solid dispersions with porous silica. *Int J Pharm*; In Press, available online 8 January 2011.
 55. Planinšek O. Nekatere metode stabilizacije amorfnih učinkovin. *Farm Vestn* 2007; 58: 8-14.