

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

KATARINA MIKLAVČIČ

MAGISTRSKO DELO

**PROUČEVANJE SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IZ
KARAGENANSKIH OGRODNIH TABLET V RAZLIČNIH
MEDIJIH IN KORELACIJA S TVORBO GELSKE PLASTI**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO



KATARINA MIKLAVČIČ

MAGISTRSKO DELO

**PROUČEVANJE SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IZ
KARAGENANSKIH OGRODNIH TABLET V RAZLIČNIH
MEDIJIH IN KORELACIJA S TVORBO GELSKE PLASTI**

**THE STUDY OF PENTOXIFYLLINE FROM
CARRAGEENAN HYDROPHILIC MATRIX TABLETS IN
VARIOUS MEDIA AND CORRELATION WITH THE
FORMATION OF THE GEL LAYER**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2014

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

Iskreno se zahvaljujem prof. dr. Saši Baumgartner, mag. farm. za vso pomoč in strokovne nasvete pri izdelavi magistrske naloge.

Za pomoč in praktične nasvete v laboratoriju se zahvaljujem Tatjani Hrovatič in Mojci Keržan.

Posebna zahvala gre mojemu možu Tomažu, moji družini in vsem prijateljem za vso podporo tekom študija.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko delo samostojno izdelala pod vodstvom prof. dr. Saše Baumgartner, mag. farm.

Katarina Miklavčič

Predsednik magistrske komisije:

izr. prof. dr. Mitja Kos, mag. farm.

Član magistrske komisije:

asist. dr. Stane Pajk, mag. farm.

VSEBINA

1	POVZETEK	iv
2	SEZNAM OKRAJŠAV	vi
3	UVOD	1
3.1	DOSTAVNI SISTEMI ZA PODALJŠANO SPROŠČANJE UČINKOVIN.....	1
3.2	HIDROFILNE OGRODNE TABLETE.....	2
3.2.1	MEHANIZEM SPROŠČANJA ZU IZ HIDROFILNE OGRODNE TABLETE	2
3.3	KARAGENANI.....	3
3.3.1	STRUKTURA KARAGENANOV	4
3.3.2	MEHANIZEM NASTANKA GELA IZ KAPPA IN IOTA KARAGENANA	5
3.3.3	NABREKANJE KARAGENANOV PRI RAZLIČNIH pH-JIH	6
3.4	POGOJI V GASTROINTESTINALNEM TRAKTU NA TEŠČE.....	7
3.4.1	POGOJI V ŽELODCU NA TEŠČE.....	7
3.4.2	POGOJI V TANKEM ČREVESJU NA TEŠČE.....	8
3.5	MEDIJI ZA SPROŠČANJE.....	8
3.5.1	VODA	9
3.5.2	BIORELAVANTNI ŽELODČNI MEDIJ FaSSGF NA TEŠČE	9
3.5.3	BIORELEVANTNI ČREVESNI MEDIJ FaSSIF NA TEŠČE.....	10
3.6	NATRIJEV DODECIL SULFAT (SDS)	11
3.7	METODE MERITVE DEBELINE GELSKE PLASTI	12
3.7.1	OPTIČNA MIKROSKOPIJA	13
3.7.2	GRAVIMETRIČNO DOLOČANJE DEBELINE GELSKE PLASTI.....	13
3.7.3	NMR SLIKANJE	14
3.8	PENTOKSIFILIN	15
4	NAMEN DELA	17
5	MATERIALI IN NAPRAVE	18
5.1	MATERIALI ZA IZDELAVO TABLET IN PRIPRAVO MEDIJEV ZA SPROŠČANJE	18
5.2	NAPRAVE.....	18
6	POSTOPKI IN METODE	19
6.1	PRIPRAVA RAZTOPIN ZA SPROŠČANJE	19
6.1.1	PRIPRAVA RAZTOPINE SDS-A V PREČIŠČENI VODI.....	19
6.1.2	PRIPRAVA RAZTOPINE NaCl V PREČIŠČENI VODI.....	19
6.1.3	PRIPRAVA 0,05M HCl (pH=1,2)	19
6.1.4	PRIPRAVA MEDIJA HCl + SDS (pH=1,2).....	20

6.1.5	PPRIPRAVA BIORELEVANTNEGA ŽELODČNEGA MEDIJA FaSSGF PO DRESSMANOVI.....	20
6.1.6	PRIPRAVA SIMULIRANEGA ČREVESNEGA MEDIJA (SIF) S pH=6,8.....	21
6.1.7	PRIPRAVA BIORELEVANTNEGA ČREVESNEGA MEDIJA FaSSIF S pH=6,5.....	22
6.1.8	PRIPRAVA BIORELEVANTNEGA ČREVESNEGA MEDIJA FaSSIF S pH=5,0.....	23
6.2	IZDELAVA OGRODNIH TABLET.....	23
6.3	ENAKOMERNOST MASE ENOODMERNIH TABLET.....	24
6.4	TRDNOST TABLET.....	25
6.5	IZDELAVA UMERITVENIH PREMICE.....	25
6.6	IZVAJANJE POSKUSOV SPROŠČANJA.....	26
6.6.1	SPROŠČANJE NA NAPRAVI 2 PO USP.....	26
6.6.2	SPROŠČANJE NA NAPRAVI 3 PO USP.....	28
6.7	GRAVIMETRIČNO DOLOČANJE DEBELINE GELSKE PLASTI.....	29
7	REZULTATI IN RAZPRAVA.....	30
7.1	FARMACEVTSKO-TEHNOLOŠKO VREDNOTENJE TABLET.....	30
7.1.1	ENAKOMERNOST MASE ENOODMERNIH TABLET.....	30
7.1.2	TRDNOST TABLET.....	32
7.2	IZDELAVA UMERITVENIH PREMICE.....	34
7.3	VPLIV MEDIJA NA SPROŠČANJE PF IZ OGRODNIH TABLET.....	35
7.3.1	PROUČEVANJE VPLIVA MEDIJA NA SPROŠČANJE PF IZ OGRODNIH TABLET NA NAPRAVI Z VESELI.....	35
7.3.2	PROUČEVANJE VPLIVA MEDIJA NA SPROŠČANJE PF IZ OGRODNIH TABLET NA NAPRAVI BIO-DIS.....	47
7.4	GRAVIMETRIČNO DOLOČANJE DEBELINE GELSKE PLASTI.....	48
7.4.1	GRAVIMETRIČNO DOLOČANJE DEBELINE GELSKE PLASTI ZA CARR KAPPA1.....	49
7.4.2	GRAVIMETRIČNO DOLOČANJE DEBELINE GELSKE PLASTI ZA CARR IOTA.....	50
8	SKLEP.....	54
9	LITERATURA.....	55

1 POVZETEK

Karagenani so anionski sulfatirani linearni polisaharidi, ki jih pridobivajo z ekstrakcijo iz rdečih alg razreda *Rhodophyceae*. Razdelimo jih glede na količino in pozicijo sulfatnih skupin v disaharidni enoti polimerne molekule. Najpogosteje uporabljeni karagenani so κ (kappa), ι (iota) in λ (lambda). V magistrski nalogi smo proučili sproščanje modelne učinkovine pentoksifilin iz štirih vrst karagenanov (κ_1 , κ_2 , ι in λ). Sproščanje smo izvajali na napravi 2 po USP v medijih, ki simulirajo *in vivo* pogoje v želodcu in tankem črevesu na tešče. Rezultate sproščanja pentoksifilina iz tablet na osnovi različnih vrst karagenanov smo primerjali med sabo. Proučili smo tudi vpliv posameznih sestavin biorelevantnega želodčnega medija (FaSSGF) na sproščanje pentoksifilina. Sproščanje pentoksifilina iz tablet na osnovi različnih karagenanov smo izvedli tudi na napravi 3 po USP, ki se uporablja za simulacijo obnašanja tablet v gastrointestinalnem traktu. Na podlagi rezultatov sproščanja na napravi 2 v FaSSGF mediju smo izbrali polimere, ki smo jim gravimetrično določili debelino gelske plasti. Rezultate smo korelirali z rezultati sproščanja na napravi 2 po USP.

