

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATJA LUŽAR

MAGISTRSKA NALOGA

**OPTIMIZACIJA SESTAVE PLAVAJOČIH TABLET NA OSNOVI
KSANTANA Z VGRAJENIM AMOKSICILINOM ZA ZDRAVLJENJE
OKUŽB S *HELICOBACTER PYLORI***

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO



KATJA LUŽAR
MAGISTRSKA NALOGA

**OPTIMIZACIJA SESTAVE PLAVAJOČIH TABLET NA OSNOVI
KSANTANA Z VGRAJENIM AMOKSICILINOM ZA ZDRAVLJENJE
OKUŽB S *HELICOBACTER PYLORI***

**OPTIMIZATION OF FLOATING XANTHAN TABLETS
COMPOSITOIN WITH INCORPORATED AMOXICILIIN FOR THE
TREATMENT OF *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2013

Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo, na Katedri za farmacevtsko tehnologijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Saše Baumgartner, mag. farm.

Iskreno se zahvaljujem mentorici izr. prof. dr. Saši Baumgartner, mag. farm., za vse strokovne nasvete, spodbude in usmeritve pri izdelavi magistrske naloge.

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

Še posebno pa se zahvaljujem svojim staršem, sestri, prijateljem in Zlatku, ki so bili ves čas študija ob meni, me spodbujali in verjeli vame.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo izdelala samostojno pod mentorstvom izr. prof. dr. Saše Baumgartner, mag. farm.

Katja Lužar

Komisija za zagovor:

Predsednik: prof. dr. Danijel Kikelj

Članica: asist. dr. Simona Mencej Bedrač, mag. farm.

VSEBINA

1	POVZETEK	III
2	SEZNAM OKRAJŠAV	V
3	UVOD	1
3.1	MEHANIZMI ZA PODALJŠANO ZADRŽEVANJE FARMACEVTSKIH OBLIK V ŽELODCU	1
3.1.1	DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA ČAS ZADRŽEVANJA FARMACEVTSKE OBLIKE V ŽELODCU	2
3.1.2	POTENCIALNO PRIMERNE ZDRAVILNE UČINKOVINE ZA FARMACEVTSKE OBLIKE Z ZADRŽANIM SPROŠČANJEM V ŽELODCU (GRDDS) ..	4
3.1.3	UČINKOVINE, KI NISO PRIMERNE ZA ZADRŽANO SPROŠČANJE V ŽELODCU	4
3.2	PRISTOPI ZA DOSEGANJE PODALJŠANEGA ČASA ZADRŽEVANJA FARMACEVTSKE OBLIKE V ŽELODCU	4
3.2.1	PLAVAJOČ DOSTAVNI SISTEM	4
3.2.2	PLAVAJOČ DOSTAVNI SISTEMI ZA ZDRAVLJENJE OKUŽB S <i>H. PYLORI</i> ..	7
3.2.3	MUKOADHEZIJA	9
3.2.4	MUKOADHEZIJA KOT DOSTAVNI SISTEMI ZA ZDRAVLJENJE OKUŽB S <i>H. PYLORI</i>	9
3.2.5	DOSTAVNI SISTEM NA OSNOVI TVORBE SPECIFIČNIH INTERAKCIJ ZA ZDRAVLJENJE OKUŽB S <i>H. PYLORI</i>	10
3.3	<i>HELICOBACTER PYLORI (H. pylori)</i>	11
3.3.1	DIAGNOSTIKA	12
3.3.2	PRIPOROČILA ZA ZDRAVLJENJE OKUŽB S <i>HELICOBACTER PYLORI</i>	13
3.4	AMOKSICILIN	14
3.5	KSANTAN	16
4	NAMEN DELA	18
5	MATERIALI IN METODE	19
5.1	MATERIALI	19
5.2	NAPRAVE	19
5.3	POSTOPKI IN METODE	20
5.3.1	PRIPRAVA MEDIJEV	20
5.3.2	IZDELAVA TABLET	22
5.3.3	DOLOČANJE FARMACEVTSKOTEHNOLOŠKIH PARAMETROV TABLET ..	23
5.3.4	IZVAJANJE POSKUSOV SPROŠČANJA	24
6	REZULTATI IN RAZPRAVA	29

6.1	DOLOČITEV ENAČB UMERITVENIH PREMIE	29
6.2	REZULTATI ČASOVNEGA RAZPADA AMK V RAZLIČNIH MEDIJAH	30
6.3	ČASOVNI RAZPAD AMOKSCILINA	30
6.4	REZULTATI FARMACEVTSKOTEHNOLOŠKIH PARAMETROV	33
6.4.1	ENAKOMERNOST MASE ENOODMERNIH FARMACEVTSKIH OBLIK	33
6.4.2	TRDNOST TABLET	33
6.4.3	ENAKOMERNOST VSEBNOSTI ENOODMERNIH FARMACEVTSKIH OBLIK	34
6.5	REZULTATI PREIZKUSOV SPROŠČANJA	34
6.5.1	REZULTATI SPROŠČANJA NA NAPRAVI Z VESLI	35
6.5.2	VPLIV VELIKOSTI DELCEV UČINKOVINE NA SPROŠČANJE IZ OGRODNIH TABLET	38
6.5.3	VPLIV DELEŽA KSANTANA V TABLETI NA SPROŠČANJE (AMX)	39
6.5.4	VPLIV NATRIJEVEGA HIDROGENKARBONATA IN HIDROGENIRANEGA RICINUSOVEGA OLJA NA SPROŠČANJE IN PLOVNOST OGRODNIH TABLET	40
6.5.5	VPLIV DODATKA DRUGIH POLIMEROV H KSANTANSKEMU OGRODJU NA SPROŠČANJE IN PLOVNOST OGRODNIH TABLET	42
6.5.6	PREIZKUS IZBRANE SERIJE PRI VEČJI HIDRODINAMSKI OBREMENITVI	46
6.5.7	REZULTATI SPROŠČANJA NA NAPRAVI 3 PO USP 8 (naprava BioDis)	49
6.5.8	VPLIV MEDIJA NA SPROŠČANJE AMX V BIODISU	51
6.5.9	VPLIV ŠTEVILA POTOPOV/ MINUTO NA SPROŠČANJE AMX IZ OGRODNIH TABLET	51
7	SKLEP	54
8	LITERATURA	56

1 POVZETEK

Okužba z bakterijo *Helicobacter pylori* je najpogostejši dejavnik tveganja za nastanek ulkusne bolezni želodca in dvanajstnika, gastritisa, limfoma MALT in želodčnega raka. Za zdravljenje okužbe je potrebna večtirna terapija. Ena izmed protimikrobnih učinkovin za zdravljenje okužb je amoksisicilin, ki smo ga vgradili v plavajoče tablete na osnovi ksantana. Plavajoče tablete so eden izmed pristopov za doseganje podaljšanega časa zadrževanja farmacevtske oblike v želodcu in s tem neposredno delovanje zdravilne učinkovine na bakterijo v želodčni sluznici. Pri takšnem pristopu je treba zaužiti manjše odmerke antibiotikov, s čimer izboljšamo complianco bolnika in zmanjšamo možnost pojava odpornosti. V preliminarjih testih smo želeli optimizirati sestavo tablete, da bi tableta imela želeno sproščanje, čas splavanja in konsistenco. Poskuse sproščanja amoksisicilina in hitrost splavanja tablet smo izvajali na napravi 2 po USP v različnih medijih. Delež sproščenega amoksisicilina smo analizirali na sistemu HPLC. Formulacijo, ki je izkazovala najprimernejše lastnosti v preliminarjih testih, smo nato analizirali še na napravi BioDis, s katero smo posnemali pogoje v želodcu in farmacevtsko obliko izpostavili različnim hidrodinamskim obremenitvam. Pri eksperimentalnem delu smo ugotovili, da amoksisicilin v medijih z nizkim pH, predvsem 1,2 in 2, zelo hitro razpada. Z zmanjševanjem deleža ksantana in vgradnjo vodotopnih substanc smo spremenili profile sproščanja amoksisicilina in dosegli bistveno hitrejše splavanje tablet. Kot uspešna se je izkazala vgradnja manjše količine ksantana, saj le-ta vpliva na debelino plasti hidrofilnega gela, ki nadzoruje sproščanje. Dodatek hydrogeniranega ricinusovega olja podaljša čas splavanja tablet, saj povzroči, da je sama površina tablete bolj hidrofobna, prav tako podaljša čas splavanja tudi prevelik delež dodanega NaHCO_3 (več kot 20 %). Dodatek polivinilpirolidona (PVP K30) močno izboljša čas splavanja tablet, saj ima vlogo tvorca por oziroma kanalčkov, skozi katere amoksisicilin prehaja iz ogrodja tablete. Pomembna je predvsem količina dodanega PVP K30, saj pri preveliki količini in nizkem pH medija deluje kot razgrajevalo. Dodatek celuloznih etrov vpliva na sproščanje in konsistenco tablet, ki je v kombinaciji s ksantanom slabša, kot če je prisoten samo ksantan kot ogrodni polimer. Ksantan ob višji strižni sili tvori manj viskozen gel, zato se zaradi hitrejše erozije polimernega ogrodja in tako tanjšega difuznega sloja pri višji hitrosti vrtenja vesel sprostijo večji deleži amoksisicilina.

Najuspešnejša serija (serija 9b) je v mediju s pH 2 v 6 urah sprostila 70 % amoksisilina in splavala v 9 minutah, v mediju s pH 1,2 pa 50 % amoksisilina in splavala v 1,2 minute.

Na napravi BioDis je zaradi hidrodinamskih obremenitev oteženo nabrekanje ksantana oziroma je pospešena erozija ogrodja. Pri večji hitrosti potapljanja se sprosti večji delež amoksisilina. Ko smo posnemali en cikel migracijskega motoričnega kompleksa (2 h), se je v mediju s pH 1,2 sprostilo v 42 % amoksisilina, pri 10 potopih na minuto pa 33 %. Viden je vpliv ionske moči medija na sproščanje. V mediju s pH 1,2 se sproščanje ob povečani ionski moči pospeši, v mediju s pH 2 pa je vpliv na sproščanje minimalen.

KLJUČNE BESEDE: *Helicobacter pylori*, plavajoče tablete, ksantan, amoksisilin, polivinilpirolidon

2 SEZNAM OKRAJŠAV

AMX – amoksicilin

Dip/min – potopov na minuto

FO – farmacevtska oblika

GRT – čas zadrževanje v želodcu (gastric residence time)

HBS – hidrodinamsko uravnotežen sistem (hydrodynamically balanced system)

H. pylori – *Helicobacter pylori*

HPMC – hidroksimetilpropilceluloza

IARC – mednarodna organizacija za raziskave raka

IPČ/ZPČ – inhibitor protonske črpalke

MALT – limforetikularno tkivo v sluznici (mucosa-associated lymphoid tissue)

MCC – mikrokristalna celuloza

medij 1 (M1) – s pH 1,2 in ionsko močjo $\mu = 0,08$ M

medij 1* (M1*) – s pH 1,2 in ionsko močjo $\mu = 0,2$ M

medij 2 (M2) – s pH 2,0 in ionsko močjo $\mu = 0,01$ M

medij 2* (M2*) – s pH 2,0 in ionsko močjo $\mu = 0,2$ M

medij 3 (M3) – s pH 3 in ionsko močjo $\mu = 0,001$ M

medij 4 (M4) – s pH 4,5 in ionsko močjo $\mu = 0,023$ M

medij (M4) – s pH 6,8 in ionsko močjo $\mu = 0,71$ M

medij 6 (M6) – prečiščena voda

MIC – minimalna inhibitorna koncentracija

MMC – migrirajoči mioelektrični kompleks

PPK – površina pod krivuljo

R^2 – Pearsonov koeficient determinacije

RPM – število vrtljajev vesla na minuto

RSD – relativna standardna deviacija

SD – standardna deviacija

XAN – ksantan

ZU – zdravilna učinkovina

μ – ionska moč

3 UVOD

3.1 MEHANIZMI ZA PODALJŠANO ZADRŽEVANJE FARMACEVTSKIH OBLIK V ŽELODCU

Razvoj učinkovitih farmacevtskih oblik (FO) za podaljšano zadrževanje v želodcu se je začel po odkritju bakterije *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) leta 1982 [1]. Podaljšano zadrževanje FO v želodcu poveča biološko razpoložljivost učinkovine, zmanjša njeno izgubo z metabolizmom prvega prehoda in izboljša topnost tistim učinkovinam, ki so slabše topne v okolju z višjimi vrednostmi pH ali razpadejo v kolonu. Tovrstne FO so primerne za vgradnjo učinkovin, kjer želimo lokalno distribucijo učinkovine v želodcu in proksimalnem delu tankega črevesa [2][3]. Tak način dostave je prijaznejši za bolnika, saj omogoča jemanje zdravil v daljših časovnih intervalih, kar izboljša complianco.

Lokalna dostava je zelo pomembna za učinkovine, ki se hitro absorbirajo v želodcu, in tiste, ki delujejo lokalno na sami želodčni sluznici. V to skupino spadajo tudi antibiotiki, ki lokalno delujejo za zdravljenje okužb s *H. pylori*. Za okužbo s to bakterijo je zaželeno, da bi daljši čas zadrževanja FO v želodcu omogočal, da bi se iz ogrožja sprostila večja količina antibiotika, ki bi potem penetriral skozi mukozno plast in deloval na *H. pylori* [4][5]. Strokovnjaki menijo, da je absorpcija antibiotika v mukus skozi mukozno plast (iz lumna želodca) učinkovitejša za izkoreninjenje *H. pylori* kot absorpcija skozi bazolateralno membrano (iz krvi) [4]. Ker bi se taka FO zadrževala na mestu delovanja dlje, se lahko odmere antibiotika zmanjša. Posledica tega je lahko tudi zmanjšanje neželenih stranskih učinkov [6].

Zaradi naštetih prednosti, ki so posledica podaljšanega časa zadrževanja FO v želodcu, so razvili veliko sistemov, ki to omogočajo. Besedo sistem uporabljamo namenoma, saj so to kompleksne FO, ki jih je težko uvrstiti med oficinalne FO. Sem spadajo: plavajoči sistemi, sistemi z veliko gostoto, nabrekajoči sistemi, superporozni hidrogeli, mukoadhezivni ali bioadhezivni sistemi, magnetni sistemi in sistemi s tvorbo različnih geometrijskih oblik [1][7][8].

Med temi pa ločimo še med enoenotnimi (tablete, kapsule) in večeenotnimi (pelete, mikrosfere, mikrokapsule, mikrobaloni) farmacevtskimi oblikami. Z večeenotnimi oblikami

se izognemo učinku »vse ali nič« in tako preprečimo, da izgubimo celoten odmerek [1]. Njihova prednost je tudi, da omogočajo bolj predvidljivo sproščanje učinkovine, zmanjšajo možnost lokalizirane poškodbe mukusa ter da lahko vanje vgradimo med seboj inkompatibilne sestavine [9].

Ena izmed možnosti je tudi, da v farmacevtsko obliko vgradimo lipidne spojine, npr. trietanolamonijev miristat, glicerol monostearat ali maščobne kisline. Zanje je značilno, da upočasnijo gibanje želodca (passage-delaying agents) in tako podaljšajo čas zadrževanja celotne FO v želodcu v [10].

Farmacevtske oblike s podaljšanim časom zadrževanja v želodcu imajo tudi slabosti. V farmacevtsko obliko z podaljšanim sproščanjem (GRDDS) ne smemo vgraditi zdravilnih učinkovin, ki poškodujejo želodčno sluznico, prav tako ne učinkovin s problematično topnostjo in stabilnostjo v želodcu. Učinkovine z dobro absorpcijo prek celotnega prebavnega trakta in velikim metabolizmom prvega prehoda prav tako niso najprimernejši kandidati za GRDDS, saj lahko počasno praznjenje želodca vodi do zmanjšane biološke uporabnosti. Za izkoriščenje koncepta plavajočega dostavnega sistema je potreben dovolj visok nivo tekočine v želodcu, kar lahko predstavlja problem, če je želodec prazen, saj pride FO preblizu pilorusa in je njena plovnost ovirana. Pri mukoadheziji je največji problem pogosta obnova mukusa želodca in možnost, da se FO prilepi na požiralnik, nabrekajoči sistemi, ki temeljijo na hidrogelu pa potrebujejo čas, da nabreknejo [11].

3.1.1 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA ČAS ZADRŽEVANJA FARMACEVTSKE OBLIKE V ŽELODCU

Na čas zadrževanja farmacevtske oblike (gastric residence time – GRT) v želodcu vplivajo številni dejavniki. Farmacevtska oblika lahko preide skozi pilorični sfinkter v tanko črevo, če je njena velikost od 1 do 2 mm. pH-vrednost želodca se spreminja na tešče od 1,5 do 2, po hranjenju pa od pH 2 do 6. Če poleg odmerka tablete popijemo veliko količino vode, lahko pH v želodcu naraste tudi na od 6 do 9, saj želodec nima časa proizvajati zadostne količine kisline, da bi uravnal pH. Zato je verjetneje, da se kisle učinkovine bolje kot na tešče raztopijo po hranjenju.

Najpomembnejši dejavniki, ki vplivajo na čas zadrževanja farmacevtske oblike v želodcu, pa so: [11]

- **Gostota** – čas zadrževanja je odvisen od plovnosti FO, ki je odvisna od gostote.
- **Velikost** – FO s premerom več kot 7,5 mm imajo daljši čas zadrževanja.
- **Oblika** – tetraeder in obroč imata v primerjavi z drugimi oblikami zaradi svoje fleksibilnosti od 90 do 100 % daljši čas zadrževanja FO v želodcu.
- **Eno- ali večodmerne FO** – z večnotnimi oblikami se izognemo učinku »vse ali nič« in tako preprečimo, da izgubimo celoten odmerek. Njihova prednost je tudi, da omogočajo bolj predvidljivo sproščanje učinkovine, zmanjšajo možnost lokalizirane poškodbe mukusa ter da lahko vanje vgradimo med seboj inkompatibilne sestavine [12].
- **Aplikacija na tešče ali po hranjenju** – proces želodčnega praznjenja poteka tako na tešče kot po hranjenju, vendar se vzorec premikanja med tema stanjema razlikuje. Za stanje na tešče je značilna vrsta električnih pojavov tako v črevesju kot v želodcu na vsake od 1,5 do 2 uri in jih imenujemo migracijski mioelektrični cikel (MMC), ki ga sestavljajo 4 faze.
- **Sestava in kalorična vrednost obroka** – z zaužitjem neprebavljivih polimerov in maščobnih kislin se spremeni vzorec gibanja želodčne muskulature kot pri polnem želodcu, s čimer zmanjšamo stopnjo praznjenja želodca in podaljšamo čas sproščanja. Čas zadrževanja se ob zaužitju hrane, bogate s proteini in maščobami, podaljša na od 4 do 10 ur.
- **Pogostnost hranjenja** – če se redno prehranjujemo, se lahko zaradi nizke frekvence MMC čas zadrževanja poveča za več kot 400 min, kot če zaužijemo le en obrok na dan.
- **Spol** – povprečni GRT pri moških ($3,4 \pm 0,6$ ure) je manjši v primerjavi s povprečnim GRT pri ženskah ($4,6 \pm 1,2$) z enako starostjo in raso (ne glede na višino, težo in površino telesa).
- **Starost** – starejši ljudje, posebno starejši od 70 let, imajo signifikantno podaljšan GRT.
- **Lega bolnika** – GRT se lahko razlikuje glede na lego bolnika (leže, stoje).
- **Sočasna uporaba zdravil** – antiholinergiki (atropin, propantelin), opiat (kodein) in prokinetiki (metoklopramid, cisaprid) lahko vplivajo na čas plavanja (floating time).

- **Biološki faktor** – sladkorna bolezen in Crohnova bolezen [13].

3.1.2 POTENCIALNO PRIMERNE ZDRAVILNE UČINKOVINE ZA FARMACEVTSKE OBLIKE Z ZADRŽANIM SPROŠČANJEM V ŽELODCU (GRDDS)

- Učinkovine z lokalnim delovanjem v želodcu (misoprostol, antacidi, protiulkusne učinkovine, encimi).
- Učinkovine z ozkim gastrointestinalnim (GI) absorpcijskim terapevtskim oknom (paraaminobenzojska kislina, furosemid, riboflavin, L-DOPA).
- Učinkovine, nestabilne v tankem in debelem črevesu (kaptopril, ranitidin, metronidazol).
- Antibiotična terapija (amoksisicilin trihidrat, klaritromicin).
- Učinkovine, ki izkazujejo slabo topnost pri alkalnem pH (diazepam, klordiazepoksid, verapamil HCl, salbutamol).
- Učinkovine, ki se primarno absorbirajo iz želodca in zgornjega dela GIT (klordiazepoksid, cinarazin). [13]

3.1.3 UČINKOVINE, KI NISO PRIMERNE ZA ZADRŽANO SPROŠČANJE V ŽELODCU

- Učinkovine z omejeno topnostjo v kislem (fenitoin).
- Učinkovine, ki so nestabilne v želodcu (eritromicin).
- Učinkovine s selektivnim sproščanjem v kolonu (5-aminosalicilna kislina, kortikosteroidi).
- Učinkovine z velikim predsistemskim metabolizmom. [13]

3.2 PRISTOPI ZA DOSEGANJE PODALJŠANEGA ČASA ZADRŽEVANJA FARMACEVTSKE OBLIKE V ŽELODCU

3.2.1 PLAVAJOČ DOSTAVNI SISTEM

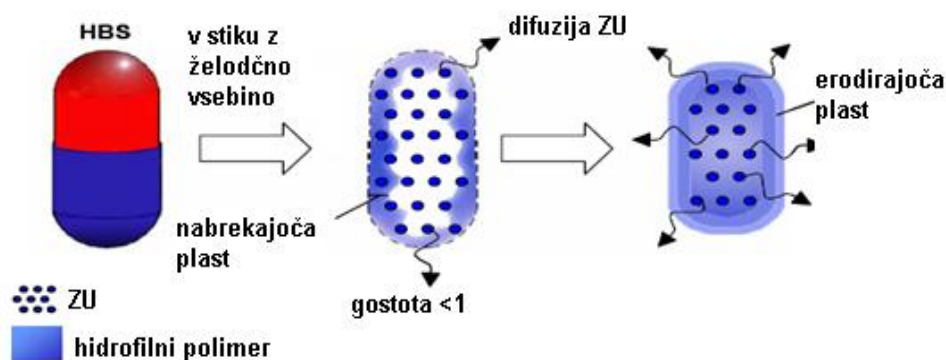
Ta sistem je med vsemi oblikami, ki omogočajo podaljšano zadrževanje v želodcu, najboljše raziskan. Plovnost omogoča podaljšano zadrževanje FO v želodcu, ne da bi le-ta vplivala na intrinzično praznjenje želodca, kar pomeni večjo varnost pri uporabi takšnih

oblik [7][10][14]. V to skupino spada največ podskupin plavajočih oblik, ki delujejo po različnih principih.