Na sproščanje pentoksifilina iz ogrodnih karagenanskih tablet vplivajo posamezne komponente v mediju FaSSGF. Ugotovili smo, da kisel pH vpliva na različne vrste karagenanskih tablet različno, najhitreje se sprosti pentoksifilin iz tablet na osnovi κ karagenana, sledi λ , najpočasneje pa iz ι karagenana. Pri karagenanu κ pride do razpleta dvojne vijačnice in s tem do hitre sprostitve učinkovine, medtem ko je karagenan ι v kislem stabilen. Na sproščanje tablet na osnovi κ_1 zelo vpliva tudi prisotnost Na^+ iona, saj je vpliv tako medija z SDS kot medija z dodanim NaCl enak. Sproščanje iz tablet na osnovi ι karagenana je najmanj odvisno od vrste medija, so pa tablete nekoliko bolj občutljive na povečane hidrodinamske obremenitve. Ravno nasprotno pa smo za tablete na osnovi λ karagenana ugotovili, da je sproščanje odvisno od vrste uporabljenega medija, manj pa na tablete vplivajo hidrodinamski pogoji. Z merjenjem debeline gelske plasti smo potrdili, da tablete na osnovi κ karagenana tvorijo tanjši gelski sloj, zato je sproščanje iz njih hitrejše, medtem ko tablete na osnovi ι karagenana tvorijo debelejši sloj in zagotavljajo podaljšan čas sproščanja. Zaključimo lahko, da tablete na osnovi karagenana κ niso primerne za izdelavo tablet s podaljšanim sproščanjem, saj razpadejo v vsej medijih prej kot v 6-ih urah. Najprimernejša polimera za podaljšano sproščanje sta se izkazala karagenana ι in λ , vendar bi morali proučiti še vpliv prisotnosti hrane na sproščanje.

ABSTRACT

Carrageenan is a sulphated anionic linear polysaccharide obtained by extraction of certain red seaweeds of the *Rhodophyceae* class. They are classified by a number and a position of the sulfate groups. The most important types of carrageenans are kappa (κ), iota (ι) and lambda (λ). The dissolution of the model drug pentoxifylline from the four types of carrageenans (κ_1 , κ_2 , ι and λ) was examined. USP Apparatus 2 was used to evaluate the dissolution behavior in media that simulates *in vivo* gastrointestinal conditions in fasted state and then the dissolution testing's results, from different types of carrageenans, were compared. Further dissolution studies of the model drug from all four types of carrageenan in the individual components of the FaSSGF (fasted state simulated gastric fluid) medium, were studied. A dissolution test for pentoxifylline from all four types of carrageenan was carried out using USP Apparatus 3, which is used for simulating tablet behavior in gastrointestinal tract. The outcomes from the dissolution testing, using USP Apparatus 2, in FaSSGF medium helped us to select the appropriate polymers for gravimetric determination of the gel layer thickness. The experimental results were correlated with the ones from the dissolution testing estimations in the same media, obtained by Apparatus 2.

It has been found that dissolution of pentoxifylline from carrageenan matrix tablets has a notable impact on the individual components, regarding FaSSGF medium. Acid pH shows an influences when the specific order of pentoxifylline dissolution from different carrageenans, is concerned ($\kappa > \lambda > \iota$). It has been proposed that the double helix structure in carrageenan κ is destroyed in the acid pH, which promotes dissolution of pentoxifylline, whereas carrageenan ι is stable in acid pH. It has been demonstrated that Na^+ ions have a great impact on pentoxifylline dissolution from carrageenan κ_1 since, the same dissolution behavior was found in SDS (sodium dodecyl sulfate) and NaCl. The dissolution of pentoxifylline from carrageenan ι is not depended on the medium, but is depend on hydrodynamics of the gastrointestinal tract. The opposite was determined for carrageenan λ . It has been proved that tablets from carrageenan ι form thicker gel layer than carrageenan κ_1 and thus, are capable of providing the extended release. To sum up, carrageenan κ tablets are not appropriate for dosage forms, where the extended release is preferable. That is mainly due to the fast desintegration. Within that thesis it has been proposed that the most appropriate polymers are carrageenan ι and λ , but it should be crucial to study the influence of the food on dissolution of the drug.

2 SEZNAM OKRAJŠAV

carr: karagenan

DDS: sistemi za dostavo učinkovin (ang. drug delivery system)

dpm: potopi na minuto

FaSSGF: biorelevantni želodčni medij na tešče (ang. fasted state simulating gastric fluid)

FaSSIF: biorelevantni črevesni medij na tešče (ang. fasted state simulating intestinal fluid)

FO: farmacevtska oblika

GIT: gastrointestinalni trakt

HEC: hidroksietil celuloza

PAS: površinsko aktivna snov

PF: pentoksifilin

Ph. Eur. 7th Ed.: Evropska farmakopeja 7. izdaja

rpm: vrtljaji na minuto

RSD: relativna standardna deviacija

SD: standardna deviacija

SIF: simuliran črevesni medij (ang. simulated intestinal fluid)

TČ: tanko črevo

USP: Ameriška farmakopeja

ZU: zdravilna učinkovina

κ , ι , λ carr: kappa, iota, lambda karagenan

3 UVOD

3.1 DOSTAVNI SISTEMI ZA PODALJŠANO SPROŠČANJE UČINKOVIN

V zadnjem času je v porastu razvoj farmacevtskih formulacij s podaljšanim sproščanjem. S takšno formulacijo dosežemo počasnejše sproščanje vodotopnih komponent, dobimo željen profil sproščanja zdravilne učinkovine (ZU), zmanjšamo število dnevnih odmerjanj farmacevtske oblike (FO), izboljšamo sodelovanje pacienta in lahko zmanjšamo število stranskih učinkov (1).

Prav tako lahko z uporabo FO s prirejenim sproščanjem dosežemo:

- manjšo porabo zdravil;
- zmanjšanje akumulacije ZU v telesu pri kronični terapiji;
- izboljšano biološko uporabnost nekaterih ZU, zaradi dostave na točno določeno mesto;
- ekonomične prednosti za zdravstveni sistem (2).

Seveda imajo ti sistemi tudi slabosti kot so:

- zakasnitev nastopa aktivnosti ZU;
- možna sprostitvev celotne količine ZU naenkrat (ang. dose dumping) v primeru slabo načrtovane formulacije;
- večja možnosti metabolizma prvega prehoda;
- dostava ZU na mesto absorpcije je odvisna od časa zadrževanja FO v različnih delih GIT;
- vse ZU niso primerne za vgradnjo v sistem s podaljšanim sproščanjem (2).

Dostavne sisteme za podaljšano sproščanje učinkovin delimo na:

- dostavni sistemi nadzorovani z difuzijo (ang. diffusion-controlled DDS): mednje sodijo tudi hidrofilne ogrodne tablete;
- dostavni sistemi nadzorovani z raztapljanjem (ang. dissolution-controlled DDS);
- dostavni sistemi nadzorovani z osmozo (ang. osmotic controlled DDS);
- dostavni sistemi na osnovi biorazgradljivega polimera (ang. biodegradable polymeric DDS);
- programirani dostavni sistemi (ang. programmable DDS) (1).

3.2 HIDROFILNE OGRODNE TABLETE

Hidrofilne ogrodne tablete so relativno preprosta FO sestavljena iz ZU, polimera in pomožnih snovi (polnil, veziv). Za izboljšanje in optimizacijo sproščanja ali stabilnosti ZU je možen dodatek stabilizatorjev, solubilizatorjev, površinsko aktivnih snovi (PAS) in snovi za uravnavanje pH-ja. Sestavine stisnemo v tableto z direktnim tabletiranjem ali s tabletiranjem po granuliranju. Hidrofilne ogrodne tablete so najpogosteje uporabljena oblika dostavnega sistema s prirejenim sproščanjem. Omogočajo namreč sproščanje ZU po želenem profilu sproščanja za širok spekter ZU, dobro *in vitro-in vivo* korelacijo, njihova izdelava pa je enostavna in poceni (1,2).

3.2.1 MEHANIZEM SPROŠČANJA ZU IZ HIDROFILNE OGRODNE TABLETE

Mehanizem sprostitve ZU iz hidrofilne ogrodne tablete je kompleksen. Temelji na difuziji ZU skozi hidratirane polimerne verige in eroziji hidratiranega polimera na površini ogrodja tablete. Tableta se ob stiku z vodno raztopino omoči, nastopi hidratacija polimera, ki tvori gelsko strukturo okoli ogrodja. Pri procesu nastanka gelske plasti pride do pretvorbe polimera iz steklastega v gumijasto stanje. Zaradi te pretvorbe pride do relaksacije polimera in nabrekanja tablete. Ta mehanizem pripomore k sprostitvi ZU. Jedro tablete v začetni fazi ostane suho. Z vstopom vode v tableto se gelska plast v odvisnosti od časa povečuje in predstavlja difuzijsko oviro za ZU. Ko postane zunanja gelska plast v celoti hidratirana, pride do razpleta in sprostitve polimernih verig v vodno raztopino, kar je vidno kot erozija površine ogrodne tablete. Voda penetrira v jedro tablete skozi gelsko plast do razpada celotne tablete. Vodotopne ZU se iz hidrofilne ogrodne tablete sproščajo z difuzijo in erozijo, medtem ko se ZU netopne v vodi sproščajo pretežno z erozijo (2).

Sprostitev ZU iz tablete je nadzorovana z vstopom vode v tableto, ki povzroči nabrekanje polimera ali raztapljanje ogrodja tablete. Na podlagi tega delimo hidrofilne ogrodne tablete v tri skupine:

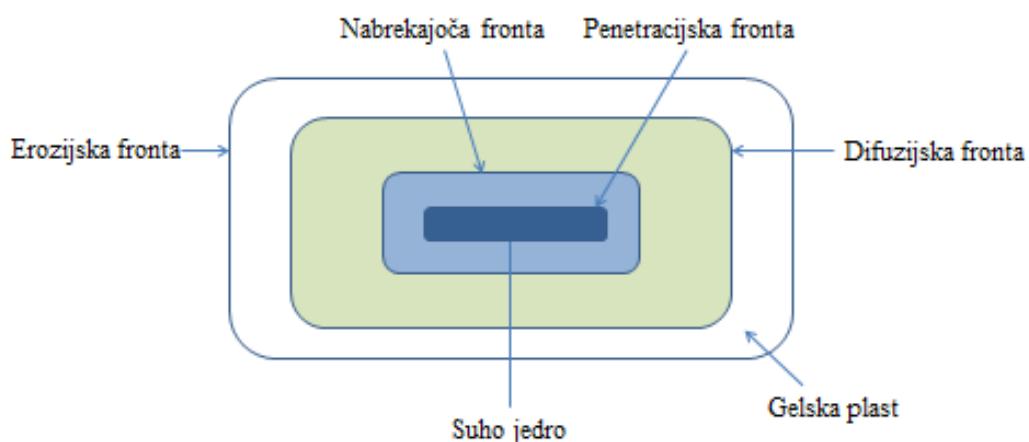
- Hidrofilne ogrodne tablete, pri katerih je sprostitvev ZU nadzorovana z nabrekanjem polimera: Voda vstopi v ogrodje tablete, ZU se raztopi in s pomočjo difuzije prehaja skozi gelsko plast ven iz ogrodja tablete. V tem primeru nadzoruje sproščanje ZU voda, ki penetrira v tableto.
- Hidrofilne ogrodne tablete, pri katerih je sprostitvev ZU nadzorovana z raztapljanjem ogrodja: Z vstopom vode v tableto polimer nabrekne in tvori gel.

Polimer se v vodi tudi raztopi in erodira. V tem primeru nadzoruje sproščanje ZU raztapljanje polimera v vodi.

- Hidrofilne ogrodne tablete, pri katerih je sprostitvev ZU nadzorovana s kombinacijo nabrekanja polimera in raztapljanjem ogrodja (1).

Ob vstopu medija v hidrofilno ogrodno tableto se v tableti tvorijo fronte (slika 1), ki se tekom procesa nabrekanja premikajo in ob eroziji polimera izginejo:

- Penetracijska fronta: fronta, do katere prodre voda v tableto, polimer je omočen, vendar je še vedno v steklastem stanju.
- Nabrekajoča fronta: z vstopom vode v ogrodje preide polimer iz steklastega stanja v hidratirano oziroma gelsko stanje. Ta fronta loči steklasto stanje od hidratiranega (gelskega) stanja.
- Difuzijska fronta: je fronta pozicionirana med nabrekajočo in erozijsko fronto. Loči gelsko plast, v kateri je ZU raztopljena, od ogrodja, ki vsebuje neraztopljeno ZU.
- Erozijska fronta: loči gelsko plast ogrodne tablete od okoljne raztopine (1).



Slika 1: Shema hidrofilne ogrodne tablete po vstopu medija.

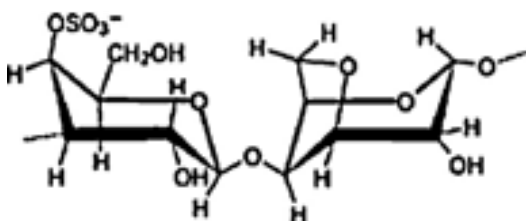
3.3 KARAGENANI

Karagenani so anionski sulfatirani linearni polisaharidi. Disaharidne enote so sestavljene iz izmenjajočih enot D-galaktoze in 3,6-anhidro-galaktoze, ki so povezane z 1,3- α in 1,4- β glikozidnimi vezmi. Pridobivajo jih z ekstrakcijo rdečih alg razreda *Rhodophyceae*. Poznamo več vrst karagenanov, ki se razlikujejo v kemijski strukturi in lastnostih.

Klasificirani so glede na količino in pozicijo sulfatnih ($-\text{OSO}_3^-$) skupin. Najpogosteje uporabljeni karagenani so κ (kappa), ι (iota) in λ (lambda). V farmacevtski industriji se uporabljajo kot polimerna ogrodja v tabletah s podaljšanim sproščanjem, kot pomoč pri izdelovanju pelet z ekstruzijo in kot stabilizatorji v nanosistemi. Uporabljajo se tudi v prehranski industriji kot gelirna sredstva in sredstva za zgoščevanje. Uporaba naravnih polimerov narašča, zaradi njihove inertnosti, varnosti, netoksičnosti, biokompatibilnosti, biorazgradljivosti in nizke cene (3,4).

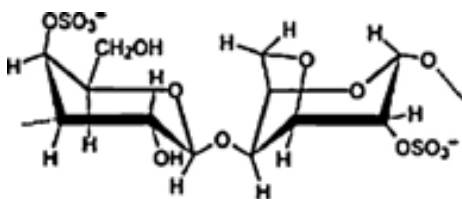
3.3.1 STRUKTURA KARAGENANOV

Kappa karagenan (carr κ) je kopolimer D-galaktoze-4-sulfata in 3,6-anhidro-D-galaktoze, ki sta povezani z 1,3- α in 1,4- β vezmi. Večinoma ga pridobivamo iz alg vrste *Kappaphycus alvarezii*. Molekulska masa je v povprečju od 400 do 600 kDa (5).



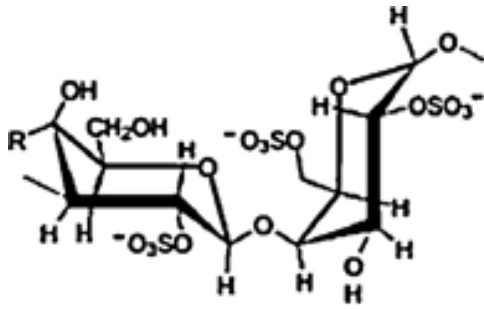
Slika 2: Struktura idealizirane ponavljajoče enote kappa karagenana. Povzeto in pripravljeno po (4).

Iota karagenan (carr ι) je kopolimer D-galaktoze-4-sulfata in 3,6-anhidro-D-galaktoze-2-sulfata, ki sta povezana z 1,3- α in 1,4- β vezmi. Pridobivamo ga večinoma iz alg vrste *Eucheuma spinosum* ali *E. denticulatum*. Molekulska masa je v povprečju od 400 do 600 kDa (5).



Slika 3: Struktura idealizirane ponavljajoče enote iota karagenana. Povzeto in pripravljeno po (4).

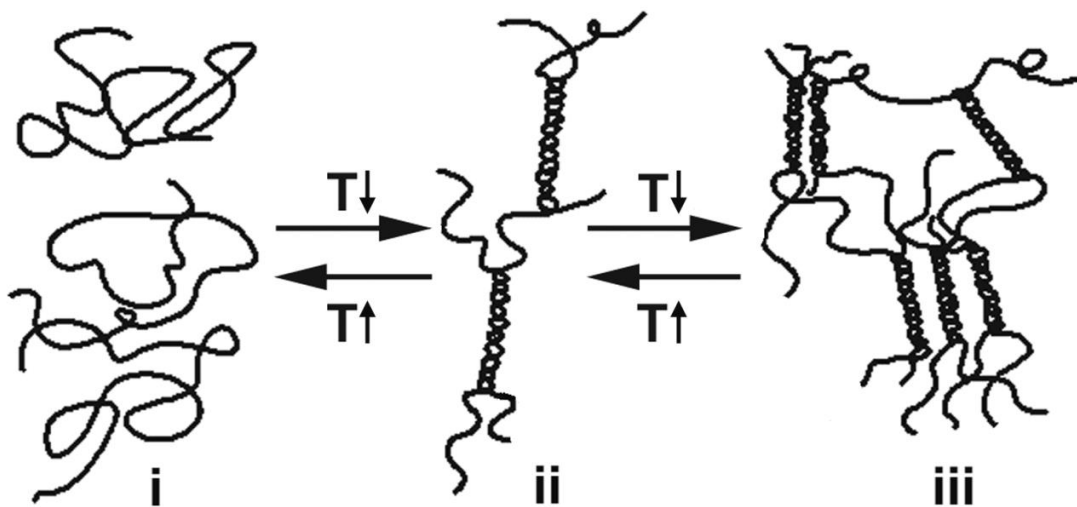
Lambda karagenan (carr λ) sestavljata dve monomerni enoti, in sicer D-galaktoza-2-sulfat in D-galaktoza-2,6-disulfat. Večinoma ga pridobivamo iz alg vrste *Sarcothalia crispata*. Molekulska masa je v povprečju od 400 do 800 kDa (5).