3.2.1.1 SISTEMI, KI NE TVORIJO PLINA PO INTERAKCIJI Z ŽELODČNO TEKOČINO:

Sem spadajo hidrodinamsko uravnoreženi sistemi in sistemi z nizko gostoto.

– **Hidrodinamsko uravnoreženi sistemi (hydrodynamically balanced systems – HBS) (Slika 3):**



Slika 1: Hidrodinamsko nadzorovan sistem (HBS) – učinkovina se sprošča z difuzijo in erozijo prek nabrekle želatinske kapsule [13].

To so eno- ali večnotne FO, ki vsebujejo enega ali več hidrofilnih polimerov. Najpogosteje uporabljamo hidroksipropilmetilcelulozo (HPMC), poleg nje pa še hidroksietilcelulozo (HEC), hidroksipropilcelulozo (HPC), agar, karagenane, alginsko kislino, polikarbonat, poliakrilat in polistiren [1][7]. Polimer v stiku z želodčnim sokom nabrekne, ohranja integriteto in gostoto, manjšo od želodčne vsebine. Zračni mehurčki, ujeti v notranjosti nabreklih matriksa, pa omogočajo plovnost teh FO. Suha notranjost teh sistemov deluje kot rezervoar za učinkovino. Prehod učinkovine iz FO je uravnan z nadzorovano difuzijo skozi gelsko plast in tako je sproščanje učinkovine upočasnjeno [1].

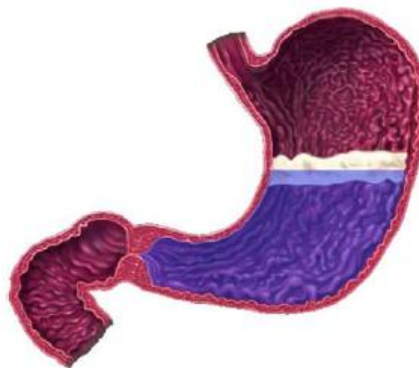
Zelo težko je sočasno zagotoviti plovne lastnosti in želene lastnosti sproščanja HBS. Zato so razvili dvoplastne tablete, kjer ena plast skrbi za plovnost in druga za nadzorovano sproščanje. Tako optimizirajo vsako plast tablete posebej [3].

– **Sistemi z nizko gostoto:** Narejeni so iz materialov z nizko gostoto, v njihovi notranjosti je ujet zrak ali olje. Večinoma gre za večnotne sisteme, ki se zaradi jedra z

nizko gostoto imenujejo tudi mikrobalon. Prednost teh sistemov je, da takoj splavajo, saj je gostota manjša kot 1g/cm^3 [1][1].

3.2.1.2 SISTEMI, KI TVORIJO PLIN Z INTERAKCIJO Z ŽELODČNO TEKOČINO:

– **Sistemi, ki so podobni splavu:** V tem primeru v kapsulo vgradimo mešanico natrijevega ali kalcijevega alginata, snovi, ki v stiku z želodčno vsebino tvori CO_2 , ter učinkovino. V želodcu alginati tvorijo viskozen, koheziven gel, v katerega se ujamejo mehurčki CO_2 , ki se sprošča ob stiku karbonatnih/bikarbonatnih ionov z želodčno tekočino. Tako nastane viskozna, gelska plast, ki plava na površini želodčne vsebine in ima višji pH kot sama želodčna vsebina. FO običajno vsebujejo antacide, npr. aluminijev hidroksid ali kalcijev karbonat, za zmanjšanje kislosti v želodcu ali antibiotike za zdravljenje okužb s *H. pylori*. Ker takšni sistemi prekrivajo celotno površino želodčne vsebine, preprečujejo njeno iztekanje nazaj v požiralnik (Slika 5). Na tržišču je že nekaj registriranih zdravil na osnovi splavu podobnih sistemov, za zdravljenje gastroezofagalnega refluksa [1][7].

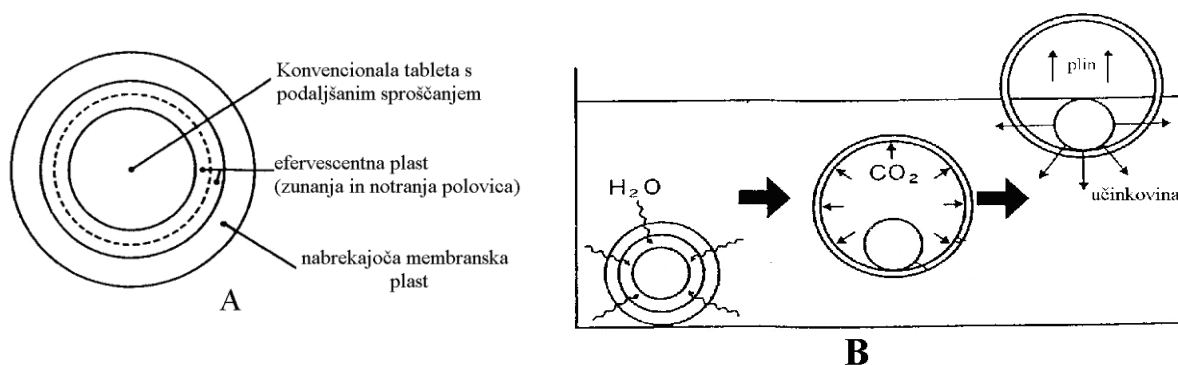


Slika 2: Sistem, ki tvori splav na površini želodčne vsebine [1].

– **Sistemi, ki tvorijo plin:** Polimer v teh sistemih (HPMC, metilceluloza, hitosan, ksantan) ob stiku s tekočino nabrekne in tvori ogrodje, efervescentna vsebina pa tvori plin – CO_2 (Slika 3). Za tvorbo CO_2 so odgovorne snovi, kot sta natrijev hidrogenkarbonat ali kalcijev karbonat, ki pod kislimi pogoji razpadejo, pri čemer se sprošča plin. Zaradi tega se v tableto lahko vgradi tudi kislina (citronska, vinska). Nekateri sistemi za sproščanje CO_2 izrabljajo kislino želodčne vsebine, saj se ob stiku s kislim želodčnim sokom sproščajo mehurčki, ki se ujamejo v gel nabreklih hidrokoloide [15], zato se gostota dostavnega sistema zmanjša pod 1g/cm^3 .

Omeniti velja, da karbonati poleg izboljšane plovnosti na začetku ustvarjajo alkalno mikrookolje za polimere, ki tako lahko tvorijo gel. Sproščanje CO_2 omogoča hitrejšo

hidratacijo tablete, kar je pomembno za tvorbo bioadhezivnega hidrogela, ki tako poleg plavanja predstavlja dodaten mehanizem (bioadhezija) zadrževanja tablete v želodcu [7].



Slika 3: a) primer dvoplastne plavajoče FO, b) princip delovanja sistema, ki tvori plin. [13]

3.2.2 PLAVAJOČ DOSTAVNI SISTEMI ZA ZDRAVLJENJE OKUŽB S *H. PYLORI*

Plavajoče FO so odličen dostavni sistem za zdravljenje okužb s *H. pylori*. Zdravljenje teh okužb zahteva zadrževanje visokih koncentracij učinkovine na mestu delovanja [1]. Za to je treba izpolniti naslednje pogoje: (a) zmožnost čim hitrejšega povišanja koncentracije antibiotika nad minimalno inhibitorno koncentracijo (MIC), (b) FO mora ostati v želodcu čim dlje, (c) FO mora izkazovati podaljšano sproščanje, da ohranja visoko koncentracijo učinkovine v želodcu. Plavajoči sistemi omogočajo zdravljenje okužb na svodu želodca (fundus), saj se FO nahaja bliže tega dela [7], vendar pa se učinkovina z difuzijo porazdeli tudi po drugih delih želodca. Pri pripravi plavajočih sistemov je potrebna pazljivost, saj so pri okuženih s *H. Pylori* opazili občuten padec kislosti želodčne vsebine. Pri nekaterih bolnikih je pH narasel celo do vrednosti 6, kar zmanjšuje efervescentnost in s tem lahko zmanjša plovnost FO [1].

Leta 1994 so v družbi Reckritt and Colman Product dobili patent, sistem, podoben splavu (raft-forming formulation), ki je vseboval triklosan, ki je učinkovit konzervas in protimikrobna učinkovina. Učinkovino so zmešali z alginsko kislino, natrijevim bikarbonatom, kalcijevim karbonatom in manitolom. Zmes so nato granulirali, dodali citronsko kislino in pakirali kot praške ali pa stisnili v tablete. Ko je zmes prišla v stik s kislimi pogoji v želodcu, sta karbonat in bikarbonat (efervescentni snovi) tvorili CO₂, zato je zmes, ki jo tvori alginat, splavala in tvorila splav [16].

Umamaheshwari in sodelavci so razvili polikarbonatne mikrobalone s tehnologijo tvorbe emulzije (o/v) z odparevanjem topila. *In vitro* študije so pokazale, da so mikrobaloni plavali 12 ur in izkazovali želen profil sproščanja, uspešnost so potrdili tudi v *in vivo* študijah. Podobno so formulirali tudi plavajoče bioadhezivne mikrosfere, ki so jih obložili z 2% (v/v) raztopino polikarbofila. Ponovno so *in vitro* in *in vivo* študije pokazale velik potencial, saj mikrosfere izkazujejo kombinacijo bioadhezivnih in plavajočih lastnosti [17].

Sahasathian in sodelavci so pripravili in ocenili plavajoče kroglice, ki vsebujejo učinkovino amoksicilin, kot polimer pa sta glavna hitosan in alginat. Pokazale so odlično sposobnost plavanja, visoko učinkovitost enkapsuliranja, možnost vgrajevanja velike količine učinkovine in visoko mukoadhezija v *in vitro* poskusih [18].

Yang in sodelavci so osnovali sistem, ki tvori plin ob stiku z želodčno sluznico. Izdelali so triplastno tableto. Prva plast vsebuje polietilen oksid, HPMC in natrijev bikarbonat/kalcijev karbonat. Drugo nabrekajočo plast sestavljajo polietilenoksid, tetraciklin hidroklorid in metronidazol. Tretja plast, s takojšnjim sproščanjem, pa vsebuje bizmutovo sol. To je primer farmacevtske oblike, ki vsebuje vse tri učinkovine izbora za zdravljenje okužb s *H. pylori* [19].

Zheng in sodelavci so razvili plavajoče bioadhezivne mikrodelce, ki vsebujejo klaritromicin s kombinirano metodo emulgiranja z odparevanjem in ionskim geliranjem, ki so v želodcu ostali 4 ure [20].

Tokumura in sodelavci so pripravili tablete z amoksicilinom, ki splavajo v želodcu. Pripravili so jih na osnovi hidroksipropilceluloze, citronske kisline in natrijevega hidrogenkarbonata [21][27].

Muralidhar in sodelavci so razvili HBS s klaritromicinom, ki se po aplikaciji zadrži v želodcu in ima želen profil sproščanja z lokalnim delovanjem v želodcu. Z metodo mokrega granuliranja so pripravili plavajoče tablete s klaritromicinom [22].

3.2.3 MUKOADHEZIJA

Bioadhezivni sistemi so namenjeni lokalni dostavi učinkovine v lumen želodca. Osnova slednjih je sposobnost adhezije polimera na glikoproteine mukusa želodčne sluznice na osnovi nastanka vodikovih in Van der Waalsovih vezi po adsorpcijski ter elektrostatskih vezi po elektronski teoriji [1]. Testi *in vivo* so v večini primerov pokazali, da mukoadhezivni polimeri ne upočasnijo signifikantno prehoda FO skozi prebavni trakt. Razlog je najverjetneje stalno in hitro obnavljanje želodčnega mukusa in nespecifičnost interakcij med polimeri in snovmi iz okolja. Tako se lahko polimeri vežejo tudi na druge snovi (ostanke hrane, dele želodčne sluzi, ki prosto plava v želodcu) in tako zmanjšajo svojo sposobnost nastanka interakcij z mukusom. Včasih je lahko problematično tudi draženje zaradi tesnega stika s sluznico, zlasti če je učinkovina ulcerogena. Kljub temu nekateri strokovnjaki proučujejo različne bioadhezivne materiale, ki bi jih lahko uspešno uporabili zlasti za zdravljenje infekcij s *H. pylori* [10].

3.2.4 MUKOADHEZIJA KOT DOSTAVNI SISTEMI ZA ZDRAVLJENJE OKUŽB S H. PYLORI

Nagahara in sodelavci so formulirali mukoadhezivne mikrosfere, ki vsebujejo amoksisicilin. Dispergirali so učinkovino in polimere (karboksivinilni polimer in curdlan ter mleto hidroženirano ricinusovo olje). To so primerjali s suspenzijo amoksisicilina in ugotovili 10-krat večjo aktivnost mikrosfer proti infekciji s *H. pylori* v primerjavi s suspenzijo. Podobne mikrosfere so izdelali Liu in sodelavci, z razliko, da so jih pripravili z metodo tvorbe emulzije z odparevanjem topila. Kot matriks so uporabili etilcelulozo, kot mukoadhezivni polimer pa karbopol 934P. Prav tako so v podganjem želodčnem tkivu izmerili večje koncentracije amoksisicilina kot ob aplikaciji praška amoksisicilina enakega odmerka [23].

Katayama in sodelavci so pripravili tekočo formulacijo s konstantnim sproščanjem ampicilina na osnovi natrijevega alginata. Izkoristili so lastnost, da natrijev alginat tvori trden gel, ko mu je dodana kislina oziroma dvo- ali trovalentni ioni. Avtorji predvidevajo, da se raztopina oziroma gel porazdeli in adherira na želodčni mukus ter tako neprestano sprošča antibiotik [24][25].

Hejzai in Amiji sta pripravila mikrosfere iz hitosana, na katere sta adherirala tetraciklin. Izdelala sta jih z metodo ionskega premreževanja in precipitacije z natrijevim sulfatom [25]. Prav tako so tudi Schicho Higo in sodelavci pripravili kompleks med tetraciklini in sukralfatom, ki ima odlične mukoadhezivne lastnosti [26].

Chun in sodelavci so pripravili mukoadhezivne mikrosfere, ki so vsebovale amoksisicilin ali klaritromicin in so bile izdelane s kompleksacijo poliakrilne kisline z polivinilpirolidonom z metodo difuzije topila [27].

Ramteke in sodelavci so z metodo desolvatacije pripravili mukoadhezivne nanodelce z zadržanim sproščanjem klaritromicina, pri čemer so uporabili gliadin nanodelce, kot stabilizator pa pluronic F-68 [28].

3.2.5 DOSTAVNI SISTEM NA OSNOVI TVORBE SPECIFIČNIH INTERAKCIJ ZA ZDRAVLJENJE OKUŽB S *H. PYLORI*

Mukoadhezija temelji na nespecifičnih interakcijah med polimernimi verigami in mukusom, medtem ko lahko lektin tvori specifične interakcije z epitelijem [29]. S tem ko lahko lektin prehaja epitelij, tvori interakcije z ogljikovimi hidrati, ki obdajajo celico, in s tem tvori citoadhezijo na vsako celico. Ta koncept temelji na reverzibilni receptor-ligand interakciji med specifičnimi spojinami (npr. lektinom) in površino celic v GIT. S tem molekule močno in hitro vežemo na točno določeno mesto na površino celic, ki prekrivajo želodčno sluznico [30].

Jain in sodelavci so formulirali z lektinom (konkanavalin A) konjugiran večnotni dostavni sistem, ki je kot učinkovino vseboval klaritromicin za zdravljenje infekcij s *H. pylori*. Mikrosfere so pripravili iz etilceluloze s postopkom emulgiranja z izhlapevanjem topila. Z gamascintigrafijo so opazovali čas zadrževanja FO v želodcu pri zajcih [31]. Prav tako so Umamaheshwari in sodelavci podobno formulacijo uporabili za ugotavljanje uspešnosti zdravljenja okužb s *H. pylori*. Kot specifični ligand, vezan na FO, so uporabili fosfatidiletanolamin (PE), katerega specifični receptor se nahaja na bakteriji *H. Pylori*. S tem so dosegli tarčno ciljanje, saj so FO vezali neposredno na bakterijo [32].

3.3 HELICOBACTER PYLORI (*H. pylori*)

Leta 1982 sta Robin Warren in Barry Marshal potrdila povezavo okužbe s *Helicobacter pylori* z gastritisom ter razjedami želodca in dvanajstnika, kar je spremenilo obravnavo tovrstnih bolnikov [33]. *H. pylori* je Gram negativna mikroaerofilna spiralna bakterija, dolga približno 3 μm in s premerom okoli 0,5 μm [34]. Na enem polu ima od 4 do 7 zadebeljenih bičkov, ki ji omogočajo svedrasto gibanje. V neugodnih razmerah pa se lahko spremeni v vijačno ali kokoidno obliko. Izloča encim ureazo, ki katalizira razgradnjo sečnine v želodcu in želodčni sluznici do amoniaka in bikarbonata, kar povzroči nevtralizacijo okolice bakterije in hkrati okvaro želodčne sluznice [35]. Vsebuje tudi encim hidrogenazo, ki pomaga bakteriji pridobiti energijo z oksidacijo molekulskega vodika, proizvedenega v bakterijah črevesne flore [36]. Prav tako proizvaja tudi oksidazo in lahko tvori biofilm [37]. Pomembna sta tudi vakuolizirajoči toksin (VacA) in citotoksični protein (CagA). Toksin VacA je glavni virulenčni dejavnik pri boleznih, povezanih s *H. pylori*. Aktivira se po krajši izpostavljenosti nizkemu pH-ju, tako aktiviran pa je odporen na želodčno kislino in pepsin ter tako povzroči vakualizacijo v epitelijskih celicah in njihov propad [38]. Citotoksični protein povzroči proizvodnjo interleukina-8 v želodčni sluznici, ki kemotaksično privablja nevtrofilce in omogoča njihovo adhezijo na endotelij in s tem stimulira nastajanje kisikovih radikalov, kar privede do lokalnega vnetja. K temu pripomore tudi trombocite spodbujajoči dejavnik (PAF – platelet activating factor), ki prav tako deluje proinflamatorno. Prav tako tudi številne fosfolipaze in proteaze razgrajujejo sluz in naredijo sluznico še ranljivejšo [39].

S *H. pylori* je okužena več kot polovica človeštva, vendar se klinično pomembni simptomi razvijejo le pri 20 %. V zadnjih letih se v razvitih državah, kot tudi v Sloveniji, zaradi izboljšanih higienskih in bivalnih razmer ter zaradi uspešnega eradikacijskega zdravljenja število okužb s *H. pylori* zmanjšuje. Prevalenca okužbe v Sloveniji je 25,1 % (10). Pri okoli 20 % okuženih s *H. pylori* pa nastanejo razjede na želodcu in dvanajstniku, limfom MALT (*angl.* Mucosa-associated lymphoid tissue) ali rak na želodcu. Okužba poveča tudi nevarnost ulkusnih krvavitev ob dolgotrajnem jemanju nesteroidnih protivnetnih zdravil ali acetilsalicilne kisline [40]. Okužba s *H. pylori* povzroči kronično vnetje in posledično nezdravljena okužba vodi v atrofijo in intestinalno metaplazijo v želodcu, kjer se zmanjša izločanje želodčne kisline, gastrina in pepsina.

Mednarodna organizacija za raziskavo raka (IARC) je leta 1994 *H. pylori* opredelila za kancerogen I. reda [41]. Za rakom želodca zbolijo od 1 do 2 % okuženih bolnikov, okužba s *H. pylori* pa povzroči kar 65 % rakov želodca. Ob zgodnjem odkrivanju – zlasti pri mlajši populaciji (med 20. in 30. letom), ko v sluznici želodca še ni predrakavih sprememb, in ob odstranitvi okužb – bi lahko incidenco želodčnega raka zmanjšali za 45 % [40].

3.3.1 DIAGNOSTIKA

Okužba s *H. pylori* je vzrok velikega števila bolezni želodčne sluznice, zato je najpomembnejša njena eradikacija. Za ugotavljanje prisotnosti okužbe imamo na voljo več diagnostičnih metod, ki jih delimo med invazivne in neinvazivne. Invazivni testi temeljijo na endoskopskih vzorcih iz želodca, pri katerih na osnovi ureaznega testa, histološke preiskave ali kulture dokažejo prisotnost patogena. Med neinvazivne metode pa spadajo serološke preiskave, dihalni test s sečnino in dokazovanje antigenov Hp v blatu. Če so pri pacientu prisotni znaki, kot so GI krvavavitve, nepričakovana izguba telesne teže, anemija ali ponovitev dispepsije, pri bolnikih, starejših od 50 let, kot diagnostični test uporabijo invazivne teste z endoskopije.

Najpogosteje se uporablja ureazni test, pri katerem biopsijski vzorec postavijo v raztopino ali gel, ki vsebuje sečnino, skupaj z indikatorjem pH. Pri testu izkoriščajo, da prisotna Hp vsebuje ureazo, ki razgradi sečnino. S tem postane okolica bolj alkalna in s tem se spremeni barva indikatorja. Na rezultat je treba počakati najmanj 20 minut, za dokončno potrditev pa en dan. Prednost testa je predvsem v nizki ceni [43].

Histološki pregled tkiva nam da poleg odgovora o prisotnosti patogena tudi informacijo, ali je nastala želodčna atrofija ali intestinalna metaplazija. S celično kulturo pa na gojišču opazujemo, če je zrasla Hp. Največkrat se test uporablja za določitev odpornosti na antibiotike.

Serološke preiskave vključujejo detekcijo IgG-protiteles proti Hp v vzorcu krvi. Slabost teh metod je, da z njimi ne moremo z zanesljivostjo ločiti še navzoče od že ozdravljene okužbe, saj protitelesa ostanejo v organizmu tudi več let po ozdravitvi.

Sečninski dihalni test je enostaven in temelji na ureazni aktivnosti Hp. Pacient pred in po zaužitju testnega obroka, ki vsebuje označeno sečnino z ^{13}C - ali ^{14}C -izotopi, piha v

epreveto. Ob prisotnosti patogena zaznamo v izdihanem zraku porast označenega CO₂. Če bakterija ni prisotna, se označena sečnina hidrolizira šele v debelem črevesu pod vplivom bakterij, ki so del normalne črevesne flore [43].