Slika 4: Struktura idealizirane ponavljajoče enote lambda karagenana. Povzeto in prirejeno po (4).

3.3.2 MEHANIZEM NASTANKA GELA IZ KAPPA IN IOTA KARAGENANA

Carr κ in carr ι ob hlajenju ali dodatku ionov, kot so Na^+ , K^+ in Ca^{2+} , tvorita gele. Zaradi visoke sulfatiranosti carr λ ne tvori gelov, ampak viskozne raztopine. Mehanizem nastanka gela pri karagenanih (slika 5) lahko ponazorimo s tako imenovano teorijo modela domen. V sol stanju so karagenani v obliki naključno postavljenih verig polimera. Ob znižanju temperature pride do nastanka dvojne vijačnice. V nadaljevanju lahko pride do agregacije različnega števila dvojnih vijačnic in prečne povezane le teh v domene, ki omogočajo nastanek gela (6,7).



Slika 5: Shematični prikaz mehanizma nastanka gela pri κ -karagenanu. i) konformacija naključnih verig polimera, ii) struktura dvojne vijačnice, iii) agregacija dvojne vijačnice. Povzeto in prirejeno po (8).

Ker so v ponavljajočih enotah karagenanov prisotne sulfatne skupine z nabojem, imajo pomembno vlogo pri nastanku gela nasprotno nabiti ioni. Ob prisotnosti kationov se tvorijo iz dvojnih vijačnic različnih polimernih domen agregati, ki tvorijo kohezivne mreže. K^+ ioni povzročijo geliranje carr κ . Pride do nastanka ionske vezi med K^+ ionom in sulfatno

skupino ostanka D-galaktoze, temu sledi tvorba sekundarne elektrostatske vezi med K^+ in kisikom na anhidro mostu. Nastane kohezivna mreža, ki ima obliko čebeljega satja, ki ji daje večjo trdnost. Če je koncentracija K^+ ionov v disperziji enaka koncentraciji carr κ (pri koncentraciji obeh nad 0,4% w/v), pride do motnje prečne povezave in oblika čebeljega satja se podre. Negativni vpliv lahko pripišemo nasičenosti prečno premreženih con in agregaciji polimernih struktur, ki motijo kohezivno kvarterno strukturo sistema. Manjši monovalentni ioni kot je Na^+ , se ionsko lahko vežejo le na sulfatno skupino. S takšno vezavo povzročijo le zmanjšano fleksibilnost disaharidnih enot karagenana. Tvorba gela pri carr ι je manj odvisna od prisotnosti monovalentnih ionov kot pri carr κ . Pri carr ι verige same težijo k tvorbi dvojne vijačnice (6,7,9).

3.3.3 NABREKANJE KARAGENANOV PRI RAZLIČNIH pH-JIH

Raziskovalca Hazaveh in Indayu Muhamad sta proučevala stabilnost hidrogelov iz carr κ v medijih z različnimi pH-ji. Temperatura in pH sta ključna parametra v človeškem telesu, zato sta raziskovalca za proučevanje izbrala takšne polimere, ki tvorijo gele v odvisnosti od temperature in pH-ja (10).

Primerjala sta nabrekanje samega polimera carr κ in po dodatku različne količine hidroksietil celuloza (HEC). HEC je polimer, ki ima veliko hidroksilnih skupin in je dobro topen v vodi. Nabrekanje sta proučevala pri sobni temperaturi v pufrskih raztopinah s pH 1.2 (0,1N HCl), 7 in 12 (0,1M NaOH). Ob določenih časovnih točkah sta jemala hidrogel iz raztopine, ga popivnala s papirjem in stehtala. Poskus sta nadaljevala v svežem mediju. Odstotek nabrekliga polimera sta računala po enačbi 1:

$$\text{odstotek nabrekanja (\%)} = \left[\frac{W_t - W_0}{W_0} \right] \times 100 \quad \text{/enačba 1/}$$

W_t ...masa nabrekliga gela ob času t

W_0 ...začetna masa vzorca

Na začetku poskusa je bilo nabrekanje v vseh medijih veliko, ker je bilo nadzorovano z ionskim kemičnim potencialom. V nadaljevanju so ioni v vzorcu in mediju dosegli ravnovesje, zato se nabrekanje ni več povečevalo. V kislem okolju je prišlo do ravnovesja ionov po 2 h, pri višjih pH pa veliko kasneje. Najmanjše nabrekanje je bilo v kislem mediju, ker pride do protonacije sulfatne skupine in nastanka vodikovih vezi med

hidroksilnimi skupinami carr κ. Tako pride do kompaktnejše povezave med verigami polimera, vstop medija je manjši in s tem manjše nabrekanje. V bazičnem mediju je bilo nabrekanje večje kot v nevtralnem in kislem mediju. Najverjetnejši vzrok je elektrostatski odboj polimernih verig zaradi ionizacije kislinskih sulfatnih skupin in s tem prekinitve vodikove vezi. Pride do razrahljanja polimerne strukture, difuzije medija vanjo in posledično nabrekanja polimera (10).

3.4 POGOJI V GASTROINTESTINALNEM TRAKTU NA TEŠČE

V zadnjem času se je povečala težnja po zmanjšanju števila *in vivo* študij, ki so potrebne za odobritev novega farmacevtskega produkta. Eden izmed pristopov so *in vitro-in vivo* korelacije (IVIVC). *In vitro* testi (večinoma testi sproščanja ZU) se uporabljajo kot orodje za predvidevanje obnašanja farmacevtske oblike v *in vivo* pogojih (11). Če *in vitro* rezultati ne prikazujejo obnašanja FO v *in vivo*, je potrebno opraviti več kliničnih študij, kar poveča stroške proizvodnje končnega izdelka. Da so rezultati *in vitro* testiranja pravilni oziroma dajejo napovedljive rezultate za *in vivo* študije, je potrebno poznati pogoje v gastrointestinalnem traktu (GIT). Poznati moramo sestavo medija, hidrodinamiko v GIT in čas zadrževanja FO v posameznih delih GIT (12).

Skozi celotni GIT se sproščajo različne tekočine: HCl, bikarbonat, encimi, PAS, elektroliti, mukus in voda. Na sproščanje ZU iz FO tako vplivajo različni parametri: pH, prisotnost PAS in volumen medija. Vsi ti parametri variirajo skozi GIT (12).

3.4.1 POGOJI V ŽELODCU NA TEŠČE

Vrednosti pH-ja v želodcu se spreminjajo iz minute v minuto, vendar je pri večini ljudi pH na tešče v mejah med 1,4 in 2,1. Ustrezen medij za sproščanje bi imel pH v pogojih na tešče med 1,5 in 2,0. Zaradi prisotnosti PAS, je površinska napetost želodčne vsebine nižja kot površinska napetost vode. Vrednosti površinske napetosti na tešče so med 35-45 mN/m. V želodcu je glavni encim pepsin (12).

Kako hitro FO zapusti želodec, je odvisno od njenih lastnosti in zaužitja hrane. Normalen čas zadrževanja FO v želodcu je med 5 min in 2 h. Izjema so večje enoodmerne FO, ki se lahko zadržijo tudi do 12 h. V pogojih na tešče ureja aktivnost želodca in prehod FO skozi želodec električna aktivnost želodca (ang. MMC-migrating myoelectric complex), ki je sestavljena iz 4 faz in se ponovi vsaki dve uri:

- FAZA 1: relativno neaktivna perioda, ki traja 40-60 min z redko pojavljajočimi kontrakcijami.
- FAZA 2: poveča se število kontrakcij in traja 40-60 min.
- FAZA 3: pojavijo se močne peristaltične kontrakcije, ki povzročijo odprtje pilorusa in izpraznitev vsebine želodca v tanko črevo (TČ).
- FAZA 4: kratek prehodni čas med močno aktivno fazo 3 in neaktivno fazo 1 (12,13).

3.4.2 POGOJI V TANKEM ČREVESJU NA TEŠČE

V tankem črevesju so vrednosti pH-ja na tešče višje, zaradi bikarbonatnega iona, ki se izloča iz trebušne slinavke in nevtralizira kislino iz želodca. Vrednosti (tabela 1) se razlikujejo tudi med posameznimi deli TČ.

Tabela 1: Vrednosti pH-ja v različnih delih TČ (12).

Del tankega črevesja	pH
duodenum	4,9-6,4
jejunum	4,4-6,5
ileum	6,5-8,0

V pogojih na tešče žolčne soli in lecitin tvorijo mešane micele. Koncentracija žolčnih soli znaša med 3-5 mM. Vrednosti za duodenum in jejunum so podobne, vrednosti za ileum pa so nižje, zaradi absorpcije žolčnih soli z aktivnim transportom. Vrednosti površinske napetosti znašajo v povprečju 32,2 mN/m (14). Ob zaužitju hrane se sprostijo encimi lipaze, amilaze in proteaze (12).

Hidrodinamika TČ je sestavljena iz kombinacije segmentacijskih in peristaltičnih kontrakcij. Segmentalne kontrakcije se pojavijo na kratkih razdaljah (manj kot 2 cm) in služijo mešanju vsebine lumna. Peristaltične kontrakcije pa so glavni mehanizem, ki omogoča premik vsebine lumna vzdolž GIT (12).

3.5 MEDIJI ZA SPROŠČANJE

Test sproščanja ZU se najpogosteje uporablja za predvidevanje obnašanja FO v *in vivo* pogojih ali za celostno kontrolo izdelka pred sprostitvijo na trg. Preproste puferske vodne raztopine, ki se običajno uporabljajo pri testu sproščanja, ne zajamejo vseh aspektov

fizioloških pogojev v GIT. Predvidevanje obnašanja farmacevtske oblike v GIT zahteva ustrezno posnemanje pogojev v želodcu in proksimalnem delu tankega črevesa. S tem namenom so razvili biorelevantne medije, ki posnemajo pogoje v GIT pred in po obroku (15,16).

3.5.1 VODA

Voda je najpreprostejši medij, ki se uporablja za test sproščanja. Ima zelo nizko pufersko kapaciteto. Njen pH je odvisen od izvora, zato ne odseva fizioloških pogojev (16).

3.5.2 BIORELEVANTNI ŽELODČNI MEDIJ FaSSGF NA TEŠČE

Med glavnimi lastnostmi, ki vplivajo na sproščanje ZU iz farmacevtske oblike, sta pH in površinska napetost medija. Tipične pH vrednosti v želodcu na tešče so med 1,4-2,1 in so pomembne predvsem za sproščanje ZU, ki so šibke kisline ali baze. Vrednosti površinske napetosti v želodcu na tešče so med 35-45 mN/m. Tako nizko površinsko napetost povzroča pepsin, ki je PAS. Običajno se za znižanje površinske napetosti vodnih raztopin pri pripravi medijev za sproščanje uporabljajo sintetične PAS kot je natrijev dodecilsulfat (SDS), ki znižajo vrednosti površinske napetosti na takšne kot so v *in vivo* pogojih. Vpliv površinske napetosti je pomemben pri vrednotenju sproščanja hidrofobnih ZU (17). Površinsko aktivne snovi izboljšajo močenje prahov in tako pospešijo raztapljanje prahov in ZU (18).

Raziskovalka Dressman je s sodelavci (12) predstavila sestavo biorelevantnega želodčnega medija, ki je prikazana v tabeli 2.

Tabela 2: Sestava biorelevantnega želodčnega medija (FaSSGF) (12).

Sestava	
HCl (N)	0,01-0,05
natrijev dodecil sulfat (SDS) (g)	2,5
NaCl (g)	2
Prečiščena voda qs	do 1 L
Lastnosti	
pH in površinska napetost ustrezata prej navedenim vrednostim	

3.5.3 BIORELEVANTNI ČREVESNI MEDIJ FaSSIF NA TEŠČE

Biorelevantni črevesni medij so ustvarili z namenom boljšega posnemanja pogojev v TČ. Upoštevali so več faktorjev: pH, pufrska kapaciteta, žolč, sekrecijo iz pankreasa, površinsko napetost, osmolarnost in volumen črevesne vsebine. Medij vsebuje poleg stabilnega fosfatnega pufra tudi žolčne soli in fosfolipide (lecitin). Najpogosteje uporabljene žolčne soli so natrijev tauroholat, natrijev taurodeoksiholat in natrijev glikoholat. Te snovi omogočajo boljšo močenje trdnih FO in solubilizacijo lipofilnih ZU v mešane micelle (14,16).

Mediji pripravljene iz žolčnih soli in lecitina so dragi ter zahtevajo pripravo na dan poskusa. Iz tega razloga se je raziskovalna skupina Klein et al. odločila, da pripravijo biorelevantni medij, ki se ga enostavno pripravi, je poceni in stabilen dalj časa. Natrijev tauroholat in lecitin so zamenjali z različnimi tipi in koncentracijami PAS (19).

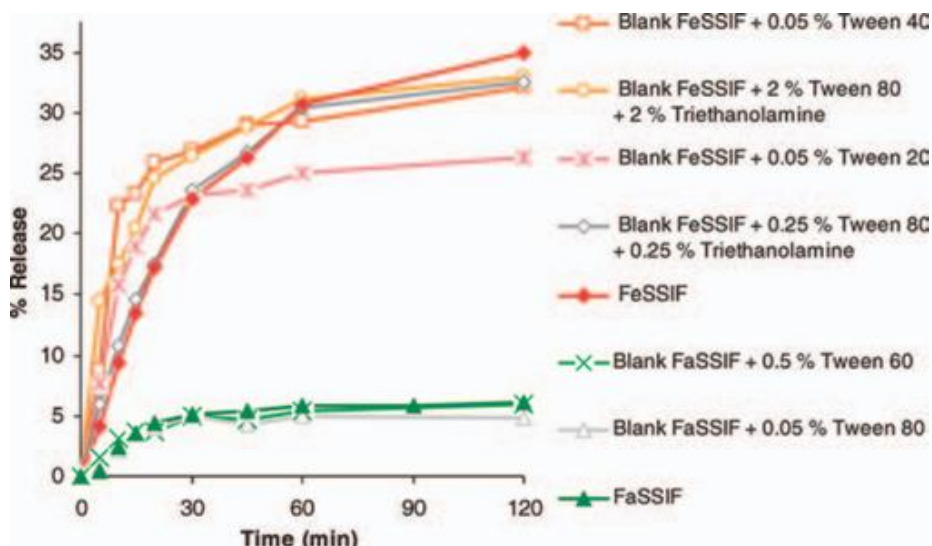
Pripravili so osnovni biorelevantni medij FaSSIF, ki vsebuje natrijev tauroholat in lecitin po recepturi predstavljeni v tabeli 3.

Tabela 3: Sestava biorelevantnega črevesnega medija (FaSSIF) (19).

Sestava	
Natrijev tauroholat (mM)	3
Lecitin (mM)	0,75
NaH ₂ PO ₄ (g)	3,438
NaCl (g)	6,186
NaOH qs	do pH=6,5
Prečiščena voda qs	do 1 L
Lastnosti	
pH	6,5
Osmolarnost (mOsmol/kg)	270
Pufrska kapaciteta (mEq/pH/L)	12
Površinska napetost (mN/m)	54

Poenostavljen medij so pripravili kot slepo raztopino FaSSIF (brez lecitina in natrijevega tauroholata) in mu dodali PAS Tween. Uporabili so 0,5% Tween[®] 60 ali 0,05% Tween[®] 80. Naredili so test sproščanja za učinkovino ketokonazol v mediju FaSSIF in v

poenostavljenima medijema z dodano PAS. Ugotovili so, da je profil sproščanja ketokonazola v poenostavljenih medijih, kjer so uporabili 0,5% Tween[®]60 ali 0,05% Tween[®]80 zelo podoben profilu sproščanja v FaSSIF (slika 6). Zaradi težke topnosti Tween[®]60 v vodnih raztopinah in posledično dolgotrajne priprave medija, niso več izvajali študij v mediju slepa raztopina FaSSIF z 0,5% Tween[®]60. Nadaljnje študije so izvajali v mediju slepa FaSSIF z 0,05% Tween[®]80. Biorelevantnemu mediju FaSSIF (z lecitinom in natrijevim tauroholatom) in poenostavljenemu mediju FaSSIF z 0,05% Tween[®]80 so izmerili osmolarnost, pufrsko kapaciteto in površinsko napetost ter izmerjene vrednosti primerjali med sabo. Ugotovili so, da so vrednosti podobne. Na podlagi te študije lahko sklepamo, da ima medij slepa FaSSIF z dodano PAS Tween[®]80 primerljive lastnosti z biorelevantnim medijem FaSSIF z lecitinom in natrijevim tauroholatom (19).

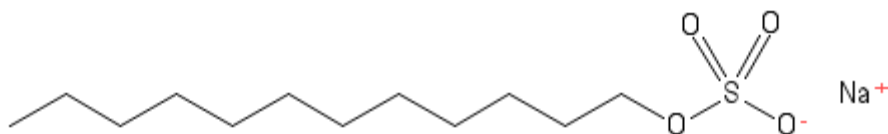


Slika 6: Primerjava profilov sproščanja ketokonazola za slepe raztopine FaSSIF, ki so jim dodali različne PAS. Povzeto in prirejeno po (19).