3.3.2 PRIPOROČILA ZA ZDRAVLJENJE OKUŽB S *HELICOBACTER PYLORI*

Evropsko združenje za raziskave *H. pylori* je na konferenci v Maastrichtu predlagalo kot zdravljenje sedemdnevno shemo zdravljenja (Preglednica 1) [44]:

Preglednica 1: Prva shema zdravljenja okužb s *Helicobacter pylori*

Učinkovina	Odmerek	Odmerjanje
Zaviralec protonske črpalke (ZPČ) ali ranitidin bizmut citrat (RBC)	Standardni odmerek (npr. omeprazol 20 mg) 1 tbl	2-krat na dan
Klaritromicin	500 mg	2-krat na dan
Amoksisicilin ali metronidazol	1000 mg 500 mg	2-krat na dan

Priporočena shema zdravljenja je uporaba klaritromicina v kombinaciji z amoksisicilinom zaradi potencialno boljših rezultatov zdravljenja kot z drugo shemo, v kateri je metronidazol, v primeru, da le-ta ni bil uporabljen v prvi shemi zdravljenja. Ob neuspehu s prvo shemo priporočila iz Maastrichta svetujejo drugo, najmanj sedemdnevno shemo (Preglednica 2):

Preglednica 2: Druga shema zdravljenja okužb s *Helicobacter pylori*

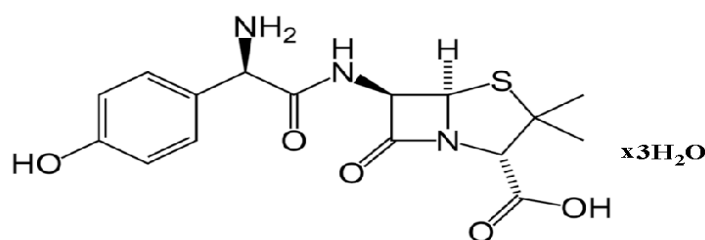
Učinkovina	Odmerek	Odmerjanje
Zaviralec protonske črpalke (ZPČ)	Standardni odmerek	2-krat na dan
Bizmutov subsalicilat ali subcitrat	120 mg	4-krat na dan
metronidazol	500 mg	3-krat na dan
oksitetraciklin	500 mg	4-krat na dan

V državah, kjer bizmuta ni na voljo, kot drugo terapevtsko shemo predpišejo tritirno terapijo (ZPČ, amoksisicilin, metronidazol). V primeru neuspeha pri zdravljenju po obeh priporočenih shemah nadaljnje možnosti zdravljenja določi specialist gastroenterolog na

osnovi antibiograma antibiotikov, ki so še na voljo. V zadnjem času se uveljavljata predvsem nova antibiotika, in sicer rifabutin in furazolidin [45]. Ena od možnosti zdravljenja okužb s *H. pylori* v primeru nedostopnosti bizmutovih preparatov in furazolidina je tudi dvotirno zdravljenje z visokimi odmerki ZPČ in amoksicilina (ZPČ 3 x 40 mg, AMX 3 x 100 mg) [46], saj je učinek AMX zelo odvisen od pH želodčnega soka, zato se predpišejo višji odmerki ZPČ.

3.4 AMOKSICILIN

Molekulska formula amoksicilina trihidrata je $C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$. Molekulska masa amoksicilin trihidrata je 419,4 g/mol, brezvodnega amoksicilina (AMX) pa 365,41 g/mol. Kemično je AMX 6-[2-(p-hidroksifenil)acetamido]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-aza-biciklo-[3.2.0]-heptan-2-karboksilna kislina (Slika 4). Amoksicilin je bel ali skoraj bel kristaliničen prašek, težko topen v vodi in etanolu ter praktično netopen v maščobnih kislinah. Razpada v razredčenih kislinah in razredčenih raztopinah alkalijskih hidroksidov [47].



Slika 4: Strukturna formula amoksicilin trihidrata [48]

AMX je širokospektralni β -laktamski penicilinski antibiotik in je tako dosti bolj odporen na inaktivacijo z želodčno kislino kot nekateri drugi penicilini (ampicilin, benzilpenicilin), zato ga lahko dajemo tudi peroralno [49]. AMX je stabilen v pH območju med 2 in 9, saj se nahaja v obliki zwitteriona in s tem v manj topni obliki. Negativen naboj povzroči ionizacija karboksilne skupine ($pK_a = 2,87$), pozitiven pa protonacija aminske skupine ($pK_a = 7,28$). Pri pH nad 11 pa fenolna hidroksilna skupina ionizira, kar povzroči dobro topnost amoksicilina. Ugotovili so, da je razpolovni čas AMX v mediju s pH 2 19 ur, v umetnem želodčnem soku po 15,2 ure, pri višjem pH pa razpada še počasneje. Znanstveniki tudi trdijo, da je stabilnost AMX v želodčnem soku zadostna za zadrževanje antibakterijske koncentracije v želodcu [50]. V pripravkih se AMX pogosto uporablja

skupaj s klavulansko kislino, ki je inhibitor β -laktamaze. S tem se spekter delovanja poveča na seve, ki proizvajajo ta encim. [51][52].

AMX deluje baktericidno proti Gram pozitivnim in Gram negativnim bakterijam. Zavira enega izmed encimov (penicilin vezoči proteini, PBP – *penicilin-binding proteins*) pri sintezni poti bakterijskega peptidoglikana. Z inhibicijo sinteze peptidoglikana privede do oslabitve celične stene in posledično lize celice in smrti bakterije. Učinkovitost antibiotika je povezana s časom nad minimalno inhibitorno koncentracijo ($t > \text{MIK}$). Glavni problem je predvsem kratek razpolovni čas v plazmi, kar zahteva pogostejše odmerjanje učinkovine in posledično slabšo komplianco pacientov. Prav temu problemu se želimo izogniti z GRDDS [53].

Na minimalno inhibicijsko koncentracijo antibiotikov močno vpliva pH želodčnega soka (Preglednica 3).

Preglednica 3: Minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) antibiotikov za zdravljenje okužbe s *Helicobacter pylori* glede na pH želodčnega soka [54].

Antibiotik	MIK (MIC) 90 (mg/l)		
	pH 7,5	pH 6,0	pH 5,5
Penicilin	0,03	0,5	0,5
Ampicilin	0,06	0,25	0,5
Cefaleksin	2	16	32
Eritromicin	0,06	2	8
Klaritromicin	0,03	0,06	0,25
Ciprofloksacin	0,12	0,5	2
Tetraciklin	0,12	0,25	0,5
Nitrofurantoin	1	2	2
Metronidazol	2	2	2
Bizmut subcitrat	16	8	

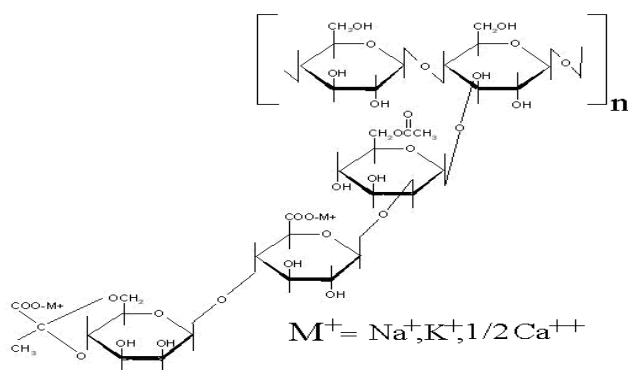
Vzrok neuspešnosti zdravljenja z antibiotiki je največkrat pojav odpornosti bakterije *H. pylori* zaradi kromosomske mutacije, redkeje pa zaradi transformacije (genske izmenjave med bakterijami) [54].

Za AMX je značilna majhna toksičnost, vendar je med daljšim zdravljenjem priporočljivo redno spremljanje hematopoeze, delovanja ledvic in jeter. Kot neželeni učinki se največkrat pojavljajo izpuščaji na koži, pa tudi driska, slabost in bruhanje. Uporaba je kontraindicirana pri bolnikih, ki so preobčutljivi za AMX ali katerikoli drug

penicilinski antibiotik, ter pri bolnikih, ki so po terapiji z AMX razvili holestazno zlatenico ali drugo jetrno okvaro [51]. Uporablja se za zdravljenje sistemskih infekcij ter akutnih in kroničnih infekcij urinarnega trakta. Poleg tega se uporablja za zdravljenje peptičnih ulkusov, kar se doseže z izkoreninjenjem bakterije *H. pylori*. V tem kontekstu velja skupaj s klaritromicinom in metronidazolom za zdravilo izbora [55].

3.5 KSANTAN

Ksantan (XAN) je anionski naravni polimer, ki ga izločajo bakterijske vrste *Xantomonas capestris* v okolje z namenom, da jih ščiti pred visoko temperaturo in vplivom svetlobe. Glavna linearna veriga je sestavljena iz β -D-glukoze, povezane z β -1,4-glikozidnimi vezmi. Na C(3)koncu vsakega glukoznega ostanka je trisaharidna stranska veriga, ki vsebuje ostanek glukuronske kisline, med dvema manozama (Slika 5). Terminalna β -D-manoza je z β -1,4-glikozidno vezjo povezana na glukuronsko kislino, ki je z α -1,2-glikozidno vezjo vezana na α -D-manozo. Na približno polovici stranskih verig je na terminalno manozo vezan piruvat. Na ne-terminalni manozni so na O(6) položaju lahko vezane acetilne skupine. Količina piruvatnih in acetilnih skupin, vezanih na stranske verige, je odvisna od pogojev kultivacije in seva bakterije, le-te pa dajeta XAN-anionski značaj [56].



Slika 5: Kemijska struktura molekule ksantana [57]

Ksantan je v obliki natrijeve, kalijeve in kalcijeve soli ter je bel ali rumenobel prah, ki je dobro topen v vodi ter praktično netopen v organskih topilih [58]. Ksantan je higroskopen, ob prisotnosti vlage pa pride do hidrolize acetata in ketal piruvične kisline. V vodnih raztopinah je XAN kemijsko stabilen v širokem temperaturnem intervalu (10–90°C) in pH-območju (pH 3–12). Pri višjem pH nastane delna deacetilacija stranskih

verig, pri nižjem pH pa je v neionizirani obliki, saj so stranske verige nevtralizirane [59][60].

XAN v vodnih raztopinah tvori več različnih konformacij. Pri nizki temperaturi in visoki ionski moči se nahaja v nativni (urejeni) konformaciji. Gre za dvojno desnosučno vijačnico, ki je stabilizirana z nekovalentnimi vezmi. Pri povišani temperaturi in nizki ionski moči pa ireverzibilno prehaja v denaturirano (neurejeno) konformacijo. Dvojna vijačnica razpade na enojno verigo. Denaturirana konformacija z vodo tvori vodikove vezi, zato molekule XAN zavzemajo večjo prostornino, saj so povsem hidratirane in ujamejo veliko vode. Z nižanjem temperature in višanjem ionske moči se denaturirane verige ponovno nekoliko uredijo in XAN preide v renaturirano obliko, kjer se trisaharidne stranske verige obrnejo navznoter v heliks in ga s tem stabilizirajo. Tvori se rigidna vijačnica iz ene same molekule XAN [61][62].

V vodi in mediju z nizko ionsko močjo polimer bolj nabrekne in je bolj elastičen kot v mediju z višjo ionsko močjo, kjer je bel manj nabrekel in bolj rigiden. Splošno velja, da se z nižanjem ionske moči medija polimerna veriga daljša, prehod učinkovine čez polimerni matriks pa je počasnejši [61].

Reološke lastnosti vodnih raztopin ksantana pripisujemo urejevanju verig in orientiranju strukture polimera v smeri strižnega toka, s čimer se zmanjšuje upor tekočine proti toku. Za XAN je značilno strižno zmanjševanje viskoznosti, kar lahko pripišemo različnim konformacijam polisaharidnih molekul. To pomeni, da ima raztopina ksantana pri nizkih strižnih hitrostih in strižnih napetostih visoko viskoznost, pri visokih strižnih hitrostih/napetostih pa ima relativno nizko viskoznost [62][63][64].

Koloidne raztopine XAN so zelo viskozne in izrazito pseudoplastične tudi pri nizkih koncentracijah polimera. XAN je netoksičen in kompatibilen z večino preostalih farmacevtskih sestavin, zaradi anionskega naboja pa ni združljiv s kationskimi površinsko aktivnimi snovmi, polimeri ali konzervansi [62]. Prav zaradi teh lastnosti je zelo uporaben v prehranski industriji kot zgoščevalno sredstvo, stabilizator emulzij, nadomestek kalorični hrani, v kozmetični industriji pa v proizvodnji zobnih past in krem. Vedno več se uporablja tudi v farmacevtski industriji, in sicer kot stabilizator emulzij in suspenzij, zgoščevalno sredstvo vodnih raztopin in kot pomožna snov za izdelavo ogrodnih tablet in mikrokapsul s prirejenim sproščanjem [60][61].

4 NAMEN DELA

Cilj magistrske naloge je izdelati farmacevtsko obliko na osnovi ksantana z vgrajeno učinkovino amoksicilin trihidrat za zdravljenje okužb s *H. pylori*. Kot pristop za doseg podaljšanega zadrževanja farmacevtske oblike v želodcu bomo izbrali enoplastne plavajoče tablete.

V prvem delu bomo poskusili izdelati formulacijo, ki bo imela najbolj optimalne plovne lastnosti, profil sproščanja in konsistenco tablete po sproščanju. Na vse te lastnosti bo vplivala sestava formulacije, pogoji tabletiranja in pogoji preizkusa sproščanja. Sestavo tablet bomo spreminjali glede na dobljene rezultate že preizkušenih serij. Serijam tablet bomo izmerili enakomernost mase, trdnost tablet in vsebnost po Ph. Eur. 7 th Ed. Preizkus sproščanja učinkovine in hitrost splavanja tablet bomo izvajali na napravi z vesli v različnih medijih. Delež sproščenega amoksicilina bomo analizirali s HPLC. Na osnovi dobljenih rezultatov bomo poskušali ovrednotiti vpliv sestave ogrodja, zlasti prisotnega PVP K30 na sproščanje AMX ter na čas splavanja tablet.

Najbolj optimalno formulacijo bomo nato v drugem delu magistrske naloge preizkusili še pod drugačnimi pogoji, in sicer na napravi z recipročnimi valji, kjer bomo plavajoče tablete opazovali pod različnimi hidrodinamskimi obremenitvami. S spreminjanjem hitrosti potopov valjev na minuto želimo posnemati pogoje v želodcu na tešče med migrirajočim mioelektričnim kompleksom (MMC). Delež sproščenega amoksicilina bomo prav tako ovrednotili s HPLC-sistemom.

Na osnovi opravljenega dela bomo ugotovili, ali je izbrana formulacija res optimalna kot farmacevtska oblika za dostavo amoksicilina v želodec in s tem za zdravljenje okužb s *H. pylori*.

5 MATERIALI IN METODE

5.1 MATERIALI

Snovi, ki smo jih uporabljali pri izdelavi tablet in za izdelavo medijev za *in vitro* spremljanje sproščanja:

- Amoksicilin trihidrat, Lek, Ljubljana, Slovenija
- ksantan (xanthan gum) (MW: 2×10^6 g/mol), Sigma – Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Nemčija
- mikrokristalna celuloza (MCC), Lek, Ljubljana, Slovenija
- magnezijev stearat, Ph.Eur.6th, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- hidroksipropilmetilceluloza (HMPC K100 Premium LV), Krka, Novo mesto, Slovenija
- hidroksipropilmetilceluloza (HMPC K4M Premium EP), Krka, Novo mesto, Slovenija
- hydrogenirano ricinusovo olje, Lex, Koper, Slovenija
- polivinilpirolidon (PVP K30), Lek, Ljubljana, Slovenija
- natrijev hidrogenkarbonat (99,7–100,3 %), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- kalijev dihidrogenfosfat (99,5–100,5 %), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- natrijev klorid (99,49 %), Lex, Koper, Slovenija
- acetonitril (> 99,9 %), Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- klorovodikova kislina, Titrisol[®] za pripravo $c_{(\text{HCl})} = 1 \text{ mol/l}$, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- kalijev hidroksid, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija

5.2 NAPRAVE

- precizna tehtnica, Mettler Toledo AG 245, Schwerzenbach, Švica
- digitalna tehtnica, Exacta 2200 EB, Tehtnica, Železniki, Slovenija
- pH-meter, MA 234, Mettler Toledo, pH/ion Analyzer, Schwerzenbach, Švica
- sušilnik za steklovino, SE 02, Elektromedicina, Zagreb, Hrvaška
- hidravlična tabletirka, SP 300, Kilian & co., Köln, Nemčija
- naprava za merjenje trdnosti tablet, Vanderkamp[®], VK 200 Tablet hardness tester, Varian, ZDA

- naprava z vesli (USP 2), Van Kel VK 7000, Varian, ZDA
- naprava z recipročnimi valji (BioDis), VanKel, Bio-Dis 3 Testing Station/ USP Apparatus 3, 25-1100 Varian, ZDA
- grelec za sistem za testiranje sproščanja, Van Kel VK 750D, Varian, ZDA
- sistem za visokotlačno tekočinsko kromatografijo (HPLC), K-501, Knauer, Berlin, Nemčija; UV detektor, 2151 variable wavelength monitor, LKB, Bromma, Švedska; kolona: Phenomenex, Synergi 4u Polar 80A, 5 μm , 250 $\times$ 4,6 mm, USA; predkolona: Phenomenex SecurityGuard Cartridges Polar-RP 4 $\times$ 3,0 mm; programska oprema, Barspec Data System, Version No. 1.26, Barspec Systems. Izrael
- ultrazvočna kadička, Sonis 4, Iskra, Kranj, Slovenija
- magnetno mešalo, RH basic 2, IKA[®] Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Nemčija
- filtri Full Flow[™], velikost por 10 μm , Varian, ZDA
- celulozni acetatni filtri, velikost por 0,45 μm , Sartorius AG, Nemčija

5.3 POSTOPKI IN METODE

5.3.1 PRIPRAVA MEDIJEV

Natančna kvantitativna sestava posameznih medijev za spremljanje razpadnosti učinkovine in sproščanja le-te iz ogrodnih tablet je opisana v *Preglednici 4*. Opisani so tudi postopki priprave medijev. Pripravljali smo jih sproti in uporabili še isti dan. Opisana je priprava za 1 l medija. Kadar smo pri delu potrebovali večje količine medija (2 ali 5 l), smo količino surovin ustrezno preračunali.

– Izdelava medija pH 1,2 (M1)

Litrsko bučko smo približno do polovice napolnili s prečiščeno vodo. S pipeto smo odpipetirali 80 ml 1M HCl (0,08 mola), prelili v bučko in dodali 11,69 g NaCl. Vsebinsko smo dopolnili s prečiščeno vodo, dobro pretresli in izmerili pH medija. Pripravljen medij je imel pH $1,2 \pm 0,05$ in ionsko moč $\mu = 0,08 \text{ M}$.

– Izdelava medija pH 1,2 z dodatkom NaCl (M1*)

Litrsko bučko smo približno do polovice napolnili s prečiščeno vodo. Z merilnim valjem smo odmerili 80 ml 1M HCl (0,08 mola), jo prelili v bučko in dodali 7,01 g NaCl. Vsebinsko smo dopolnili s prečiščeno vodo do volumna približno 900 ml in močno pretresli, da se je raztopil ves NaCl, in izmerili pH medija. Pripravljen medij je imel pH $1,2 \pm 0,05$ in ionsko moč $\mu = 0,2 \text{ M}$.

– **Izdelava medija pH 2 (M2)**

Litrsko bučko smo približno do polovice napolnili s prečiščeno vodo. S pipeto smo odpipetirali 10 ml 1M HCl (0,01 mola) in prelili v bučko. Vsebino smo dopolnili s prečiščeno vodo, dobro pretresli in izmerili pH medija. Pripravljen medij je imel $\text{pH } 2,0 \pm 0,05$ in ionsko moč $\mu = 0,01 \text{ M}$.

– **Izdelava medija pH 2 z dodatkom NaCl (M2*)**

Litrsko bučko smo približno do polovice napolnili s prečiščeno vodo. Z merilnim valjem smo odmerili 10 ml 1 M HCl (0,01 mola), jo prelili v bučko in dodali 11,11 g NaCl. Vsebino smo dopolnili s prečiščeno vodo do volumna približno 900 ml in močno pretresli, da se je raztopil ves NaCl, in izmerili pH. Pripravljen medij je imel $\text{pH } 1,2 \pm 0,05$ in ionsko moč $\mu = 0,2 \text{ M}$.

– **Izdelava medija pH 3 (M3)**

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

– **Izdelava medija pH 4,5 (M4)**

Litrsko bučko smo približno do polovice napolnili s prečiščeno vodo. Nato smo natehtali 1,955g NaCH_3COO (oziroma 2,99 g $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$), ga kvantitativno prenesli v litrsko bučko in dobro pretresli, da se je vse raztopilo. Nato smo v litrsko bučko dodali še 14 ml 2M očetne kisline (2M očetno kislino smo pripravili tako, da smo 116 ml koncentrirane očetne kisline prenesli v litrsko bučko in dopolnili s prečiščeno vodo do oznake) in s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. Tako pripravljen medij je imel $\text{pH } 4,5 \pm 0,05$ in ionsko moč $\mu = 0,023 \text{ M}$.

– **Izdelava medija pH 6,8 (M5)**

Najprej smo pripravili raztopino A, tako da smo na elektronski tehtnici natehtali 27,2 g KH_2PO_4 , ga kvantitativno prenesli v litrsko bučko in s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. Nato smo pripravili raztopino B, tako da smo na elektronski tehtnici natehtali 71,6 g K_2HPO_4 , ga kvantitativno prenesli v litrsko bučko in s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. 510 ml raztopine A smo dodali 490 ml raztopine B. Tako pripravljeni

raztopini smo z 1M raztopino H_3PO_4 uravnali vrednost pH na $6,8 \pm 0,05$. Pripravljen medij je imel ionsko moč $\mu = 0,71 \text{ M}$.

Preglednica 4: Oznaka in sestava medijev, ki smo jih uporabili pri preizkusih, preračunano za volumen 1 l.

Oznaka medija	Sestava medija	pH medija	Ionska moč (M)
medij 1 (M1)	prečiščena voda + 80 ml 1 M HCl	1,2	0,08
medij 1* (M1*)	prečiščena voda + 80 ml 1 M HCl + 7,01 g NaCl	1,2	0,2
medij 2 (M2)	prečiščena voda + 10 ml 1 M HCl	2	0,01
medij 2* (M2*)	prečiščena voda + 10 ml 1 M HCl + 11,1 G NaCl	2	0,2
medij 3 (M3)	prečiščena voda + 1ml 1 M HCl	3	0,001
medij 4 (M4)	prečiščena voda + 1,955g NaCH_3COO + 14 ml 2M očetne kisline	4,5	0,023
medij 5 (M5)	510 ml KH_2PO_4 (27,2g/l) + 490 ml K_2HPO_4 (71,6 g/l)	6,8	0,71
medij 6 (M6)	prečiščena voda	7,4	

5.3.2 IZDELAVA TABLET

Z metodo direktnega stiskanja smo izdelali tablete z učinkovino amoksicilin trihidrat in osnovnim nosilnim polimerom ksantanom. Pri izdelavi optimalne formulacije smo uporabili še druge pomožne snovi, kot so hidroksipropilmetilceluloza (K4M, K100LV), natrijev hidrogenkarbonat, magnezijev stearat, mikrokristalna celuloza (MCC), hidrogenerano ricinusovo olje in polivinilpirolidon (PVP K30).