3.6 NATRIJEV DODECIL SULFAT (SDS)

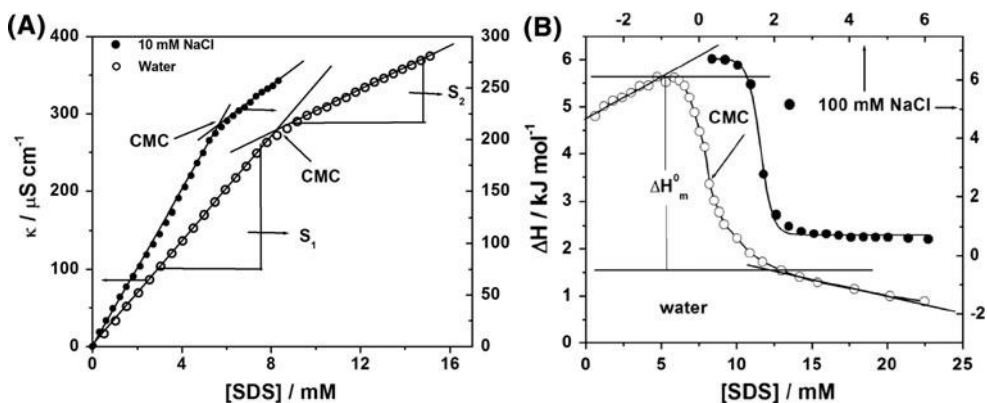
Je anionska PAS, ki znižuje površinsko napetost vodnih raztopin. Uporablja se kot emulgator, močljivec, in sicer v kozmetiki in farmaciji (20).

Molekulska formula SDS-a: $C_{12}H_{25}NaO_4S$ (20)



Slika 7: Struktura natrijevega dodecil sulfata (SDS).

Raziskovalci Nascar et al. so proučevali vpliv dodatka soli NaCl na nastanek micelov v vodni raztopini SDS-a. Ioni iz soli po večini pripomorejo k nastanku micelov, povečajo micelarno agregacijsko število, vplivajo na elektrokinetični potencial in na energijo procesa. Ugotovili so, da se z višanjem koncentracije soli CMC (kritična micelarna koncentracija) vrednost zniža (slika 8) (21).



Slika 8: Prikaz znižanja CMC ob dodatku NaCl. Na sliki A je prikazano znižanje CMC po konduktometričnem določanju, na sliki B pa po mikrokolorimetričnem določanju pri 30°C. Povzeto in prirejeno po (21).

3.7 METODE MERITVE DEBELINE GELSKE PLASTI

Debelina gelske plasti je ključni parameter, ki vpliva na sprostitvev ZU iz ogrodnega sistema, kjer je sproščanje ZU nadzorovano z nabrekanjem polimera. Povečanje debeline gelske plasti zmanjša sproščanje ZU ne glede na geometrijo sistema. Konstantna debelina gelske plasti lahko omogoča sprostitvev ZU iz ogrodja po kinetiki 0. reda. Proučevanje nabrekanja ogrodja vključuje določitev premikanja front med procesom razpada ogrodja, izračun debeline gelske plasti in spremembe v dimenzijah ogrodja. Potek nabrekanja polimera lahko mehanično ovrednotimo s premikom nabrekajoče in erozijske fronte.

Sprostitev ZU je kontrolirana z difuzijo raztopljenega ZU skozi gelsko plast ali pa z erozijo gelske plasti. Raziskovalcem je v zelo velik interes kvalitativna in kvantitativna analiza karakteristik erozijske in nabrekajoče fronte (22,23).

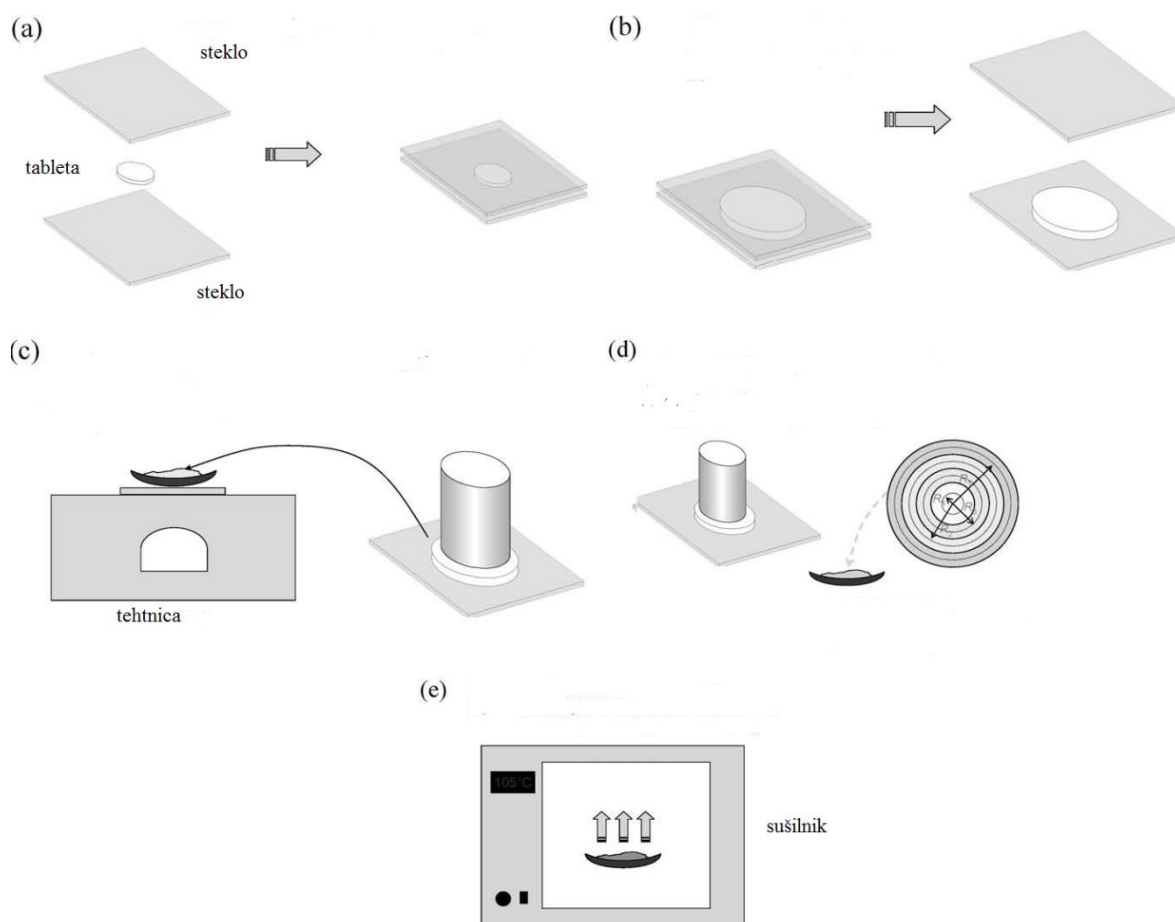
Za določitev debeline gelske plasti se uporabljajo različne tehnike, ki so predstavljene v nadaljevanju:

3.7.1 OPTIČNA MIKROSKOPIJA

Največkrat se uporablja za detektiranje front premikanja medija proti jedru tablete. Detekcija poteka na osnovi spremembe refraktivnega indeksa na meji med polimerom v gelu in sredico tablete v steklastem stanju. V primeru, da polimerne domene ne privzamejo dovolj vode, se optične lastnosti mejnih regij ne razlikujejo dovolj, da bi jih lahko detektirali. Tehnika ima tudi slabosti: ogrodju je preprečeno nabrekanje v aksialni smeri, saj so študije nabrekanja narejene tako, da ogrodni sistem položijo med dve stekli, ki omejujeta penetracijo vode in omogočata nabrekanje polimera samo v radialni smeri tablete. Znano je, da poteka pri ogrodnih sistemih nabrekanje najprej v aksialni smeri, zato s takšnim poskusom ne pokažemo prave narave nabrekanja ogrodja (22).

3.7.2 GRAVIMETRIČNO DOLOČANJE DEBELINE GELSKE PLASTI

Tableto postavimo med dve plasti stekla, da s tem omogočimo dostop mediju do tablete samo iz radialne smeri (korak a na sliki 9). Tako imenovan »sendvič« postavimo v kopel segreto na 37°C. Tableto po želenem času potopa vzamemo iz kopeli in slikamo z digitalno kamero v kontroliranih pogojih izpostavljenosti svetlobi. Zgornji del stekla odstranimo (korak b na sliki 9). Profile intenzitete svetlobe ocenimo s slikovno analizo in z njo določimo debelino nastale gelske plasti. Plast gela odstranimo s pomočjo okroglega modelčka za izrezovanje in na tehtnici stehtamo odstranjeno količino polimera (korak c na sliki 9). Preostanek tablete pokrijemo s steklom in ponovno potopimo v medij. Postopek ponovimo ob vsaki časovni točki. Vse vzorce polimerov posušimo do konstantne mase in določimo količino vode, ki jo je sprejel polimer v določeni časovni točki (24).



Slika 9: Prikaz postopka gravimetričnega določanja debeline gelske plasti. Povzeto in prirejeno po (24).