Za izhodiščno formulacijo smo uporabili serijo 34 iz diplomske naloge Urbana Kranjca [68]. Mase za tabletiranje smo običajno pripravili za približno 25 tablet, pri končni izbrani seriji pa smo pripravili maso za 40 tablet. Prahove smo dodajali po pravilu rastočih mas in zmes mešali v pateni vsaj 20 minut, da je bila homogena. Zmes smo nato ročno raztehtali glede na maso tablete izbrane serije in na hidravlični tabletirki Kilian SP 300 stisnili tablete z ustrezno trdnostjo. Uporabljali smo okrogle pečate s premerom 12 mm in ravno površino. Med tabletiranjem smo spremljali trdnost tablet in s spreminjanjem položaja pečatov le-to ustrezno prilagodili. Izdelanim serijam tablet smo določili enakomernost trdnosti, mase in vsebnosti ter spremljali sproščanje zdravilne učinkovine iz ogrodnih tablet.

Sestava izdelanih tablet je predstavljena v Preglednici 5.

Preglednica 5: Sestava formulacij plavajočih tablet. V tabeli je navedena masa za amoksisicilin trihidrat (AMX x3H₂O), ki ustreza masi 100 mg amoksicilina (aktivna komponenta). Vse vrednosti so v miligramih. XAN – ksantan, HPMC – hidroksi propilmetil celuloza, NaHCO₃ – natrijev hidrogenkarbonat, MS – magnezijev stearat, PVP K30 – povidon.

Sestavine Serija	AMX x3H ₂ O	XAN	HPMC	NaHCO ₃	MS	MCC	Hidrogenirano ricinusovo olje	PVP K30	Masa 1 tablete
1.	114,8	180,2		100	5	100			500
2.	114,8	180,2		100	5	100			500
3.	114,8	90,2		100	5	100			410
4.	114,8	90,2		140	5	100			450
5.	114,8	50,2	HPMC K100LV 50	100	5	100			420
6.	114,8	90,2		100	5	100	40		460
7.	114,8	90,2		100	5	90		60	460
8.	114,8	50,2	HPMC K100LV 50	100	5	80		50	450
9. a	114,8	100,2		100	5	90		90	500
10.	114,8	50,2	HPMC K4M 50	100	5	80		50	500
11.	114,8	50,2	HPMC K4M 50	100	5	90		90	500
12.	114,8	120,2		130	5	90		80	540
9. b	114,8	110,2		110	5	120		40	500

5.3.3 DOLOČANJE FARMACEVTSKOTEHNOLOŠKIH PARAMETROV TABLET

5.3.3.1 ENAKOMERNOST MASE ENODMERNIH FARMACEVTSKIH OBLIK

Preizkus enakomernosti mase smo izvajali po predpisu, navedenem v Ph. Eur. 7th Ed., v poglavju 2.9.5. (Uniformity of Mass of Single Dose Preparation). Stehtali smo 20 tablet iz vsake serije in določili povprečno maso. Pri tabletah, težjih od 250 mg, lahko največ 2 masi tablet odstopata od povprečja za več kot 5 %, nobena masa tablete pa ne sme odstopati od povprečja za več kot 10 % [47]. Kot rezultat smo podali povprečno maso tablet, največjo in najmanjšo maso in standardno deviacijo (SD).

5.3.3.2 TRDNOST TABLET

Preizkus trdnosti tablet smo izvedli po predpisu, navedem v Ph. Eur. 7th Ed., v poglavju 2.9.8. (Resistance to Crushing of Tablets). Poskus smo izvajali na napravi za merjenje trdnosti tablet (Vanderkamp®). Tableto smo položili v vodoravni položaj (z večjo, ravno ploskvijo navzdol) med premični in statični del naprave. Premični del potiska tableto ob statični del, dokler tableta ne počí. Trdnost tablete pomeni najmanjšo silo, izraženo v njutonih (N), ki je potrebna, da tableta počí ali se poškoduje. Zaradi omejenega števila tablet smo trdnost določili na manjšem številu tablet, kot ga predpisuje farmakopeja (5 tablet). Kot rezultat smo podali povprečno vrednost trdnosti, najmanjšo in največjo trdnost in standardno deviacijo.

5.3.4 IZVAJANJE POSKUSOV SPROŠČANJA

5.3.4.1 IZDELAVA UMERITVENE PREMICE

Umeritveno premico za sproščanje amoksicilina (AMX) smo izvajali v šestih medijih (Preglednica 4). Za vsak medij smo izdelali umeritveno premico. V 100-ml merilno bučko smo natančno natehtali približno 23–24 mg amoksicilina trihidrata (kar ustreza 20–21 mg amoksicilina) in z medijem dopolnili do oznake. Bučko smo dali za nekaj minut v ultrazvočno kadičko, da se je ves AMX raztopil. Tako smo dobili osnovno raztopino (c_0) s koncentracijo 0,20 mg/ml. Iz vsake osnovne raztopine smo z merilnimi pipetami odvzeli določene volumne in jih ustrezno redčili. Faktor redčenja in koncentracija dobljene raztopine sta prikazana v Preglednici 6.

Preglednica 6: Redčenje pri pripravi umeritvene premice

Redčitve ml (c_0)/ml bučke	Faktor redčenja	koncentracija AMX [mg/mL]
5/10	2	0,100
5/20	4	0,050
1/10	10	0,020
1/20	20	0,010
1/50	50	0,004
1/100	100	0,002

Vse smo delali v dveh paralelkah. Tem raztopinam smo s HPLC določili površino pod krivuljo. S pomočjo linearne regresije smo izračunali enačbo premice in določili

kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2). Umeritveno premico smo pripravili za medij 1 in 2. Rezultate smo predstavili grafično.

5.3.4.2 HPLC DETEKCIJA SPROŠČENE UČINKOVINE

Iz podatkov v literaturi smo določili primerno mobilno fazo (49). Ta je bila sestavljena iz raztopine A in B v volumskem razmerju A : B = 96 : 4. Raztopina A je bil fosfatni pufer s pH 5,0, ki smo ga izdelali tako, da smo raztopili 13,6 g KH_2PO_4 v 2000 ml vode in uravnali pH s 45% raztopino kalijevega hidroksida do $\text{pH } 5,0 \pm 0,1$. Raztopino A smo filtrirali in vanjo dodali ustrezno količino raztopine B, ki je bil acetonitril kakovosti za HPLC. Tako pripravljeno raztopino smo dobro premešali in odzračili v ultrazvočni kadički.

Postavili smo naslednje parametre HPLC analitike:

- pretok mobilne faze 1 ml/min,
- volumen injiciranja vzorca 20 μl ,
- retencijski čas 4,4 min,
- UV-detekcija je potekala pri 230 nm.

Vzorci smo analizirali na HPLC-sistemu takoj po odvzemu iz medija za sproščanje. Vzorcev ni bilo treba nikoli redčiti. Vrhovi AMX so imeli veliko površino, bili so ozki in se niso prekrivali z nobenim drugim vrhom. Iz površine pod krivuljo (PPK) smo s pomočjo umeritvene premice izračunali koncentracijo AMX v raztopini. Ob upoštevanju koncentracije in časovne odvisnosti razpada učinkovine pa smo izračunali delež sproščenega amoksicilina v odvisnosti od časa.

5.3.4.3 ČASOVNI RAZPAD AMOKSICILINA V RAZLIČNIH MEDIJIH

Amoksicilin je občutljiv na kisel pH zaradi svoje betalaktamske strukture. Zato smo preverili časovni razpad AMX v različnih medijih, in sicer s pH 1,2; 2; 3; 4,5; 6,8 in v prečiščeni vodi. Najprej smo natančno natehtali amoksicilin trihidrat, ga prenesli v merilno bučko in razredčili z izbranim medijem. Nato smo izvedli enake redčitve kot pri

izdelavi umeritvene premice. Razlika je bila le v tem, da smo imeli medij ogret na 37 °C in tudi potem smo imeli bučke ves čas v kopeli s temperaturo 37 °C. Vzorce smo analizirali s pomočjo HPLC-sistema v časovnih točkah ob pripravi raztopin, in sicer po 8 in po 24 urah. Časovni razpad smo za vsak medij izvedli v dveh paralelkah. Rezultate smo prikazali grafično in izračunali faktor razpada (R), ki smo ga upoštevali pri izračunu sproščenega AMX.

5.3.4.4 POSKUSI SPROŠČANJA NA NAPRAVI Z VESLI

Poskus smo izvajali na napravi z vesli oziroma napravi 2 (Slika 6). Sproščanje smo izvajali pri konstantni temperaturi (37 °C) in pri konstantni hitrosti vrtenja mešal (50 in/ali 100 rpm). Volumen medija za sproščanje je bil vselej 900 ml, kar je zadostovalo za vzdrževanje sink pogojev.



Slika 6: Naprava z vesli za sproščanje. Na kontrolni plošči sta vidna temperatura kopeli in število vrtljajev vesel. (Katja Lužar, 2012)

Vzorce je odzema avtomatski vzorčevalnik, na katerem je bil pritrjen 10- μ m filter. Časovne točke odvzema vzorca so bile: po 0,5 h; 1 h; 1,5 h; 2 h; 2,5 h; 4 h; 6 h; 8 h in 12 h. Pri nekaterih serijah smo z vzorčenjem končali prej, saj so tablete že prej razpadle ali imele šibko konsistenco. Volumen posameznih odvzetih vzorcev je bil vselej 10 ml, kar smo upoštevali pri izračunu koncentracij. Odvzetega medija nismo nadomeščali, kljub temu so se ves čas poskusa ohranjali sink pogoji. Ugotovili smo tudi, da med poskusom izhlapeva medij, kar smo preverjali z meritvami volumna medija po končanem poskusu. Privzeli smo, da je izhlapevanje enakomerno in znaša 2 ml/h, ter tudi to upoštevali pri izračunu (Enačba 1).

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

/Enačba 1/

V_n – dejanski volumen medija po vzorčenju

V_0 – začetni volumen medija (900 ml)

n – število vzorcev (prvi vzorec smo vzeli po 30 minutah)

V_{vz} – volumen odvzetega vzorca (10 ml)

t_n – čas ob vzemu n -tega vzorca

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

Odvzete vzorce smo takoj analizirali na HPLC-sistemu in iz umeritvenih premic izračunali koncentracije sproščenega AMX ob določenem času. S pomočjo volumna medija smo izračunali maso sproščenega AMX, temu pa dodali še maso AMX, ki smo ga odvzeli s posameznimi odvzemi vzorcev (Enačba 2).

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

/Enačba2/

m_n – masa raztopljenega AMX v mediju po n -tem vzorcu

c_n – koncentracija AMX v mediju v n -tem vzorcu

Z upoštevanjem deleža AMX, izračunanega iz povprečja vrednosti AMX, smo lahko izračunali delež sproščenega AMX (Enačba 3).

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

/Enačba3/

X_n – delež sproščene učinkovine ob n -tem jemanju vzorca

m_n – teoretična masa amoksicilina v tableti

F – odstotek amoksicilina, izračunan iz povprečja vsebnosti amoksicilina v posameznih serijah

R – faktor zaradi razpada amoksicilina v izbranem mediju

5.3.4.5 PREIZKUS SPROŠČANJA NA NAPRAVI Z RECIPROČNIMI VALJI

Sproščanje AMX iz izbrane serije smo izvedli na napravi z recipročnimi cilindri oziroma napravo 3 po USP (BIODIS). Naprava BIODIS se lahko uporablja za preizkušanje tako FO s takojšnjim sproščanjem kot FO s podaljšanim in zakasnelim sproščanjem. Njena prednost pred napravama 1 in 2 je, da omogoča izvajanje preizkusa v več (največ šestih) različnih medijih v sklopu enega preizkusa in tako omogoča boljše posnemanje fizikalno kemijskih pogojev v prebavnem traktu. Poleg omenjenega pa naprava omogoča tudi simulacijo mehanskih sil v GIT s potapljanjem recipročnih cilindrov z nastavljivo hitrostjo. Čeprav ta naprava omogoča uporabo do šest različnih medijev, smo mi uporabili le medij pH 2 (M2) in v nekaterih poskusih še pH 1,2 (M1) ter medija s povečano ionsko močjo (M1*, M2*). V vsaki posodi smo imeli po 250 ml medija, temperatura je bila 37 °C, recipročni cilindri pa so se potapljali z različno hitrostjo, glede na poskus. S spreminjanjem hitrosti potopov na minuto (dip/min) smo želeli posnemati MCC-cikel. Avtomatski vzorčevalnik je odvezal vzorce po 10 ml v različnih časovnih točkah. Vzorce smo filtrirali, jih analizirali s HPLC in s pomočjo umeritvenih premic določili koncentracije AMX v odvzetih vzorcih, iz le-teh pa smo izračunali delež sproščenega AMX na podoben način kot pri sproščanju na napravi z vesli.

6 REZULTATI IN RAZPRAVA

6.1 DOLOČITEV ENAČB UMERITVENIH PREMICE

Sproščanje AMX iz plavajočih tablet smo izvajali v mediju 1 (pH 1,2) in mediju 2 (pH 2), zato smo za oba medija izdelali umeritveno premico. Osnovno raztopino in razredčene raztopine smo pripravili po postopku, opisanem v poglavju 5.3.4.1. Nato smo pripravljenim raztopinam s pomočjo HPLC izmerili površino pod krivuljo (PPK). Točke smo nanegli na graf, narisali premico in izračunali kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije. V preglednicah so podani rezultati izmerjenih površin pod krivuljo iz HPLC-spektrov in točne koncentracije raztopin AMX.

Najprej smo naredili umeritveno krivuljo v mediju s pH 1,2 (M1), ki je prikazana na Diagramu 1.

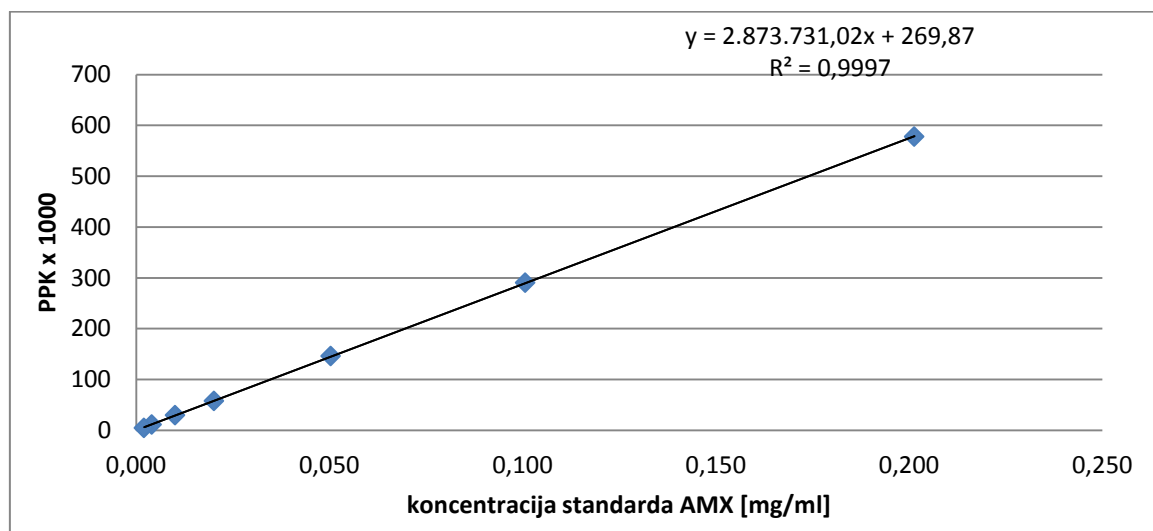


Diagram 1: Umeritvena premica amoksicilina v mediju s pH 1,2 (M1)

Umeritvena krivulja za medij s pH 2 (M2) je prikazana na Diagramu 2.

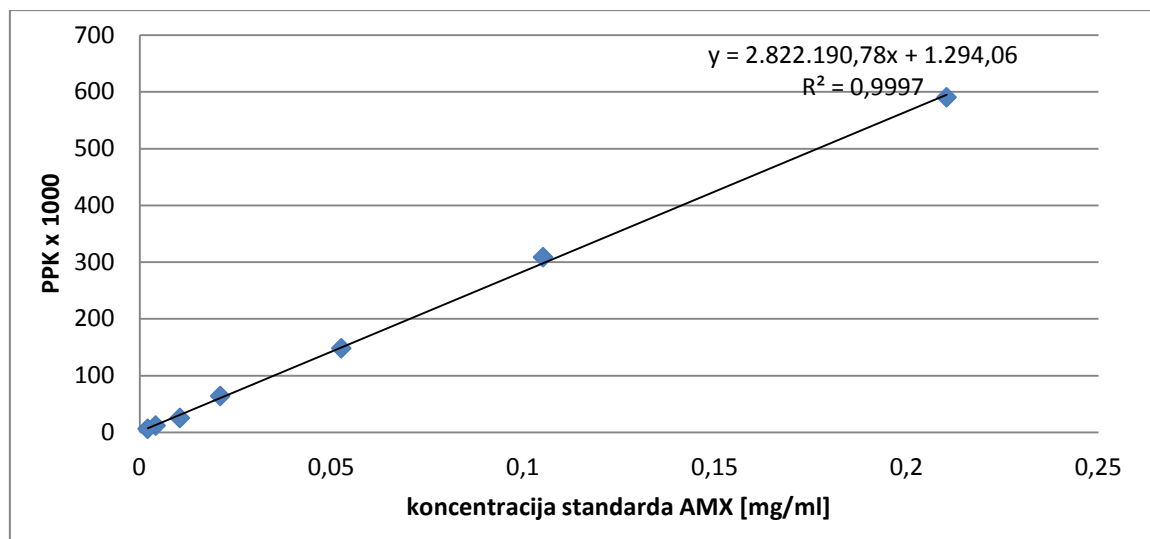


Diagram 2: Umeritvena premica amokscilina v mediju s pH 2 (M2)

6.2 REZULTATI ČASOVNEGA RAZPADAMK V RAZLIČNIH MEDIJIH

6.3 ČASOVNI RAZPAD AMOKSCILINA

Izvedli smo časovni razpad AMX, kot je opisan v poglavju Postopki in naprave 5.3.4.3. Rezultati so prikazani grafično na Diagramih 3–8.

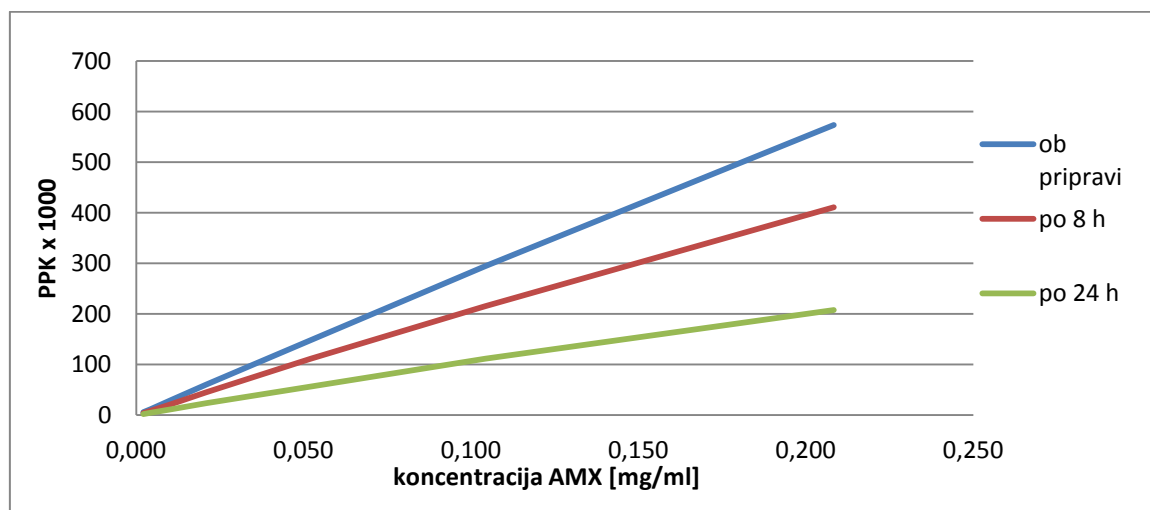


Diagram 3: Premica časovnega razpada AMX v mediju s pH 1,2 (M1) ob pripravi, po 8 in po 24 urah

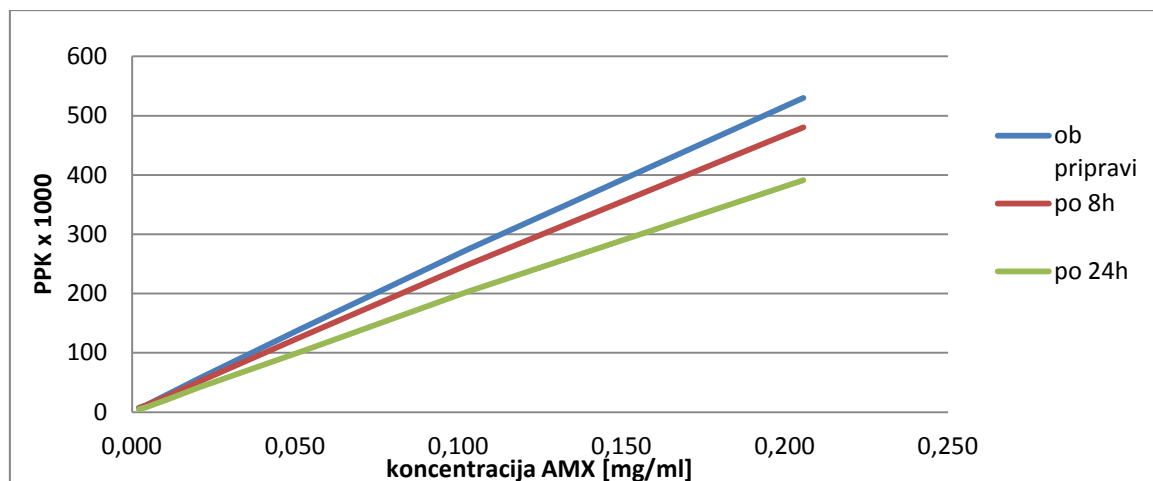


Diagram 4: Premica časovnega razpada AMX v mediju s pH 2 (M2) ob pripravi, po 8 in po 24 urah

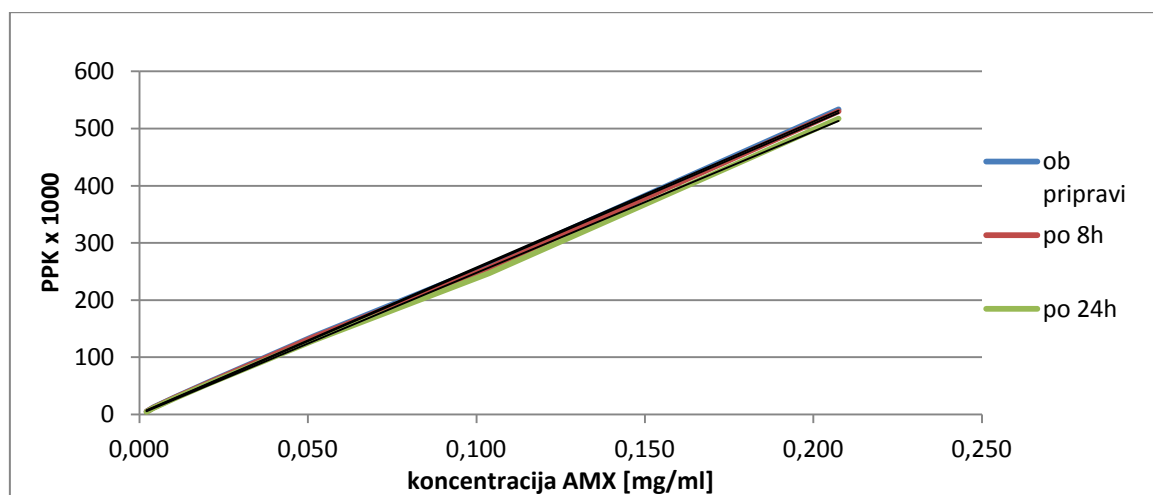


Diagram 5: Premica časovnega razpada AMX v mediju s pH 3 (M3) ob pripravi, po 8 in po 24 urah

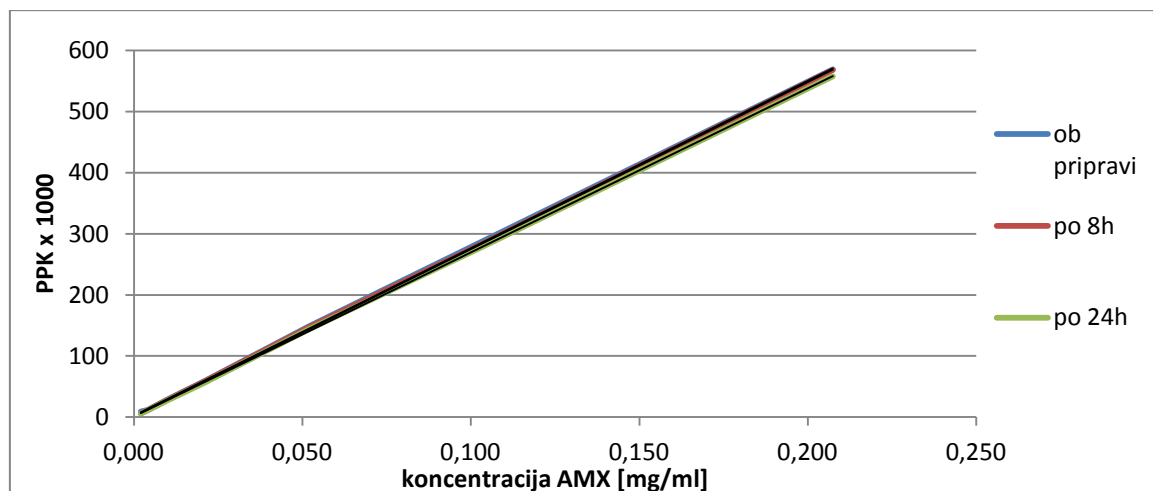


Diagram 6: Premica časovnega razpada AMX v mediju s pH 4,5 (M4) ob pripravi, po 8 in po 24 urah

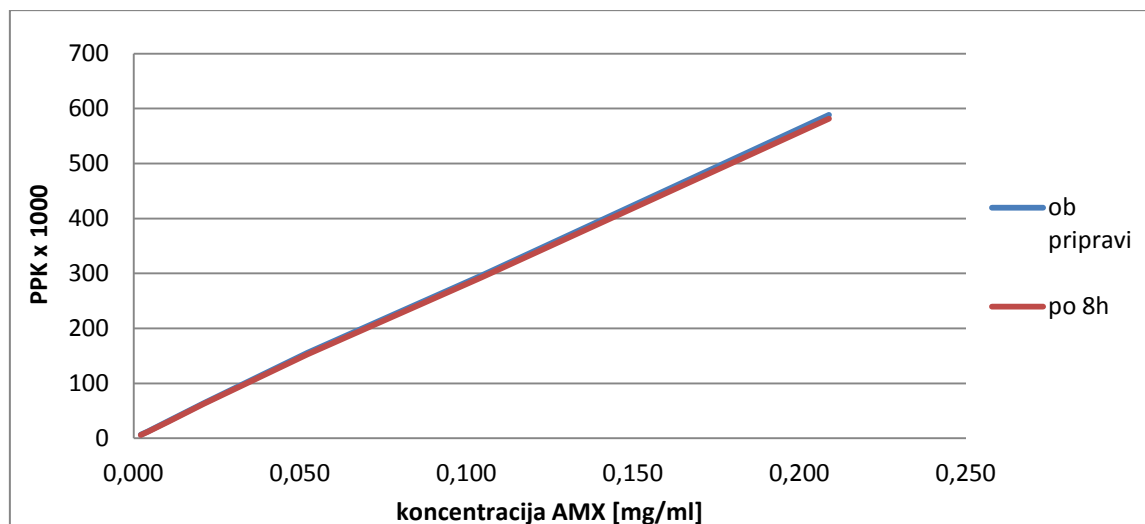


Diagram 7: Premica časovnega razpada AMX v mediju s pH 6,8 (M5) ob pripravi in po 8 urah

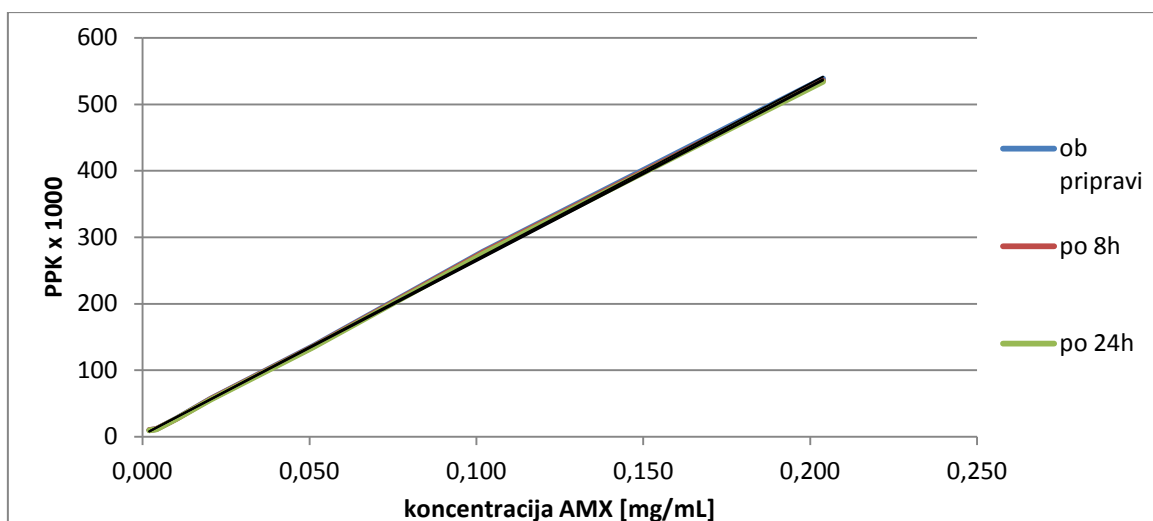


Diagram 8: Premica časovnega razpada AMX v prečiščeni vodi (M6) ob pripravi, po 8 in po 24 urah

Iz rezultatov časovnega razpada AMX je razvidno, da je razpad AMX minimalen v medijih s pH 3; 4,5 in 6,8 ter v prečiščeni vodi. Močno pa AMX razpada v mediju s pH 1,2 in 2. V mediju s pH 1,2 je po 8 urah prisotnega še 73,2 % AMX, po 24 urah pa približno 40 %. Prav tako je razpad očiten pri pH 2, saj je po 8 urah prisotne še 90 % učinkovine, po 24 urah pa le še 72 %. AMX ima tri ionizacijske skupine: karboksilno, aminske in fenolno skupino in s tem tri pKa-je [49]. AMX je občutljiv na razgradnjo z β -laktamazami, ki povzročijo hidrolitično cepitev beta-laktamske amidne vezi, kar povzroči odpiranje 4-členskega laktamskega obroča in nastanek amoksisicilin penicilojske kisline. Glede na rezultate razpada smo se odločili, da poskuse sproščanja izvajamo pri pH 2, kjer je AMX še dokaj stabilen, poleg tega pa pacienti, okuženi s bakterijo *H. pylori*, nimajo nikoli pH želodca 1,2 [69].

6.4 REZULTATI FARMACEVTSKOTEHNOLOŠKIH PARAMETROV

Za nekatere serije smo določili enakomernost mase le na majhnem številu tablet. Enako velja tudi za trdnost. Serijo 9b pa smo natančno ovrednotili, saj je bila najbolj optimalna. Prav tako smo izbrani seriji določili enakomernost vsebnosti.

6.4.1 ENAKOMERNOST MASE ENOODMERNIH FARMACEVTSKIH OBLIK

Preizkus enakomernosti mase smo izvajali po predpisu, navedenem v Ph. Eur. 7th Ed.

Preglednica 7: Enakomernost mas za posamezno serijo tablet (n = 20). Poleg največje, najmanjše in povprečne mase smo podali še vrednost za standardno deviacijo (SD) in relativno standardno deviacijo (RSD).

Serija	Najmanjša masa [mg]	Največja masa [mg]	Povprečna masa [mg]	SD [mg]	RSD [%]
9b	497	509	503,14	3,43	0,68

Iz Preglednice 7 je razvidno, da tablete ustrezajo preizkusu enakomernosti mase, saj nobena ne odstopa od povprečne mase za več, kot je predpisano v evropski farmakopeji.

6.4.2 TRDNOST TABLET

Vsem serijam smo med tabletiranjem preverjali trdnost. To je potekalo tako, da smo vsako tretjo tableto dali na napravo za določanje trdnosti Vanderkamp, VK 200, ZDA in z njo izmerili trdnost. Zaradi majhnosti serij smo ponekod izmerili trdnost manj kot 10 tabletam, vendar smo jo vedno izmerili vsaj 5 tabletam. Vse serije smo imele trdnost med 70 in 90 N. Rezultati serije 9b so prikazani v Preglednici 8.

Preglednica 8: Rezultati trdnosti izbrane serije tablet

Serija	Najmanjša trdnost [mg]	Največja trdnost [mg]	Povprečna trdnost [mg]	SD [mg]	RSD [%]
9b	69,2	85,6	75,4	5,2	6,9

Pri vseh serijah smo z nastavitvijo pečatov tabletirke poskusili stisniti tablete s približno enako trdnostjo. Ker je bila sestava tablet med serijami različna, je na trdnost

močno vplivala vrsta pomožne snovi, zato smo nekatere tablete stisnili z večjo silo stiskanja, da smo dosegli enako trdnost tablet. Tablete s dodatkom HPMC so imele ob istih nastavitvah pečatov večjo trdnost kot serije s samim ksantanom, zato smo dvignili položaj zgornjega pečata in zmanjšali silo stiskanja, da smo dobili primerljivo trdnost. HPMC in natrijev hidrojenkarbonat sta bolj stisljiva kot sam ksantan. Hidrogenirano ricinusovo olje je manj stisljivo, zato je bila potrebna večja sila stiskanja.

6.4.3 ENAKOMERNOST VSEBNOSTI ENOODMERNIH FARMACEVTSKIH OBLIK

V Preglednici 9 sta navedeni teoretična in dejanska (najmanjša, največja, povprečna) vsebnost učinkovine za posamezno vrsto tablet ter SD in RSD. Po Ph. Eur 7th Ed. tablete ustrezajo preizkusu enakomernosti vsebnosti enoodmernih farmacevtskih oblik, kadar je interval vsebnosti učinkovine med 80 in 115 % povprečne vsebnosti učinkovine v tableti.

Preglednica 9: Rezultati vsebnosti AMX izbrane serije tablet

Serija	Najmanjša vsebnost AMX [%]	Največja vsebnost AMX [%]	Povprečna vsebnost AMX [%]	SD [%]	RSD [%]
9b	93,4	102,1	107,2	13,8	13,5

Iz Preglednice 9 je razvidno, da tablete ustrezajo preizkusu enakomernosti vsebnosti enoodmernih FO, saj so vse vsebnosti tablet znotraj intervala, ki je predpisan v evropski farmakopeji.

6.5 REZULATATI PREIZKUSOV SPROŠČANJA

S preizkusi sproščanja smo želeli oblikovati formulacijo, ki bi imela najbolj optimalne lastnosti glede časa splavanja in bi sprostila čim več učinkovine, poleg tega pa bi bila dovolj robustna glede na obremenitve, ki jim je podvržena v želodcu. Tablete v vseh serijah so vsebovale 114,8 mg amoksicilina $\times$ 3H₂O, kar ustreza 100 mg amoksicilina, niso pa imele konstantne končne mase. Pri prvih serijah nismo natančno določili vsebnosti, saj smo jih uporabljali le kot izhodišče za razvoj optimalne oblike.

Kot ogrodni polimer smo pri vseh serijah uporabili XAN. Za izboljšanje plovnih lastnosti ksantana smo dodali sredstvo za tvorjenje CO₂, in sicer natrijev hidrogenkarbonat. Za lažje tabletiranje smo vsem serijam dodali Mg-stearat, ki deluje kot drsilo. V tablete smo vgrajevali različne ekscipiente v različnih deležih (Preglednica 5); z njimi smo poskušali doseči bodisi dobre plovne lastnosti tablet bodisi zadovoljivo hitrost sproščanja AMX iz tablet.

6.5.1 REZULTATI SPROŠČANJA NA NAPRAVI Z VESLI

Kot izhodiščno serijo (serija 1) smo izbrali serijo 34 Urbana Kranjca, ki smo jo želeli optimizirati [68]. V preglednici 10 so podani rezultati deleža sproščenega AMX ob različnih časih vzorčenja s standardno deviacijo ter povprečen čas splavanja tablet v minutah z izračunano standardno deviacijo za posamezno serijo. Dodali smo komentar, v katerem smo obrazložili spremembe v formulaciji in kratko komentirali rezultate.

Preglednica 10: Delež sproščenega amoksicilina v seriji 1–12 (preliminarne serije), SD – standardna deviacija, povprečen čas splavanja serije in komentar rezultatov

SERIJA 1			
Čas [h]	Delež sproščene učinkovine [%]	SD [%]	Povprečen čas splavanja [min] ± SD [min], komentar
0,5	3,85	0,71	19,78 ± 1,29 Ko smo tablete ob koncu poskusa vzeli iz posode za sproščanje, smo videli večje delce učinkovine, ki se zaradi svoje velikosti niso raztopili, zato smo pri seriji 2 učinkovino 10 min mleli v terilnici in jo šele nato tabletirali.
1,0	6,36	0,83	
1,5	8,86	0,92	
2,0	11,38	1,29	
2,5	13,93	1,22	
4,0	20,36	1,04	
6,0	28,56	1,65	
8,0	37,98	2,88	
12,0	48,26	4,11	
SERIJA 2			
0,5	5,77	0,20	18,68 ± 2,43 Dosegli smo nekoliko večji delež sproščenega AMX, vendar se sam čas splavanja tablet ni izboljšal, zato smo v naslednji seriji poskusili s polovično maso polimera (iz 180,2 mg na 90,2 mg).
1,0	9,48	0,47	
1,5	13,33	0,69	
2,0	16,46	0,92	
4,0	26,79	2,48	
6,0	38,59	2,19	
8,0	48,60	2,41	
12,0	62,75	3,88	

SERIJA 3			
Čas [h]	Delež sproščene učinkovine [%]	SD [%]	Povprečen čas splavanja [min] $\pm$ SD [min], komentar
0,5	6,16	0,35	$18,17 \pm 2,04$ Z manjšo količino ksantana smo še povečali končni delež sproščenega AMX, vendar se sam čas splavanja tablet ni izboljšal, zato smo v naslednji seriji poskusili z večjo količino natrijevega hidrogenkarbonata (iz 100 mg na 140 mg).
1,0	9,89	0,79	
1,5	13,39	1,15	
2,0	16,68	1,68	
4,0	29,41	2,45	
6,0	42,57	3,37	
8,0	55,88	4,93	
12,0	77,81	7,34	
SERIJA 4			
0,5	9,63	2,80	$33,2 \pm 2,05$ Rezultati sproščanja nam kažejo ravno nasprotno učinke, sproščanje se je upočasnilo, prav tako se je podaljšal čas splavanja. Vzrok temu je najverjetneje, da je tableta postala težja, saj ima NaHCO_3 večjo gostoto od samega ksantana in je zato kljub večji tvorbi CO_2 zmanjšal plovnost, saj medij zaradi počasnega nabrekanja (ogrodni sistem) ne pride v stik s celotnim NaCO_3 , ki je v tableti.
1,0	14,18	3,08	
1,5	17,54	3,09	
2,0	20,61	3,06	
4,0	33,26	2,98	
6,0	44,65	2,03	
8,0	57,56	2,53	
12,0	69,23	2,62	
SERIJA 5			
0,5	8,18	1,10	$64,33 \pm 6,51$ V seriji 5 smo ksantanu (50,2 mg) dodali nizkoviskozen polimer HPMC K100LV (50 mg), ki naj bi izboljšal odpletanje verig polimera in s tem omogočil večji dostop medija do NaCO_3 in AMX. Iz rezultatov je razvidno, da je sproščanje primerljivo s prejšnjimi serijami, sam čas splavanja pa se je močno podaljšal.
1,0	14,21	2,15	
1,5	18,77	2,97	
2,0	22,47	3,37	
4,0	38,51	5,10	
6,0	50,93	5,87	
8,0	56,47	6,92	
12,0	72,93	10,48	
SERIJA 6			
0,5	7,13	1,39	$40,1 \pm 1,41$ V seriji 6 smo kot ekscipient dodali 9 % hidrogeniranega ricinusovega olja, s katerim nismo dosegli izrazitih izboljšanj pri plovnosti kot tudi ne pri deležu sproščenega AMX.
1	10,14	1,41	
1,5	12,95	1,23	
2	16,16	1,99	
4	26,42	2,15	
6	40,44	1,20	

SERIJA 7			
Čas [h]	Delež sproščene učinkovine [%]	SD [%]	Povprečen čas splavanja [min] ± SD [min], komentar
0,5	5,73	1,11	7,33 ± 0,41 V seriji 7 smo kot ekscipient uporabili PVP K30 (60 mg, kar predstavlja 13 % tablete), ki naj bi deloval v tableti kot tvorilec por. Iz rezultatov je razvidno močno izboljšanje plovnosti, saj je čas splavanja za kar 63 % krajši glede na serijo 1, prav tako je viden večji delež sproščenega AMX v 8 urah.
1	8,15	1,13	
1,5	10,40	0,99	
2	12,99	1,59	
4	21,23	1,73	
6	32,49	0,96	
8	42,10	0,92	
SERIJA 8			
0,5	9,92	2,87	5 ± 1 Serija 8 je izhajala iz serije 5, le z dodatkom PVP K30 (50 mg, kar predstavlja 11 % tablete). Vidno je, kako močno je PVP K30 izboljšal plovne lastnosti – za kar 92 %. Vidno je tudi izboljšanje sproščanja, vendar je to najverjetneje posledica deformacije tablete, saj je imela po 8 urah šibko konsistenco (posledica razpada tablete).
1	14,88	4,65	
1,5	19,93	6,42	
2	23,92	7,73	
4	44,50	14,89	
6	64,27	12,54	
8	79,86	11,18	
SERIJA 9			
0,5	6,14	0,44	2,93 ± 0,55 Serija 9 je vsebovala PVP K30 (90 mg, kar predstavlja 18 % tablete) in kot polimer samo ksantan. S to formulacijo smo dosegli želen čas splavanja. Sproščanje se je glede na serijo 8 poslabšalo, vendar je še vedno v zelenih mejah.
1	13,77	1,98	
1,5	17,01	2,33	
2	20,52	2,38	
4	31,94	1,07	
6	46,30	1,98	
8	67,35	2,08	
SERIJA 10			
0,5	6,69	1,39	2,33 ± 0,14 V seriji 10 smo ksantanu (50,2 mg) dodali HPMC K4M (50 mg) in prav tako uporabili PVP K30 (50 mg, kar predstavlja 10 % tablete). S spremembo polimera smo dosegli izboljšanje časa splavanja, vendar se je poslabšalo sproščanje, poleg tega pa je bila konsistenca tablet po koncu sproščanja prav tako šibka (tablete niso bile več okrogle, vidna je bila erozija ogrodja).
1	11,62	1,73	
1,5	14,61	2,11	
2	18,00	2,44	
4	29,66	3,03	
6	41,39	3,91	
8	51,31	3,51	

SERIJA 11			
Čas [h]	Delež sproščene učinkovine [%]	SD [%]	Povprečen čas splavanja [min] ± SD [min], komentar
0,5	11,48	4,71	1,19 ± 0,14 Serija 11 se od serije 10 razlikuje po večji količini PVP K30 (90 mg, kar predstavlja 18 % tablete). Dosegli smo boljšo plovnost in velik delež sproščene učinkovine, vendar je bila konsistenca ponovno zelo šibka.
1	18,83	7,70	
1,5	22,31	8,03	
2	25,58	8,20	
4*	36,91	8,52	
SERIJA 12			
0,5	6,80	0,21	3,18 ± 0,22 Serija 12 je podobna seriji 9, z razliko, da smo povečali količino ksantana (120 mg) in PVP K30 (90 mg, kar predstavlja 15 % tablete).
1	9,87	0,33	
1,5	12,90	0,68	
2	16,04	1,17	
4*	25,13	1,20	

* Sproščanje iz serij 11 in 12 je bilo prekinjeno po 4 urah, saj se je okvaril HPLC-sistem in nismo mogli nadaljevati analize vzorcev. Poskusa nismo ponavljali, saj smo za optimalno formulacijo izbrali **serijo 9**.