3.7.3 NMR SLIKANJE

Pred ostalimi metodami ima veliko prednosti: ni invazivna metoda, za izvedbo postopka potrebujemo zelo malo prostora in je visoko občutljiva na gibanje molekul. S to metodo dobro okarakteriziramo obnašanje topila v tableti, medtem ko izvemo o nabrekanju polimernega ogrodja manj. Glavni razlog za to je močan ^1H NMR signal topila, ki zasenči polimerni signal. Iz tega razloga se v topilu vodikov izotop zamenja z devterijem (25).

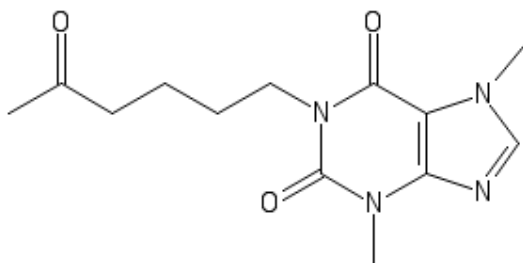
Stisnjeno tableto vstavimo v podporo iz teflona v NMR cevki. Podpora onemogoča puščanje topila med podporo in steno cevke do tablete. S teflonskim vtičem zapremo tubo od spodaj in originalni konec NMR cevke odrežemo stran. Referenčno tableto uporabimo za primerjavo z nabreklo tableto. Vsi deli tube morajo dobro tesniti, razen zgornji del cevke je odprt. Skozi zgornji del cevke nalijemo na tableto D_2O (devterijev oksid). Nabrekanje tablete je tako mogoče samo v eno dimenzijo, kar olajša nastavitvev poskusa in zbiranje rezultatov. Najpomembnejše pa je, da nam takšen poskus omogoča hitro slikanje

nabrekajočega hidrogela. Najprej posnamemo NMR sliko tablete pred izpostavitvijo mediju. Nato NMR cevko odstranimo iz magneta, jo napolnimo z 1 ml D₂O, ki bo povzročil nabrekanje polimera, in ponovno postavimo na magnet. NMR slikanje nabrekajoče tablete izvedemo v želenih časovnih točkah (25).

Pridobljene enodimenzionalne slike so sestavljene iz točk signala S_(z) različne intenzitete v aksialni smeri tablete, kar ustreza smeri gradienta medija. Merimo intenziteto signala S_(z), ki je odvisen od lokalne gostote ¹H, longitudinalnega (T₁) in transverzalnega (T₂) relaksacijskega časa. Polimer ima v suhem stanju majhno gibljivost, zato je signal zaradi kratkega transverzalnega časa nizek. S povišanjem molekularne mobilnosti in povišanjem transverzalnega relaksacijskega časa amplituda signala naraste. Amplituda signala se uporabi kot merilo pozicije hidratirane fronte nad katero je polimer hidratiran in mobilan (25).

3.8 PENTOKSIFILIN

Pentoksifilin (PF) spada v farmakoterapevtsko skupino periferni vazodilatatorji. Njegovo hemoreološko delovanje je posledica zmanjšanja viskoznosti krvi in povečanja prožnosti eritrocitov. Mehanizem, po katerem deluje pentoksifilin na izboljšanje reoloških lastnosti krvi, vključuje povečanje koncentracij ATP, cAMP in drugih cikličnih nukleotidov v eritrocitih. PF poleg tega, preko zavore na membrano vezane fosfodiesteraze (kar povzroči povečanje koncentracij cAMP) in sinteze tromboksana, tudi močno zavira spontano in spodbujeno agregacijo trombocitov *in vitro* in *in vivo*, istočasno pa spodbuja sintezo prostaciklina (26).



Slika 10: Struktura pentoksifilina.

Zdravila, ki vsebujejo ZU pentoksifilin so pri odraslih indicirana za:

- Motnje perifernega arterijskega obtoka (makro- in mikrocirkulacije) zaradi ateroskleroze, sladkorne bolezni in vazospazmov (intermitentna klavdicacija, diabetična makro- in mikroangiopatija, Reynaudov sindrom).
- Motnje v venskem krvnem obtoku (potrombotični sindrom, golenska razjeda).
- Motnje možganskega krvnega obtoka (prehodni ishemični napadi, posledice možganske kapi in kronična možganskožilna insuficienca).
- Prekrvavitvene motnje očesa (akutna in kronična stanja zaradi nezadostnega krvnega obtoka v mrežnici) (26).

PF je neionogen in zelo dobro topen v vodi (191 mg v 1 ml vode pri 37°C). V nalogi smo ga uporabili kot modelno učinkovino (27).

4 NAMEN DELA

Cilj magistrske naloge bo proučiti obnašanje ogrodnih tablet na osnovi štirih vrst karagenanov (κ 1, κ 2 in λ) v medijih, ki simulirajo želodčni in črevesni medij v pogojih na tešče. Stisnili bomo tablete iz vseh štirih vrst karagenanov z modelno učinkovino pentoksifilin. S pomočjo proučevanja sproščanja pentoksifilina iz tako pripravljenih tablet bomo proučili obnašanje karagenanov v biorelevantnih medijih. Sestavo medijev bomo pridobili na podlagi literaturnih podatkov. Izvedli bomo poskus sproščanja na napravi 2 po USP in rezultate sproščanja primerjali s sproščanjem pentoksifilina iz karagenanskih tablet v vodi. Za simulacijo dejanskega obnašanja tablet v gastrointestinalnem traktu v *in vivo* pogojih bomo izvedli poskus sproščanja iz tablet na osnovi različnih karagenanov na napravi 3 po USP (BIO-DIS) in te rezultate primerjali z rezultati sproščanja na napravi 2. Za izbrane polimere bomo izvedli tudi gravimetrično določanje debeline gelske plasti in skušali rezultate sproščanja povezati z različno debelino nastale gelske plasti. Na osnovi poskusov bomo med različnimi karagenani skušali izbrati tistega, ki bi bil najprimernejši za oblikovanje ogrodnih tablet s podaljšanim sproščanjem.

5 MATERIALI IN NAPRAVE

5.1 MATERIALI ZA IZDELAVO TABLET IN PRIPRAVO MEDIJEV ZA SPROŠČANJE

- pentoksifilin, Krka, d.d., Novo mesto, Slovenija, videz: bel prah
- natrijev dodecil sulfat (SDS) ($\geq 85\%$), Merck KGaA, Damstadt, Nemčija
- karagenan kappa Gelcarin GP-812NF (karagenan $\kappa 1$); FMC BioPolymer, Rockland, Maine, ZDA; viskoznost 1,5% raztopine: 13 mPas; videz: rumen prah
- karagenan kappa Gelcarin GP-911NF (karagenan $\kappa 2$); FMC BioPolymer, Rockland, Maine, ZDA; viskoznost 1,5% raztopine: 24 mPas; videz: rumen prah
- karagenan iota Gelcarin GP-379NF (karagenan ι); FMC BioPolymer, Rockland, Maine, ZDA; viskoznost 1,5% raztopine: 41 mPas, videz: rumen prah
- karagenan lambda Viscarina GP-209NF (karagenan λ); FMC BioPolymer, Rockland, Maine, ZDA; viskoznost 1,5% raztopine: 560 mPas; videz: rumen prah
- s postopom reverzne osmoze prečiščena voda
- klorovodikova kislina 37% 1L = 1,19kg (HCl), Merck KGaA, Damstadt, Nemčija
- natrijev klorid (NaCl) ($\geq 99,5\%$), Merck KGaA, Damstadt, Nemčija
- kalijev dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) (99,5-100,5%), Merck KGaA, Damstadt, Nemčija
- natrijev hidroksid (NaOH), Titrisol[®] za pripravo $c(\text{NaOH}) = 1\text{M}$ (1N), Merck KGaA, Damstadt, Nemčija
- standardna raztopina pufru pH=7,0 (20°C) 1L = 1,01kg, Certipur[®] Buffer Solution, Merck KGaA, Nemčija
- natrijev dihidrogen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$) (99,0-102,0%), Merck KGaA, Damstadt, Nemčija
- Tween[®]80 (d_4^{20} 1,08), Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Nemčija
- ortofosforna kislina 85% 1L = 1,71 kg, Merck KGaA, Nemčija

5.2 NAPRAVE

- analitska tehtnica, Mettler TOLEDO AG245, Scherzenbach, Švica
- analitska tehtnica, Mettler TOLEDO XS205, Švica
- tehtnica, Sartorius BP1200, leto izdelave 1997, Nemčija
- tehtnica, EXACTA 300EB, Slovenija