6.5.2 VPLIV VELIKOSTI DELCEV UČINKOVINE NA SPROŠČANJE IZ OGRODNIH TABLET

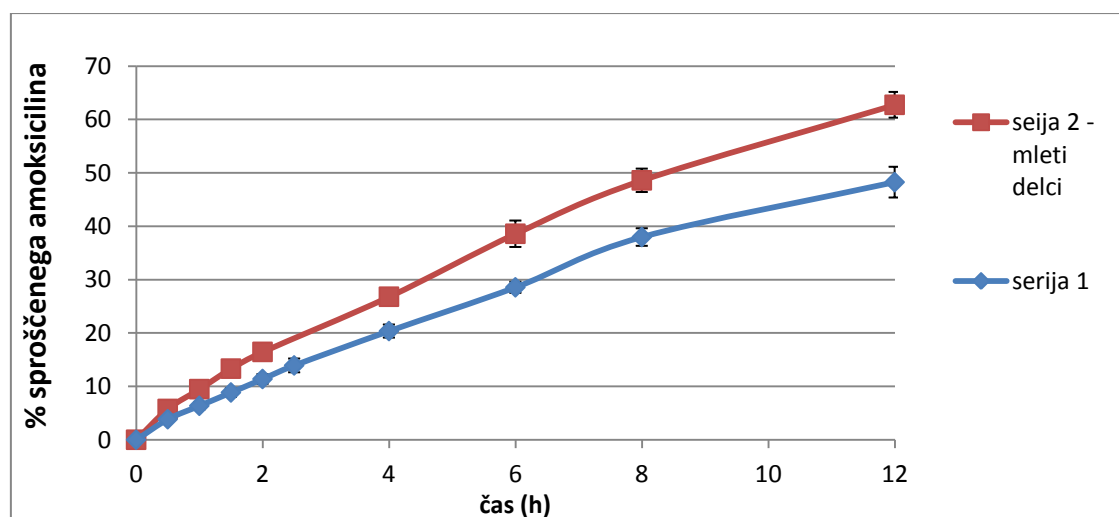


Diagram 9: Primerjava rezultatov sproščanja AMX med serijo 1 (serija 34 Urbana Kranjca) in serijo 2 (mleti delci)

Iz rezultatov profila sproščanja serije 1 in 2 (Diagram 9) je razvidno, da velikost delcev učinkovine vpliva na sproščanje. Manjši delci imajo večjo specifično površino, zato je večja površina v stiku z vodo in se hitreje raztopijo. V formulaciji 2 smo delce predhodno mleli v terilnici 10 minut, nismo pa jim določili velikosti. Po končanem preizkusu sproščanja je bilo v nabrekli tableti pri seriji 2 vidnih manj neraztopljenih delcev učinkovine kot pri tableti serije 1, kar je razvidno iz rezultatov, saj se je po 12 urah sproščanja iz tablet serije 2 sprostil 23 % več učinkovine kot iz tablet serije 1. Čeprav manjši delci pospešijo sproščanje, je bilo mletje učinkovine nestandardizirano, zato smo v nadaljevanju uporabili originalno velikost delcev (neuprašeno).

6.5.3 VPLIV DELEŽA KSANTANA V TABLETI NA SPROŠČANJE (AMX)

Iz Diagrama 10 je razvidno, da delež polimera močno vpliva na sproščanje AMX iz ogrodja. Pri seriji 3 z manjšo količino XAN (90 mg, kar predstavlja 22 % tablete) se je po 8 urah sprostil za 32 % AMX več kot pri izhodiščni seriji 1 (180 mg, kar predstavlja 36 % tablete). Količina XAN vpliva na sproščanje, saj XAN v plavajoči tableti predstavlja ogrodje oziroma tvori mrežo, v kateri so dispergirani delci AMX. Sproščanje AMX se vrši po različnih mehanizmi: raztapljanje in erozija ogrodja ter difuzija zdravilne učinkovine. Ko hidrofilni polimer XAN na površini tablete pride v stik z medijem, začne nabrekati in tvoriti viskozno gelsko plast. Nastanek gelske plasti oziroma hidrogela je posledica medsebojnih kemijskih in/ali fizikalnih povezav med polimernimi verigami ter polimernimi verigami in vodo. Količina oziroma koncentracija polimera vpliva na debelino plasti gela, le-ta pa na hitrost sproščanja učinkovine, saj deluje kot zaščitni sloj, ki preprečuje prezgodnji razpad ogrodja in določa hitrost prehoda ZU iz tablete v zunanji medij. Glede na rezultate lahko sklepamo, da večja količina XAN rezultira v počasnejše sproščanje, ki je posledica tvorbe debelejšje gelske plasti, ki zavira sproščanje AMX iz ogrodja. Pri večji količini polimera je na voljo več molekul XAN, ki hidratirajo in s tem obsežno nabrekajo ter tako tvorijo debelejšo gelsko plast. Pri debelejši gelski plasti mora učinkovina preiti večjo difuzijsko razdaljo, kar pomeni počasnejše sproščanje AMX.

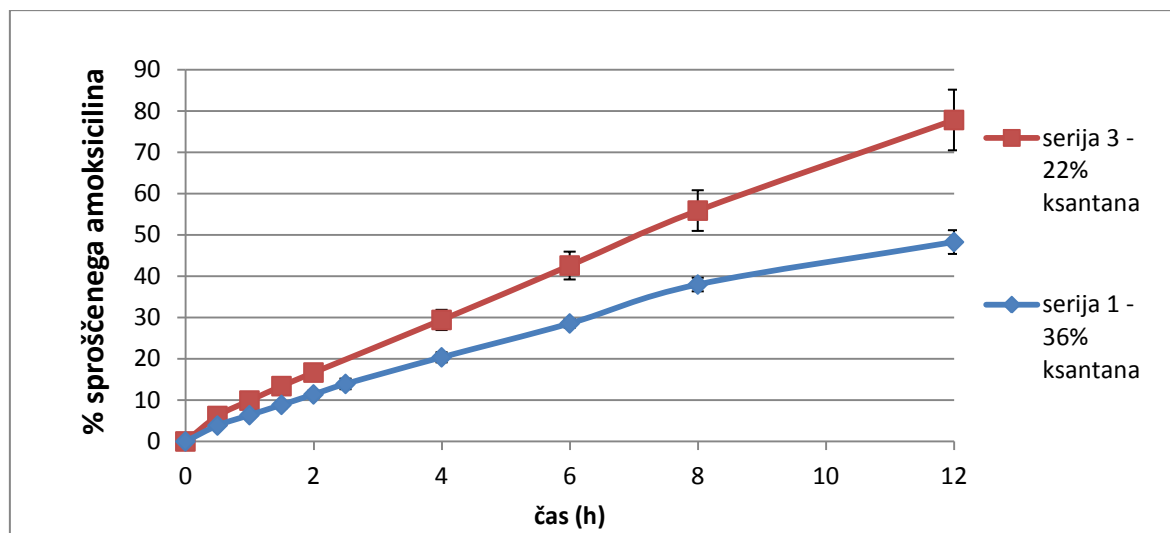


Diagram 10: Primerjava rezultatov sproščanja amoksicilina serije 1, ki je vsebovala 36 % ksantana, in serije 3, ki je vsebovala 22 % ksantana

6.5.4 VPILIV NATRIJEVEGA HIDROGENKARBONATA IN HIDROGENIRANEGA RICINUSOVEGA OLJA NA SPROŠČANJE IN PLOVNOST OGRODNIH TABLET

Natrijev hidrogenkarbonat ima v plavajoči tableti vlogo efervescentne snovi, saj omogoča nastanek mehurčkov CO_2 in s tem plovnost tablet. S povečanjem količine natrijevega hidrogenkarbonata smo zato želeli izboljšati plovne lastnosti plavajočih tablet. Iz rezultatov pa je dostikrat razviden ravno nasproten učinek. Serija 3, ki je vsebovala 24 % m/m NaHCO_3 , je splavala pri približno 18 minutah, serija 4, ki je vsebovala 31 % NaHCO_3 , pa pri 33 minutah. Razlog je najverjetneje velika gostota NaHCO_3 ($2,2 \text{ g/cm}^3$). Ko tableta začne nabrekati, se omoči le zunanja plast in se tvori hidrogel. Voda v notranjost tablete prodira počasi, zato velik delež NaHCO_3 ne pride v stik z medijem in ne more tvoriti mehurčkov CO_2 , ki bi zmanjšali gostoto tablete. Če je v tableti prisoten primeren delež NaHCO_3 , se bo sproščeni CO_2 ujel v polimerno mrežo in s tem povzročil splavanje tablete. Iz Diagrama 11 je razvidno, da količina NaHCO_3 signifikantno ne vpliva na količino sproščenega AMX iz plavajoče tablete.

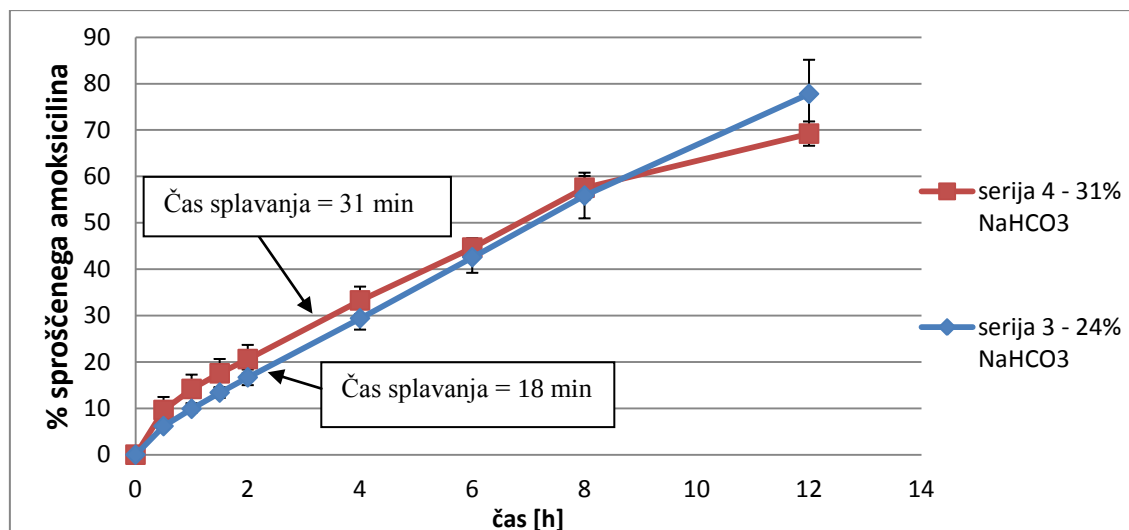


Diagram 11: Primerjava rezultatov sproščanja amoksicilina serije 3, ki je vsebovala 24 % natrijevega hidrogenkarbonata (NaHCO₃), in serije 4 s 31 % NaHCO₃

Prav tako kot z NaHCO₃ smo poskušali plovnost izboljšati s hidrogeniranim ricinusovim oljem, ki pa ima gostoto 1,030 g/cm³, kar bi lahko prispevalo k izboljšanju plovnosti. Iz rezultatov je razvidno (Diagram 12), da je čas splavanja serije 6 daljši, in sicer 40 min, v primerjavi s serijo 3, kjer je bil 18 minut. Sklepamo lahko, da hidrogenirano ricinusovo olje ne skrajša časa do splavanja, saj najverjetneje deluje kot polnilo tablete, ki včasih lahko hidrofobizira površino, vendar pa s tem ne prispeva k izboljšanju plovnosti. Iz rezultatov sproščanja je razvidno, da dodatek hidrogeniranega ricinusovega olja ne vpliva na sproščanje AMX.

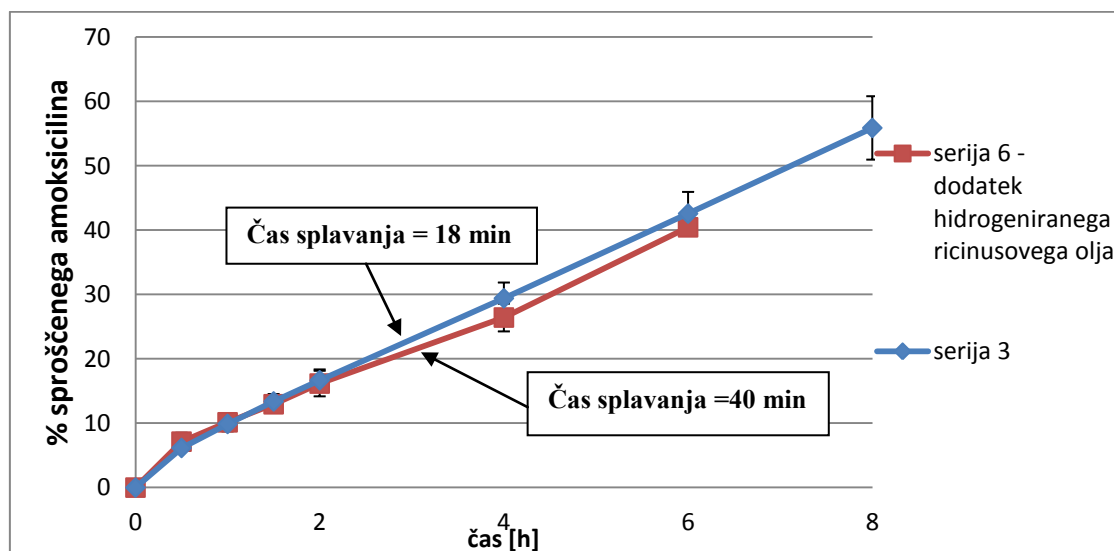


Diagram 12: Primerjava rezultatov sproščanja amoksicilina med serijo 3 in serijo 6, ki je imela dodano hidrogenirano ricinusovo olje

6.5.5 VPLIV DODATKA DRUGIH POLIMEROV H KSANTANSKEMU OGRODJU NA SPROŠČANJE IN PLOVNOST OGRODNIH TABLET

Z dodatkom drugih polimerov, predvsem hidroksipropilmetil celuloznih etrov (HPMC), smo želeli skrajšati čas splavanja tablet z vplivom na viskoznost nabrekajoče plasti. Ko je molekulska masa HPMC velika, je velika viskoznost in posledično se tvori čvrstejši gel. To pa vpliva na upočasnitev difuzije ZU skozi gelsko strukturo, ki je tudi odpornejša na proces erozije, kar vodi k bolj upočasnjenu sproščanju. V seriji 5 smo zato XAN dodali HPMC K100LV, ki tvori najmanj viskozen gel glede na druge HPMC-polimere. Želeli smo zmanjšati viskoznost hidrogela, saj bi s tem voda lažje prodirala v notranjost ogrodja tablete, kar bi pomenilo večje raztapljanje NaHCO_3 ter tvorbo CO_2 in splavanje tablete. Iz rezultatov je razvidno, da serija 5 splava v 64 minutah. Če jo primerjamo s serijo 3, ki splava v 18 minutah, pomeni, da dodatek HPMC K100LV ni pripomogel k hitrejšemu splavanju. Iz rezultatov (Diagram 13) sproščanja pa lahko sklepamo, da smo pri seriji 5 dosegli hitrejše sproščanje v prvih 8 urah, za kar je najverjetneje odgovoren prav dodatek HPMC K100LV.

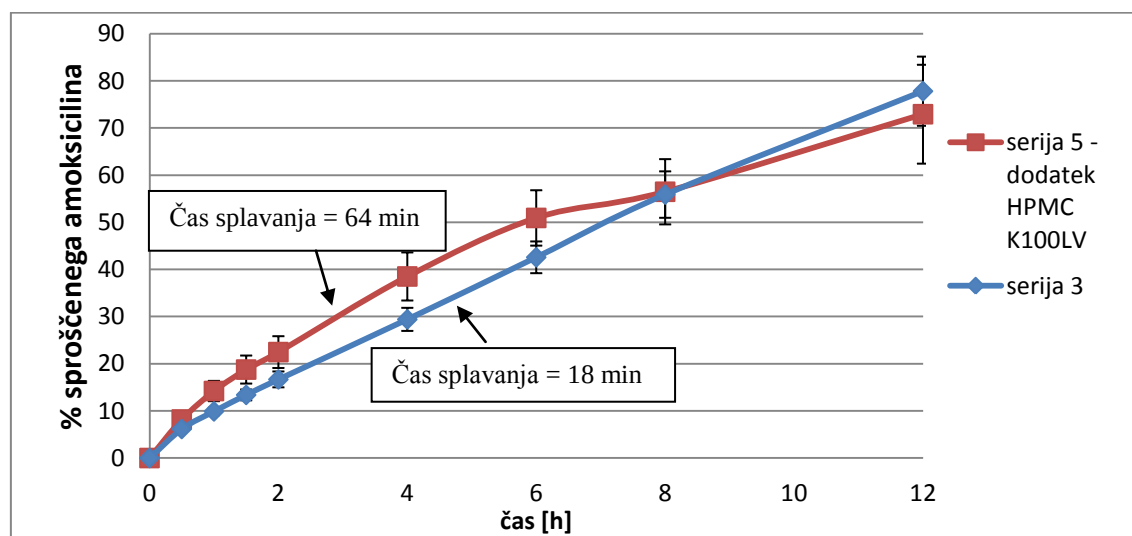


Diagram 13: Primerjava rezultatov sproščanja amoksicilina med serijo 3, ki je kot polimer vsebovala ksantan, in serijo 6, ki je vsebovala ksantan in HPMC K100LV v razmerju 1:1

Nato smo želeli izboljšati čas splavanja tablet z dodatkom hidrofilnega polimera polivinil pirolidona (PVP K30), ki smo ga dodali k seriji 7. PVP K30 je polimer, ki je dobro topen tako v hidrofilnih kot hidrofobnih topilih, kompatibilen in netoksičen, kemično inerten, temperaturno in pH stabilen. Prav zaradi svojih lastnosti je zelo široko

uporaben – kot vezivo, tvorilec filma, solubilizator, masker okusa, stabilizator suspenzij in adheziv [70]. PVP K30 je močno izboljšal čas splavanja, saj so tablete serije 7 splavale že po približno 7 minutah v primerjavi s serijo 3, ki ima isto sestavo, le da je brez PVP-ja, in je splavala po 18 minutah. Delež sproščenega AMX iz tablet serije 7 se ni povečal glede na serijo 3, zato smo v naslednji seriji 8 poskusili s kombinacijo ksantana, HPMC K100LV in PVP K30. Iz Diagrama 14 je razvidno, da je kombinacija polimerov zelo pospešila sproščanje AMX, prav tako pa tudi skrajšala čas splavanja, ki je za tablete serije 8 trajal 5 minut. Vzrok za hitrejše sproščanje je najverjetneje šibka konsistenca tablete, saj polimerne verige HPMC K100LV in ksantana ne tvorijo čvrstega gela. Temu je najverjetneje pripomogel tudi dodatek PVP K30, ki ima vlogo tvorilca por oziroma kanalčkov in solubilizatorja, ter je tako povečal delež raztopljenega ZU.

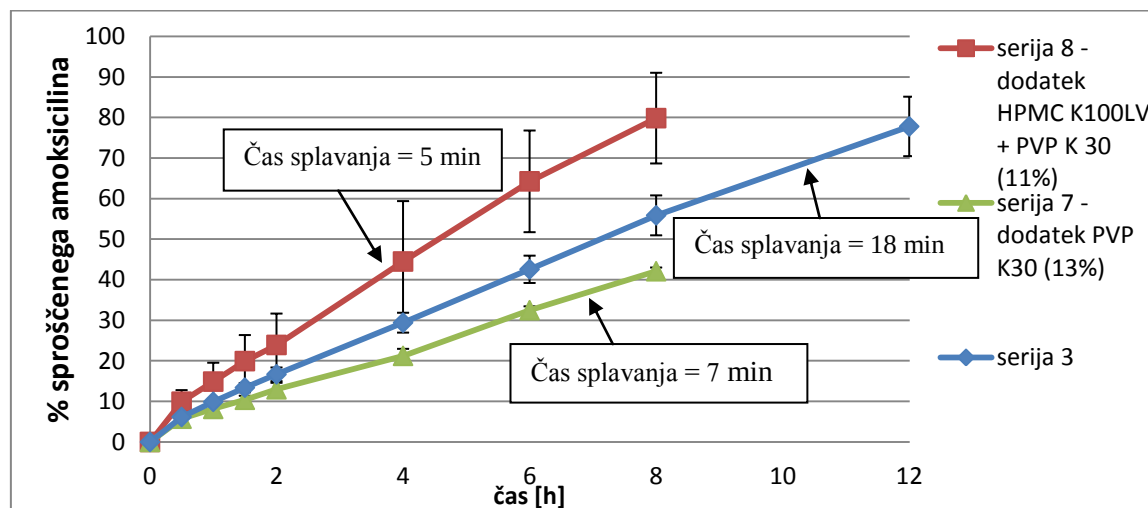


Diagram 14: Primerjava rezultatov sproščanja amoksisicilina med serijo 3, ki je kot polimer vsebovala samo ksantana, serijo 7, ki je poleg ksantana vsebovala še PVP K30 (13 %), in serijo 8, ki je vsebovala ksantana in HPMC K100LV (1 : 1) ter PVP K30 (11%)

V seriji 9 smo poskusili z večjim deležem PVP K30 (18 % v celem tabletinem ogrodju) in samo s ksantanom kot polimerom, ki je nadzoroval sproščanje. Tako smo nameravali izboljšati konsistenco tablete, kar nam je tudi uspelo, saj sam XAN tvori zelo čvrst in viskozen gel. Izboljšal se je tudi čas splavanja, saj je serija 9 splavala že po približno 3 minutah. K hitrejšemu sproščanju prispeva PVP K30, ki je zelo hidrofilen in se hitro in dobro omoči. Tako se poveča absorpcija velike količine vode, s čimer se spodbudi raztapljanje in tako omogoči sproščanje slabo topnega AMX. Poleg tega PVP K30 s svojo topnostjo naredi veliko por in kanalčkov, prek katerih lahko izhaja AMX iz ogrodne tablete.

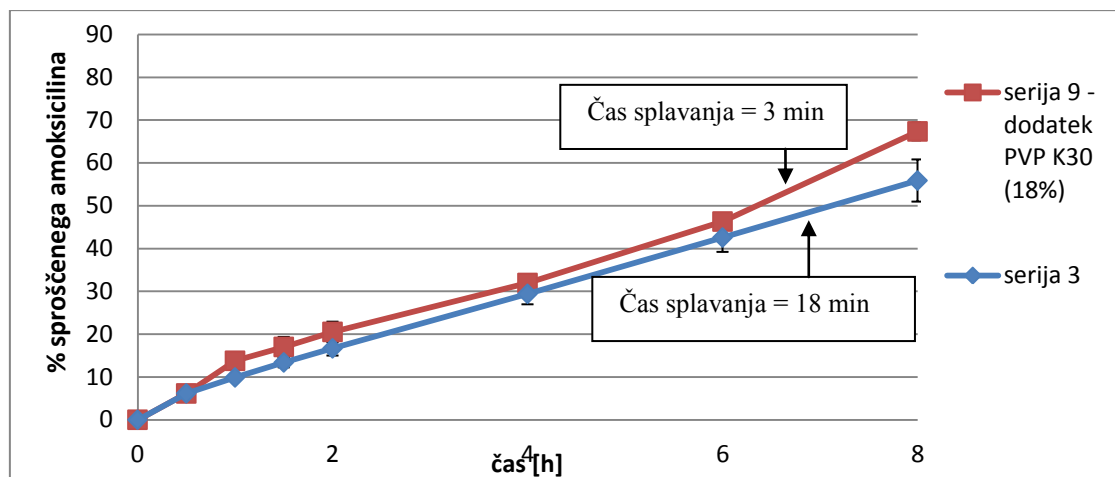


Diagram 15: Primerjava rezultatov sproščanja amoksicilina med serijo 3 in serijo 9, ki smo ji dodali 18 % PVP K30.

Ker smo želeli še nekoliko izboljšati konsistenco plavajoče tablete, smo pri tabletah serije 10 namesto polimera HPMC K100LV, ki je bil uporabljen v serijah 7 in 8, uporabili HPMC K4M, ki poveča viskoznost nabreklih gela, kar lahko samo sproščanje upočasni, konsistenca tablete pa je boljša kot pri polimeru HPMC K100LV. Iz Diagrama 16 je razvidno, da je bilo sproščanje serije 10 primerljivo s serijo 3, precej izboljšano sproščanje pa smo dosegli v seriji 11, kjer smo povečali delež PVP K30 (18 % tablete), vendar je bila tu ponovno vidna erozija ogrodja tablet, kar predstavlja Slika 7b.

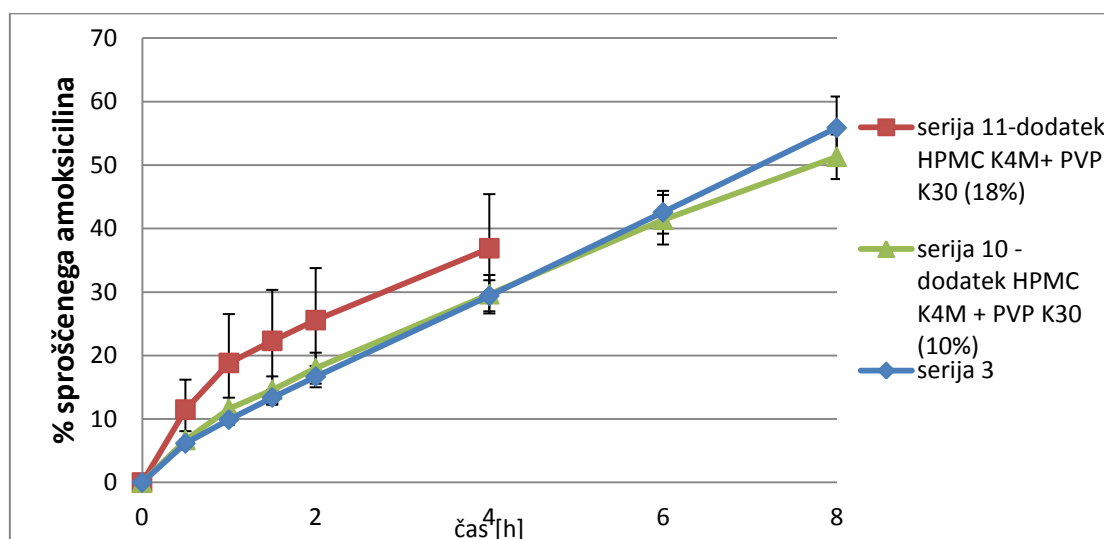


Diagram 16: Primerjava rezultatov sproščanja amoksicilina med serijo 3, ki je vsebovala samo ksantan, in serijo 10, ki je imela poleg ksantana dodana HPMC K4M in PVP K30 (10 %), ter serijo 11, ki je imela poleg ksantana dodana HPMC K4M in PVP K30 (18 %).



Slika 7: a) prikaz izhodiščne in nabrekle tablete b) prikaz izhodiščne in erodirane tablete (Katja Lužar, 2013)

Sklepamo lahko, da ima izmed vseh serij tablet najboljšo konsistenco, najhitrejši čas splavanja in največji delež sproščenega amoksicilina tableta, pri kateri ogrodje tvori kombinacija ksantana in PVP K30 (tvorilec por in solubilizator). Iz Diagrama 17 vidimo, da tej formulaciji ustrezajo tablete iz serije 9.

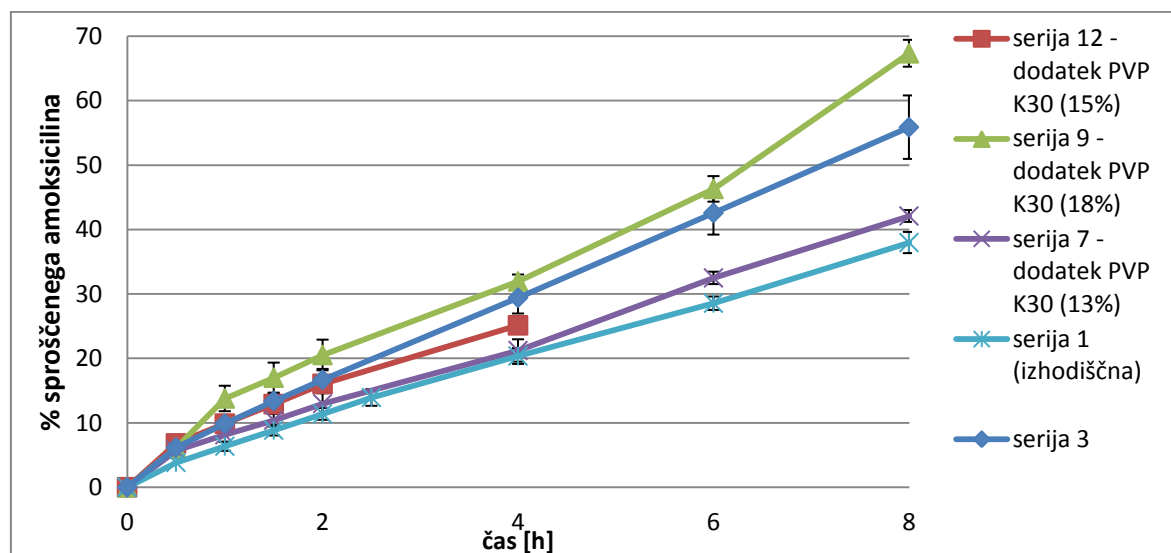


Diagram 17: Primerjava profila sproščanja med izhodiščnima serijama 1 in 3 ter serijami, ki so imele dodan PVP K30 (serije 7, 9, 12).

6.5.6 PREIZKUS IZBRANE SERIJE PRI VEČJI HIDRODINAMSKI OBREMENITVI

Sproščanje iz tablet serije 9 smo nato preizkusili pri večji hidrodinamski obremenitvi – spremenili smo hitrost vrtenja vesel, obrate pa smo v naslednjem poskusu povečali na 100 rpm. Rezultati poskusa so prikazani v Preglednici 11.

Preglednica 11: Rezultati sproščanja amoksicilina serije 9 pri 100 rpm

SERIJA 9 pri 100 rpm			
Čas [h]	Delež sproščene učinkovine [%]	SD [%]	Povprečen čas splavanja [min] ± SD [min]
0,5	8,94	1,43	2,16 ± 0,33
1	14,47	2,82	
1,5	19,01	3,82	
2	23,35	4,93	
4	37,66	5,69	
6	62,05	14,21	
8	80,06	13,70	

Iz Diagrama 18 je razvidno, da se pri večji hitrosti vrtenja vesel sprosti večji delež amoksicilina – zaradi hitrejšje erozije polimernega ogrodja in tako tanjšega difuznega sloja, zaradi česar je amoksicilin lažje prehajal iz ogrodja. Za XAN je značilno strižno zmanjševanje viskoznosti [65], kar smo potrdili tudi v našem poskusu, saj je XAN ob večji strižni hitrosti manj nabrekel in s tem manj oviral sproščanje učinkovine. Tablete so pri 100 rpm tudi hitreje splavale, in sicer v 2,16 minute.

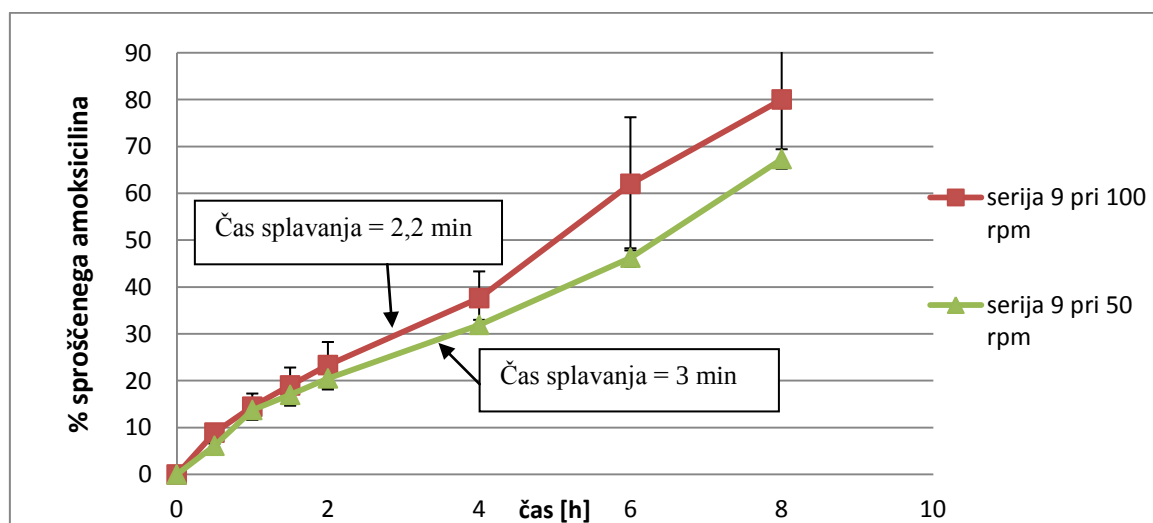


Diagram 18: Vpliv hitrosti vrtenja mešal na profil sproščanja amoksicilina iz serije 9 pri 50 rpm in 100 rpm

Poleg tega pa smo formulacijo 9 izpostavili tudi nižjemu pH, v katerem XAN tvori gel najšibkejšje konsistence [66]. Poskus smo izvedli v mediju s pH 1,2 (M1). Tablete so splavale zelo hitro, in sicer po 45 sekundah, vendar so po 15 minutah povsem razpadle. Poskus smo ponovili tudi z isto formulacijo, le brez PVP K30, in ugotovili, da tablete ne razpadejo. XAN je pri nižjem pH manj topen, se manj hidratira in tvori tanjši gelski sloj. Hkrati prisoten PVP omogoči hiter vstop medija v jedro tablete, in ker XAN pri teh pogojih slabše nabreka, tableta razpade prej, in sicer preden se tvori hidrogelska plast. PVP je pri pH 1,2 tako deloval kot razgrajevalo. Na sproščanje AMX poleg konsistence gela vplivata tudi hitrost nastajanja gela in njegova debelina. Formulacija serije 9 je vsebovala 18 % PVP K30. V naslednji formulaciji (9b) smo nato uporabili le 8 % PVP K30 in ponovili oba poskusa, tako v mediju 2 kot mediju 1. Rezultati poskusa so prikazani v Preglednici 12.

Preglednica 12: Rezultati sproščanja amoksicilina serije 9 (8 % PVP K30) v mediju s pH 2 (M2) in s pH 1,2 (M1)

SERIJA 9b (8 % PVP K30) v M2			
Čas [h]	Delež sproščene učinkovine [%]	SD [%]	Povprečen čas splavanja [min] ± SD [min], komentar
0,5	14,03	1,65	9,17 ± 0,8
1	18,06	1,93	
1,5	22,91	1,39	
2	27,88	0,83	
4	45,91	2,16	
5	57,53	2,01	
6	70,35	1,89	
SERIJA 9b (8 % PVP K30) v M1			
0,5	16,87	2,42	1,2 ± 0,13
1	18,24	2,33	
1,5	21,38	2,16	
2	24,37	2,10	
4	35,86	1,69	
5	43,12	1,85	
6	50,19	1,79	

Če primerjamo serijo 9b v mediju M1 in M2, vidimo, da se je po 6 urah v M1 sprostilo manj AMX kot v M2. Vzrok temu je, da na sproščanje ZU poleg konsistence gela vplivata tudi hitrost nastajanja gela ter njegova debelina. To opazimo tudi na Sliki 8, saj je debelina gela tablete v M2 večja kot v M1 in tudi sama konsistenca gela je v M2 enotnejša. V M1 je gel tanjši, a bolj čvrst, kar lahko povežemo z rezultati, saj se v M1

sprosti manjši delež AMX. V mediju s pH 1,2 (M1) se tvori tanjši gel, zaradi česar naj bi se sprostil večji delež učinkovine, vendar iz rezultatov vidimo, da temu ni tako. Vzrok temu je najverjetneje velikost same molekule AMX, ki je v primerjavi z drugimi modelnimi molekulami (npr. pentoksifilinom) veliko večja in slabše topna. Zaradi tega in zaradi čvrstjšega polimernega gela je njeno sproščanje počasnejše. Iz Diagrama 19 je razvidno, da je sprva sproščanje v M1 hitrejše kot v M2, potem pa se sproščanje v primerjavi z medijem 2 upočasni.



Slika 8: Prikaz izhodiščne tablete, nabrekle v M2 ter nabrekle v M1

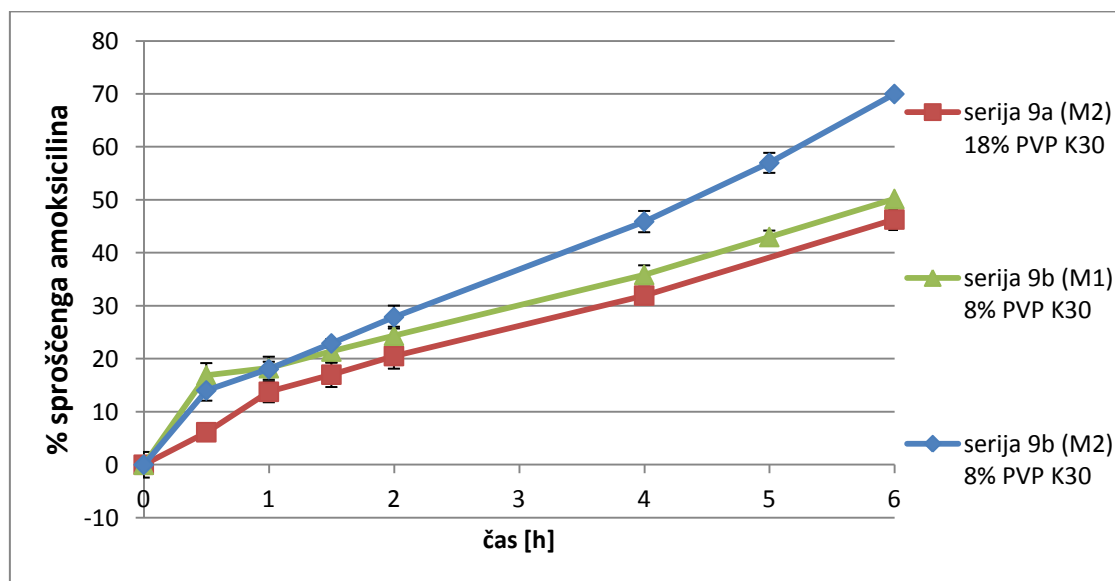


Diagram 19: Primerjava profilov sproščanja med serijama 9a in 9b

6.5.7 REZULTATI SPROŠČANJA NA NAPRAVI 3 PO USP 8 (naprava BioDis)

Ker smo želeli formulacijo 9b izpostaviti večjim obremenitvam, saj je le-tem podvržena tudi v želodcu, smo sproščanje izvedli tudi na napravi 3 po USP (BioDis). Menili smo, da bomo tako lažje simulirali pogoje prebavnega trakta in bodo rezultati tako relevantnejši.

Poskuse smo izvedli, kot je opisano v poglavju 5.3.4.5, rezultati pa so prikazani v Preglednici 13.

Preglednica 13: Rezultati sproščanja amoksisicilina na napravi BioDis (poskus 1–7)

1. POSKUS				2. POSKUS			
Medij, dip/min	Čas [h]	Delež sproščenega AMX [%]	SD [%]	Medij, dip/min	Čas [h]	Delež sproščenega AMX [%]	SD [%]
M2, 10 dip/min	0	0,00	0,00	M1 10 dip/min	0	0,00	0,00
	0,5	6,81	0,51		1	20,89	2,90
	1	10,43	0,56		1,5	30,72	2,91
	1,5	15,47	0,56		2	33,37	2,62
	2	19,00	0,61	M2 10 dip/min	2,5	37,92	2,64
	2,5	24,41	0,83		3	39,99	3,04
	3	28,43	1,07		4	49,64	4,41
	3,5	33,83	2,28		5	56,48	3,98
	4	37,34	3,05		6	66,72	4,76
	4,5	43,34	4,51		7	72,98	4,25
	5	51,29	6,30		8	81,97	4,34
	7	73,6	5,2				
3. POSKUS							
Izvedli tudi poskus z 20 dip/min, vendar so tablete kmalu začele razpadati. Menimo, da ni tableta v prebavnem traktu nikoli podvržena tako velikim obremenitvam toliko časa, zato smo se v naslednjem poskusu odločili za kombinacijo različnih hitrosti potopov na minuto (poskus 4), s katerimi smo želeli čim bolj posnemati MMC v želodcu.							
4. POSKUS							
Medij	Čas [h]	Število potopov/min	Delež sproščenega AMX [%]		SD [%]		
M1	0	10	0		0		
	1		22,40		1,08		
	1,3	15	30,50		1,73		
	1,5	20	35,93		2,59		
	2	10	42,12		3,03		

	3	10	58,35	3,88
	3,3	15	66,19	5,13
	3,5	20	70,73	5,45
5. POSKUS				
Medij	Čas [h]	Število potopov/min	Delež sproščenega AMX [%]	SD [%]
M1	0	10	0,00	0,00
	1		19,58	2,09
	1,3	15	27,68	2,72
	1,5	20	32,93	3,52
	2	10	39,11	4,05
M2	3	10	45,72	5,07
	4	10	53,78	6,37
	5	10	63,72	6,74
	6	10	74,01	6,79
	7	10	78,03	5,86
	8	10	83,28	5,10
6. POSKUS splavale po 1,5 minute				
M1*	0	10	0,00	0,00
	1		41,52	5,27
	1,33	15	53,99	6,07
	1,5	20	59,86	3,13
	2	10	79,69	5,73
7. POSKUS splavale po 6 minutah				
M2*	0	10	0,00	0,00
	1		13,01	0,52
	1,33	15	18,08	0,57
	1,5	20	20,83	0,68
	2	10	25,57	0,64
	3	10	34,97	0,57
	4	10	44,82	0,39
	5	10	55,63	0,38
	6	10	67,00	0,66
	7	10	72,36	0,48
	8	10	80,87	0,66

6.5.8 VPLIV MEDIJA NA SPROŠČANJE AMX V BIODISU

Sprva smo formulacijo 9b obremenili z 10 potopi na minuto in primerjali rezultate prvega in drugega poskusa na napravi BioDis. V prvem poskusu smo jo ves čas sproščali v M2, v drugem poskusu smo jo prvi dve uri sproščali v M1, nato v M2. Iz rezultatov je razvidno, da medij močno vpliva na samo sproščanje. Na Diagramu 20 je viden tudi prelom v krivulji sproščanja ob spremembi medija, kar kaže na različno kinetiko sproščanja AMX pri različnem pH. V mediju z nižjim pH se učinkovina hitreje sprošča v začetnem delu sproščanja, nato pa se sprošča počasneje. Vzrok takšnemu sproščanju je vpliv pH medija na PVP K30 in XAN.

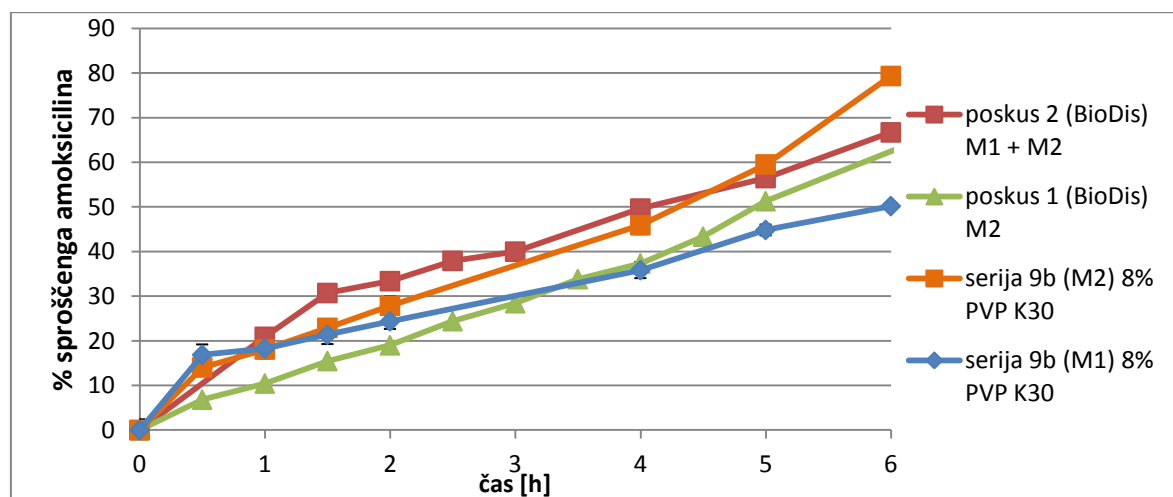


Diagram 20: Primerjava rezultatov sproščanja med serijo 9b (v M1 in M2) in poskusom 1 in 2 na BioDisu. Poskus 1 smo izvajali v M2, poskus 2 pa prvi 2 uri v M1 pozneje pa v M2.

6.5.9 VPLIV ŠTEVILA POTOPOV/ MINUTO NA SPROŠČANJE AMX IZ OGRODNIH TABLET

Posnemati smo želeli najbolj kritično situacijo, ki ji je podvržena farmacevtska oblika v želodcu, in sicer med migracijskim motoričnim kompleksom (ali mioelektričnim motoričnim kompleksom) oziroma na kratko MMC, ki se začne nekaj ur po zaužitju hrane. V tem obdobju je FO podvržena največjim silam kontrakcije, kar bi lahko poškodovalo plavajočo tableto ali jo celo potisnilo naprej po prebavnem traktu. Zato smo želeli simulirati pogoje v MMC, za katerega je značilno obdobje močnih kontrakcij, ki mu sledi daljše obdobje mirovanja.

Preglednica 14: Faze migracijskega motoričnega kompleksa (MMC) in število potopov/ minuto, s katerimi smo v naših poskusih posnemali faze MMC.

Faza	Značilnost faze	Čas trajanja faze pri simulaciji [min]	Število potopov/min v našem poskusu
I (45–60 min)	obdobje počivanja	60	10
II (30–45 min)	kontrakcije, ki se stopnjujejo	15	15
III (5–15 min)	močne, pogoste ritmične kontrakcije	10	20
IV (0–5 min)	prehodna faza	30	10

Iz rezultatov sproščanja je razvidno (Diagram 21), da povišana hitrost potopov na minuto vpliva na samo sproščanje AMX iz plavajočih tablet, kar smo tudi pričakovali, saj je zaradi hidrodinamskih obremenitev oteženo nabrekanje polimera oziroma pospešena erozija ogrodja.

Primerjali smo poskusa 2 in 5, kjer smo prvi 2 uri sproščanje izvajali v M1 nato pa nadaljevali v M2. V poskusu 2 smo imeli ves čas konstantno potapljanje, in sicer 10 potopov/min, v poskusu 5 pa smo v M1 simulirali MMC-cikel. Iz diagrama je razvidno, da je razlika med sproščanjem AMX med poskusoma prav v prvem delu (v času faze III in IV), saj število potopov na minuto močno vpliva na samo sproščanje. Pri večji hitrosti potapljanja se sprostí večji delež učinkovine, saj zaradi višjih strižnih sil viskoznost pade, zato XAN hitreje erodira ter s tem ne upočasni toliko difuzije AMX iz ogrodja tablete.

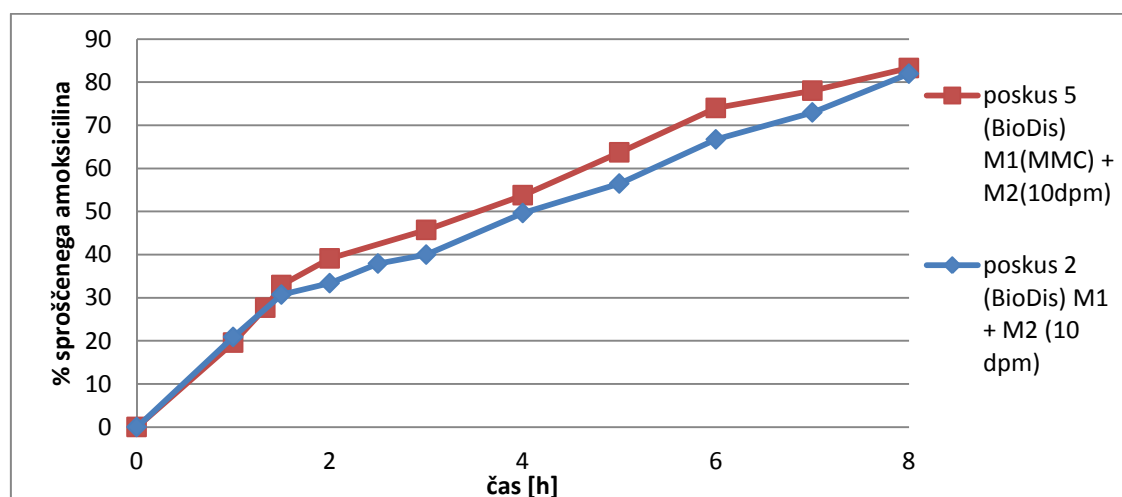


Diagram 21: Primerjava rezultatov sproščanja amoksicilina med poskusom 2, pri katerem je bila frekvenca potopov/min ves čas 10, in poskusom 5, kjer smo v prvem delu posnemali MMC.

Proučevali smo tudi vpliv medija na sproščanje v času MMC. Iz Diagrama 22 je razvidno, da se je največ AMX sprostil v mediju s pH 1,2 in povišano ionsko jakostjo. V dveh urah je razlika v sproščanju kar 100%, saj se v mediju s pH 1,2 in povišano ionsko jakostjo (M1*) sprosti kar 80 % AMX v primerjavi z M1, kjer se sprosti le 40 % učinkovine.

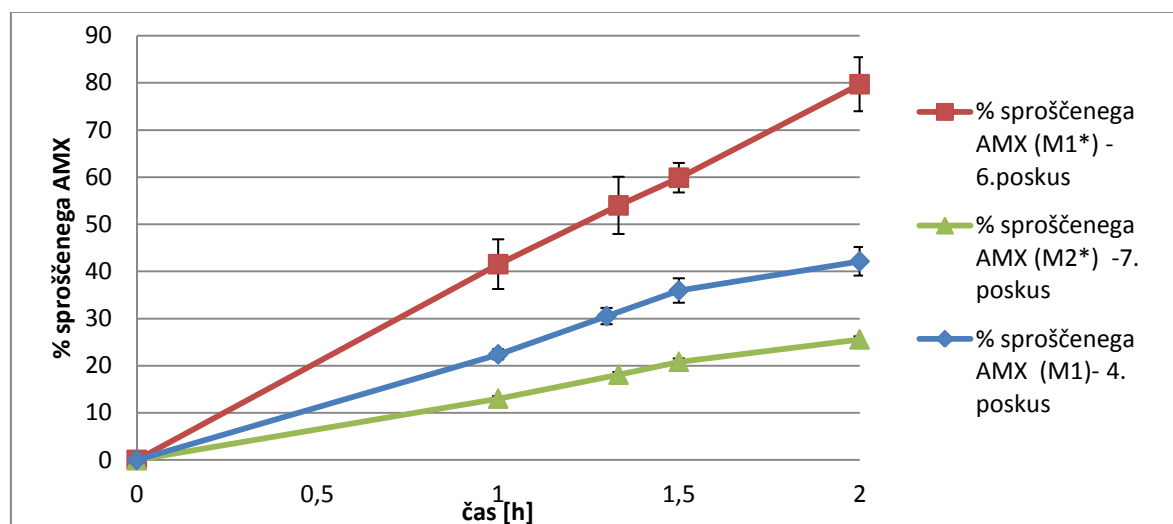


Diagram 22: Primerjava rezultatov sproščanja amoksicilina med MMC-ciklom v mediju M1* (pH 1,2 + povišana ionska moč – poskus 6), M1 (pH 1,2 – poskus 4) in M2* (pH 2 + povišana ionska moč – poskus 7).

Vzrok povišanemu deležu sproščenega AMX v mediju M1 z višjo ionsko jakostjo je, da XAN v mediju z višjo ionsko jakostjo manj nabrekne in s tem ne upočasni sproščanja AMX iz ogrodja tablete. Hitrejše sproščanje ZU je posledica reorganizacije vodikovih vezi, ki prispevajo k povečani rigidnosti in manjšemu nabrekanju gela. Omenjena reorganizacija nastane zaradi nevtralizacije karboksilnih skupin v območju nizkega pH in ob prisotnosti ionov. V medijih z nižjo ionsko močjo pa karboksilne skupine deionizirajo in povzročijo razpad vodikovih vezi, zaradi česar je omogočen lažji dostop vode v polimerni matriks, kar povzroči večje nabrekanje gela [62]. Iz rezultatov pa je vidno, da povišana ionska moč nima izrazitega vpliva na sproščanje v mediju s pH 2.

7 SKLEP

Namen našega dela je bil izdelava enoplastnih plavajočih tablet na osnovi ksantana z vgrajeno učinkovino amoksisicilin trihidrat za zdravljenje okužb s *Helicobacter pylori*. Plavajoče tablete so eden izmed pristopov za doseg podaljšanega časa zadrževanja farmacevtske oblike v želodcu in s tem neposrednega delovanja ZU na bakterijo v želodčni sluznici. Pri takšnem pristopu je treba zaužiti manjše odmerke antibiotikov, s čimer izboljšamo komplanco bolnika in zmanjšamo možnost pojava odpornosti.

S preizkusom časovnega razpada AMX smo ugotovili, da le ta zaradi svoje strukture močno razpada v mediju z nizkim pH (1,2 in 2). V mediju s pH 1,2 je po 24 urah prisotnih le še 40 % učinkovine.

V prvem delu naloge smo izvedli preliminarne teste, pri katerih smo s spremembami sestave formulacije in pogoji tabletiranja vplivali na izboljšano sproščanje AMX, konsistenco in čas splavanja tablet.

Ugotovili smo sledeče:

- Na sproščanje AMX iz tablet vpliva velikost delcev AMX, saj se manjši delci raztopijo hitreje.
- Sproščanje AMX je odvisno od deleža vgrajenega ksantana. Večja količina ksantana povzroči počasnejše sproščanje, saj vpliva na debelino plasti hidrofilnega gela.
- V tablete je treba vgraditi primeren delež natrijevega hidrogenkarbonata, saj ima nad določenim deležem (20 %) nasproten učinek (poveča gostoto matriksa).
- Dodatek hidrogeniranega ricinusovega olja močno podaljša čas splavanja tablet.
- Z dodatkom drugih polimerov h ksantanskemu ogrodju vplivamo tako na konsistenco kot na debelino hidrofilnega gela.
- Dodatek hidrofilnega polimer polivinilpirolidona (PVP K30) močno izboljša čas splavanja, samo sproščanje pa je počasnejše. Če pa ga dodamo v kombinaciji s HMPC K100LV, se sproščanje AMX močno izboljša. Iz tablete s HPMC K4M se je AMX sproščal počasneje kot iz tablet s HPMC K100LV. Kombinacija ksantana in HPMC vodi v slabšo konsistenco tablete.
- Pri višji hitrosti vrtenja vesel se sprosti večji delež AMX.

- Kombinacija ksantana in 18 % PVP K30 pri nizkem pH (1,2) deluje močno razgrajevalno.

Na podlagi proučevanja sproščanja AMX iz plavajočih tablet lahko zaključimo, da nanj močno vpliva pH medija. V mediju s pH 2 se je iz izbrane serije 9b, ki je vsebovala 8 % PVP K30, v 6 urah sprostito 70 % AMX in tableta je splavala v 9 minutah, v mediju s pH 1,2 pa se je sprostito 50 % AMX in je tableta splavala v 1,2 minute. Formulacija z 8 % PVP K30 in samo s ksantanom kot ogrodnim polimerom je tako predstavljala najbolj obetavno formulacijo v preliminarnih testih za dostavo AMX v želodec. To formulacijo smo nato izpostavili večjim obremenitvam na napravi BioDis, s katero smo želeli simulirati pogoje v MMC.

- Pri večji hitrosti potapljanja se sprostí večji delež AMX. Kljub obremenitvam je konsistenca nabrekle tablete po 8 urah še vedno zadovoljiva.
- Viden je bil vpliv spremembe ionske moči medija. V mediju s pH 1 se je povečanje ionske moči izražalo v pospešenem sproščanju AMX, v mediju s pH 2 pa ni bilo vidno izrazito povišanje.

Zaključimo lahko, da so plavajoče tablete na osnovi ksantana in z dodatkom PVP K30 z vgrajenim AMX primerne kot farmacevtska oblika s podaljšanim časom zadrževanja v želodcu za zdravljenje okužb s *H. pylori*. Dosegli smo želeno sproščanje AMX, čas splavanja in robustnost farmacevtske oblike, da obdrži konsistenco kljub povečani hidrodinamski obremenitvi, ki ji je podvržena v želodcu.

8 LITERATURA

- [1] Bardonnet PL, Faivre V, Pugh WJ, Piffaretti JC, Falson F: Gastroretentive dosage forms: Overview and special case of *Helicobacter pylori*. *J Control Release* 2006; 111: 1–18
- [2] Tapia-Albarran M, Villafuete-Robles L: Assay of amoxicillin sustained release from matrix tablets containing different properties of Carbopol 971P NF. *Int J Pharm* 2004; 273: 121–27
- [3] Baumgartner S, Kristl J, Vrečar F, Vodopivec P, Zorko B: Optimisation of floating matrix tablets and evaluation of their gastric residence time, *Int J Pharm* 2000; 195: 124–35
- [4] Rajinikanth PS, Balasubramaniam J, Mishra B: Development and evaluation of a novel floating in situ gelling systems of amoxicillin for eradication of *Helicobacter pylori*. *Int J Pharm* 2007; 335: 114–122
- [5] Umamaheshwari RB, Ramteke S, Jain NK: Anti-*Helicobacter Pylori* Effect of Mucoadhesive Nanoparticles Bearing Amoxicillin in Experimental Gerbils Model. *Pharm Sci Tech* 2004; 5: članek 32
- [6] Tadakazu T, Yoshiharu M: Preparation of amoxicillin intragastric buoyant sustained-release tablets and the dissolution characteristics. *J Control Release* 2006; 110: 581–586
- [7] Singh B N, Kim K H: Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. *J Control Release* 2000; 63: 235–59
- [8] Kerč J, Opara J: A new amoxicillin/clavulanate therapeutic system: Preparation, in vitro and pharmacokinetic evaluation. *Int J Pharm* 2007; 335: 106–13
- [9] Ishak RAH, Awad GAS, Mortada ND, Nour SAK: Preparation, in vitro and in vivo evaluation of stomach-specific metronidazole-loaded alginate beads as local anti-*Helicobacter pylori* therapy. *J Control Release* 2007; 119: 207–14
- [10] Baumgartner S. Vpliv gibanja prebavnega trakta na potovanje farmacevtskih oblik in absorpcijo učinkovin. *Farm Vestn* 2003; 54: 573–81
- [11] Ramteke S, Ganesh N, Bhattacharya S, Jain NK: Amoxicillin, clarithromycin, and omeprazole based targeted nanoparticles for the treatment of *H. pylori*. *J Drug Target* 2009; 17: 225–34.

- [12] Whitehead L, Fell JT, Collett JH, Sharma HL, Smith A: Floating dosage forms: an in vivo study demonstrating prolonged gastric retention. *J Control Release* 1998; 55: 3–12
- [13] Nallasamy V., Ramanathan S. Role of Novel Drug Delivery System in Stomach Specific Anti-Helicobacter Pylori Therapy, *J Pharma Res* 2012, 5(2), 1165–68
- [14] Tang Y, Venkatraman SS, Boey FYC, Wang L: Sustained release of hydrophobic and hydrophilic drugs from a floating dosage form. *Int J Pharma* 2007; 336: 159–65
- [15] Hwang SJ, Park H, Park K: Gastric Retentive Drug-Delivery Systems *Critical Reviews in Therapeutical Drug Carrier Systems* 1998; 15: 243–284
- [16] P.W. Dettmar, J.G. Loyd-Jones, Method of treatment of Helicobacter pylori infection with triclosan, US patent 5286492, February 15, 1994
- [17] Umamaheshwari RB, Jain S, Bhadra D, Jain NK. Floating microspheresbearing acetohydroxamic acid for the treatment of Helicobacter pylori. *J Pharm Pharmacol* 2003; 55: 1607–13.
- [18] Sahasathian T, Praphairaksit N, Muangsin N. Mucoadhesive and floating chitosan-coated alginate beads for the controlled gastric release of amoxicillin. *Arch Pharm Res* 2010; 33: 889–99.
- [19] Yang L, Eshraghi J, Fassihi R. A new intragastric delivery system for the treatment of Helicobacter pylori associated gastric ulcer: in vitro evaluation. *J Control Release* 1999; 57: 215–22.
- [20] Jianhua Z, Chaowu L, Decai B, Yanjun Z, Xiaojun M. Preparation and evaluation of floating-bioadhesive microparticles containing clarithromycin for the eradication of Helicobacter pylori. *J Appl Poly Science* 2006; 102: 2226–32.
- [21] Higo S, Ori K, Takeuchi H, Yamamoto H, Hino T, Kawashima Y. A novel evaluation method of gastric mucoadhesive property invitro and the mucoadhesive mechanism of tetracycline-sucralfate acidic complex for eradication of Helicobacter pylori. *Pharm Res* 2004; 21: 413–19
- [22] Ramteke S, Jain NK. Clarithromycin- and omeprazole-containing gliadin nanoparticles for the treatment of Helicobacter pylori. *J Drug Target* 2008; 16: 65–72.

- [23] Chickering DE, Mathiowitz E. Definitions, mechanisms and theories of bioadhesion, in: Mathiowitz E., Chickering DE, Lehr CM (Eds.), *Bioadhesive Drug Delivery Systems—Fundamentals. Novel Approaches and Development*, Marcel Dekker, New York, 1999.
- [24] Liu Z, Lu W, Qian L, Zhang X, Zeng P, Pan J. In vitro and in vivo studies on mucoadhesive microspheres of amoxicillin. *J Control Release* 2005; 102: 135–44.
- [25] Katayama H, Nishimura T, Ochi S, Tsuruta Y, Yamazaki Y, Shibata K, Yoshitomi H. Sustained release liquid preparation using sodium alginate for eradication of *Helicobacter pylori*. *Biol Pharm Bull* 1999; 22: 55–60.
- [26] Hejazi R, Amiji M. Stomach-specific anti-*H. pylori* therapy: II. Gastric residence studies of tetracycline-loaded chitosan microspheres in gerbils. *Pharm Dev Technol* 2003; 8: 253–62.
- [27] Tokumura T, Machida Y. Preparation of amoxicillin intragastric buoyant sustained-release tablets and the dissolution characteristics. *J Control Release* 2006; 21: 581–6.
- [28] Chun MK, Sah H, Choi HK. Preparation of mucoadhesive microspheres containing antimicrobial agents for eradication of *H. pylori*. *Int J Pharm* 2005; 297: 172–9.
- [29] Gurny R, Junginger HE. (Eds.), *Bioadhesion—Possibilities and Future Trends*, Paperback APV, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1990.
- [30] Lin YH, Chang CH, Wu YS, Hsu YM, Chiou SF, Chen YJ. Development of pH-responsive chitosan/heparin nanoparticles for stomach-specific anti-*Helicobacter pylori* therapy. *Biomaterials* 2009; 30: 3332–42.
- [31] Muralidhar N, Chandra SRG, Prabhakar RV, Formulation and Evaluation of Gastroretentive Dosage Forms of Clarithromycin. *AAPS PharmSciTech*. 2008; 9: 231–37.
- [32] R.B. Umamaheshwari, N. K. Jain, receptor-mediated targeting of lipobeads bearing acetohydroxamic acid for treatment of *Helicobakter pylori*, *J Control Release* 2004; 99: 27–40.
- [33] Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273–4.
- [34] Slovenski medicinski e-slovar:

- <http://lsm1.amebis.si/lsmeds/novPogoj.aspx?pPogoj=Helicobacte> (povzeto 25. 3. 3013)
- [35] Gubina M, Ihan A: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo, Medicinski razgledi, Ljubljana, 2002: 221–4
- [36] Olson JW, Maier RJ (2002). Molecular hydrogen as an energy source for *Helicobacter pylori*. *Science* 298 (5599) 2002: 1788–90
- [37] Stark RM, Gerwig GJ, Pitman RS et al. (1999). "Biofilm formation by *Helicobacter pylori*". *Lett Appl Microbiol* 28 (2)
- [38] Tombola F, Carlesso C, Szabo I, de Bernard M in sod: H. pylori vacuolating toxin forms anion-selective channels in planar lipid bilayers. *Biphs J.* 1999; 76(3): 1401–09
- [39] Peek R M: *Helicobacter pylori* infection and disease: from humans to animal models. *Dis Model Mech* 2008; 1: 50–5
- [40] Tepeš B, Štabuc B. Priporočila Slovenskega združenja za gastroenterologijo in hepatologijo za zdravljenje okužb z bakterijo *Helicobacter pylori*. *Zdrav Vestn* 2011; 80: 647-56
- [41] IARC Working Group on the evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *Helicobacter pylori*. In: Schistosomes, Liver Flukes and *Helicobacter pylori*. Views and expert Opinions of an IARC Working Group on the Evaluation of carcinogenic Risks to Humans. Lyon: IARC; 1994. p. 177–240
- [42] Gubina M, Tepeš B, Vidmar G, Ihan A, Logar J, Wraber-Herzog B. Prevalenca protiteles proti bakteriji *Helicobacter pylori* v Sloveniji v letu 2005. *Zdrav Vestn* 2006; 75: 169–73
- [43] Osredkar J: Dihalni test s sečnino – njegovo mesto v diagnostiki. *Zdrav Vestn* 2004; 73: 13–7
- [44] Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 167–80.
- [45] Tepeš B, Gubina M. Razlogi za neuspeh antimikrobnega zdravljenja okužb z bakterijo *Helicobacter pylori* in naše terapevtske možnosti. *Zdrav Vestn* 2004; 73: 503–6
- [46] Jaup BH. Dual »rescue« therapy for eradication of H. pylori in previous triple therapy failure. *Gut* 1999; 45: A 118.

- [47] European Pharmacopoeia, 7th Edition. Strassbourg, Council of Europe 2011 992–4
- [48] <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Amoxicillin.svg> (8. 3. 2013)
- [49] Anderluh M: Predavanje iz farmacevtske kemije III, šolsko leto 2010/2011
- [50] Erah PO, Goddard AF, D. A. Barrett DA, Shaw PN, Spiller RC, The stability of amoxycillin, clarithromycin and metronidazole in gastric juice: relevance to the treatment of *Helicobacter pylori* infection. J Antimicrobial Chemotherapy 1997; 39: 5–12
- [51] Centralna baza zdravil (povzeto 25. 3. 2013)
- [52] Kerč J, Opara J: A new amoxicillin/clavulanate therapeutic system: Preparation, in vitro and pharmacokinetic evaluation. Int J Pharm 2007; 335: 106–13
- [53] Hoffman A, Danenberg HD, Katzhendler I, Shuval R, Gilhar D, Friedman M: Pharmacodynamic and pharmacokinetic rationales for the development of an oral controlled-release amoxicillin dosage form. J Control Release 1998; 54: 29–37
- [54] Tepeš B, Gubina M. Razlogi za neuspeh antimikrobnega zdravljenja okužb z bakterijo *Helicobacter pylori* in naše terapevtske možnosti. Zdrav Vestn 2004;73: 503–6
- [55] Majumdar D, Bebb J, Atherton J: *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcers. Medicine 2007; 35: 204–9
- [56] Lapasin R, Prici S: Rheology of Industrial Polysaccharides: Theory and Applications, Blackie Academic & Professional, London 1995.
- [57] <http://www.sansho.co.jp/industrial/gif/xanthan.jpg> (povzeto 10.6. 2013)
- [58] European Pharmacopoeia 7th Edition, monografija: Xanthan gum (Xanthani gummi). EDQM, Strasbourg, 2011.
- [59] Talukdar M. M, Kinget R, Swelling and drug release behaviour of xanthan gum matrix tablets. Int J Pharm, 120 (1995) 63–72
- [60] Zibelnik T: Uporaba z aluminijevimi ioni premreženega ksantana za izdelavo tablet s podaljšanim sproščanjem, Diplomaska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2006
- [61] Rozman B, Baumgartner S, Gašperlin M: Interakcije ksantana in semenske sluzi rožičevca v vodnih sistemih. Farm Vestn 2005; 56: 109–14.

- [62] Govedarica B, Sovány T, Pintye-Hódi K, Skarabot M, Baumgartner S, Mušević I, Srčić S. Addressing potent single molecule AFM study in prediction of swelling and dissolution rate in polymer matrix tablets. *Eur J Pharm Biopharm.* 2012; 80(1):217–25.
- [63] Barnes H. A. A handbook of elementary rheology. Aberystwyth, Univerity of Wales, Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics 2000; 210.
- [64] Baumgartner S, Pavli M, Kristl J. Effect of calcium ions on the gelling and drug release of xanthan matrix tablets. *Eur J Pharm Bioparm.* 2008; 69: 698–707.
- [65] Felicijan R. Določanje reoloških lastnosti gelskih struktur ksantana. Diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, 2012
- [66] Planinc N. Korelacija med reološkimi lastnostmi in hitrostjo sproščanja iz ogrodnih tablet iz ksantana, diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2011
- [67] <http://www.pharmaingredients.basf.com/Documents/ENP/Review%20Articles/DDT-June-2008.pdf> (povzeto 25. 3. 2013)
- [68] Krajnc Urban. Načrtovanje, izdelava in vrednotenje plavajočih tablet na osnovi ksantana. Diplomaska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo 2007
- [69] Fan HY, Wang J, Yan GC. Increasing gastric juice pH level prior to anti-*Helicobacter pylori* therapy may be beneficial to the healing of duodenal ulcers. *Exp Ther Med.* 2013 Mar; 5(3): 912–916.
- [70] Kibbe AH. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 3rd ed. London. UK: Pharmaceutical press. 2000; 94–95