- tehtnica, Sartorius AX623, Sartorius Group, Nemčija
- tabletirka na udarec Kilian SP 300 01-SP3, Nemčija
- merilec trdnosti tablet, Vanderkamp VK 200, Benchaver™ Series, ZDA
- spektrofotometer, Hewlett Packard 8453, Nemčija
- naprava za vrednotenje sproščanja z vesli, VanKel VK 7000, ZDA
- avtomatski vzorčevalnik, VanKel VK 8000, ZDA
- magnetno mešalo, IKA®-WERK, RO 15 power, Nemčija
- ultrazvočna kadička, SONIS 4, Iskra, Slovenija
- pH testni lističi (območje meritve pH 1.0-2.8), PEHANON, Macherey-Nagel, Nemčija
- pH meter MA234, Mettler Toledo, pH/Ion Analyzer, Schwarzenbach, Švica
- filtri z velikostjo por 1,20 µm Minisart, Sartorius Stedim
- filtri z velikostjo por 10 µm, Agilent Technologies, ZDA
- naprava za spremljanje sproščanja BIO-DIS Varian, ZDA
- naprava za vrednotenje sproščanja z vesli, ERWEKA® GmbH DT6, Hausenstamm, Nemčija

6 POSTOPKI IN METODE

6.1 PRIPRAVA RAZTOPIN ZA SPROŠČANJE

6.1.1 PRIPRAVA RAZTOPINE SDS-A V PREČIŠČENI VODI

Za sproščanje smo pripravili raztopino SDS-a v prečiščeni vodi s koncentracijo 2,5 g/l. Na kartico smo natehtali 2,5 g SDS-a. V bučko z volumnom 1 liter smo do polovice natočili prečiščeno vodo in vanjo kvantitativno prenesli natehtan SDS. S prečiščeno vodo smo dopolnili do oznake.

6.1.2 PRIPRAVA RAZTOPINE NaCl V PREČIŠČENI VODI

2 g natrijevega klorida smo natehtali na čolniček za tehtanje. Natehtano količino NaCl smo kvantitativno prenesli v litrsko bučko in dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

6.1.3 PRIPRAVA 0,05M HCl (pH=1,2)

Iz koncentrirane HCl smo pripravili 1M HCl. Izračunali smo količino koncentrirane HCl, ki jo potrebujemo za pripravo 1 litra 1M HCl. V litrsko bučko smo do polovice natočili

prečiščeno vodo, s polnilnimi pipetami dodali 83 ml koncentrirane HCl in dopolnili s prečiščeno vodo do oznake na bučki. Iz pripravljene 1M HCl smo z redčenjem pripravili 0,05M HCl. V litrsko bučko smo najprej natočili do polovice prečiščeno vodo. S polnilno pipeto smo dodali 50 ml 1M HCl in dopolnili bučko s prečiščeno vodo do oznake. Pripravljenemu mediju smo izmerili pH s testnimi lističi. Pripravili smo medij s pH=1,2.

6.1.4 PRIPRAVA MEDIJA HCl + SDS (pH=1,2)

V tabeli 4 je prikazana sestava medija.

Tabela 4: Sestava medija HCl + SDS (pH=1,2).

Sestava	
1M HCl (ml)	50
SDS (g)	2,5
Prečiščena voda	do 1 L
Lastnosti	
pH	1,2

V litrsko bučko smo do polovice natočili prečiščeno vodo. S polnilno pipeto smo odpipetirali 50 ml 1M HCl, ki smo jo pripravili iz koncentrirane HCl, dopolnili bučko skoraj do oznake in pomerili pH s testnimi lističi. pH medija je bil 1,2. Natehtali smo 2,5 g SDS-a, ga kvantitativno prenesli v bučko in dopolnili s prečiščeno vodo do oznake. Mediju smo pH merili pred dodatkom SDS-a, ker SDS nima vpliva na pH, moti pa meritev pH-ja s testnimi lističi.

6.1.5 PPRIPRAVA BIORELEVANTNEGA ŽELODČNEGA MEDIJA FaSSGF PO DRESSMANOVI

Biorelevantni želodčni medij smo pripravili po postopku opisanem v članku raziskovalke Dressman et al., 1998 (12). Lastnosti medija so opisane v poglavju 3.5.1, sestava našega medija pa je podana v tabeli 5.

Tabela 5: Sestava biorelevantnega želodčnega medija (FaSSGF) (12).

Sestava	
SDS (g)	2,5
NaCl (g)	2
1M HCl (ml)	50
Prečiščena voda	do 1 L
Lastnosti	
pH	1,2

V litrsko bučko smo do polovice natočili prečiščeno vodo. S polnilno pipeto smo odpipetirali 50 ml 1M HCl in dopolnili s prečiščeno vodo skoraj do oznake. Pomerili smo pH s testnimi lističi. pH medija je bil 1,2. Natehtali smo 2,5 g SDS-a in 2 g NaCl, ju kvantitativno prenesli v bučko ter s prečiščeno vodo dopolnili do oznake. Mediju smo pH merili pred dodatkom SDS-a.

6.1.6 PRIPRAVA SIMULIRANEGA ČREVESNEGA MEDIJA (SIF) S pH=6,8

Pufer smo pripravili po recepturi iz članka raziskovalcev Dressman et al., 2004 (28). V članku je opisana sestava simuliranega črevesnega medija (SIF) po USP 26, ki je predstavljena v tabeli 6.

Tabela 6: Sestava simuliranega črevesnega medija (SIF) s pH=6,8 (28).

Sestava	
KH ₂ PO ₄ (g)	68,05
NaOH (g)	8,96
Prečiščena voda	do 10 L
Lastnosti	
pH	6,8

Pri pripravi medija so v članku uporabili NaOH v trdnem stanju. Pri pripravi našega medija smo uporabili koncentrat NaOH (Titrisol®). Sestava medija po preračunu na ustrezne količine je prikazana v tabeli 7.

Tabela 7: Sestava simuliranega črevesnega medija (SIF) s pH=6,8, ki smo ga uporabili v naših poskusih.

Sestava	
KH ₂ PO ₄ (g)	6,805
1M NaOH pripravljene iz Titrisol [®] (ml)	22
Prečiščena voda	do 1 L
Lastnosti	
pH	6,8

V litrsko bučko smo do polovice natočili prečiščeno vodo, natehtali 6,805 g KH₂PO₄ in ga kvantitativno prenesli v bučko. S polnilno pipeto smo dodali 22 ml 1M NaOH in dopolnili s prečiščeno vodo skoraj do oznake. Premešali smo do nastanka bistre raztopine. S pH metrom, ki je bil predhodno uravnan s standardno raztopino pufru na pH=7,0, smo pomerili pH raztopine. pH raztopine je znašal 6,8 (±0,05). Po potrebi smo pH uravnali z 1M NaOH. Bučko smo dopolnili do oznake s prečiščeno vodo.

6.1.7 PRIPRAVA BIORELEVANTNEGA ČREVESNEGA MEDIJA FaSSIF S pH=6,5

Biorelevantni črevesni medij za sproščanje smo pripravili po članku raziskovalke Klein et al., 2007 (19). Lastnosti medija so opisane v poglavju 3.5.3. Uporabili smo medij, ki je sestavljen iz slepe raztopine FaSSIF (raztopina FaSSIF brez dodanega natrijevega tauroholata in lecitina), ki smo ji dodali PAS Tween[®]80. Medij ima podobne lastnosti kot FaSSIF, vendar je cenovno ugodnejši. Sestava našega medija je predstavljena v tabeli 8.

Tabela 8: Sestava biorelevantnega črevesnega medija (FaSSIF) (19).

Sestava	
NaH ₂ PO ₄ (g)	3,438
NaCl (g)	6,186
1M NaOH (ml)	12
Tween [®] 80 (g)	0,5
Prečiščena voda	do 1 L
Lastnosti	
pH	6,5

V litrsko bučko smo do polovice natočili prečiščeno vodo in vanjo odmerili 12 ml 1M NaOH pripravljeno iz Titrisol[®]. Natehtali smo 3,438 g NaH₂PO₄ in 6,186 g NaCl, ju kvantitativno prenesli v bučko in dopolnili s prečiščeno vodo skoraj do oznake. Mešali smo toliko časa, da so se vse soli raztopile. S pH metrom smo izmerili pH raztopine, ki je znašal 6,5 (±0,05). Po potrebi smo pH uravnali z 1M NaOH. Nato smo natehtali 0,5 g Tween[®]80, ga kvantitativno prenesli v bučko in dopolnili s prečiščeno vodo do oznake. pH raztopine smo merili pred dodatkom PAS.

6.1.8 PRIPRAVA BIORELEVANTNEGA ČREVESNEGA MEDIJA FaSSIF S pH=5,0

Medij s pH=5,0 smo uporabili samo za sproščanje na napravi 3 po USP (BIO-DIS). Medij smo pripravili po enakem postopku kot biorelevantni črevesni medij FaSSIF s pH=6,5 v poglavju 6.1.7, le da smo pH medija uravnali na 5,0 (±0,05), tako da smo prilagodili količino dodanega 1M NaOH pripravljenega iz Titrisol[®]. Sestava medija zbrana v tabeli 9.

Tabela 9: Sestava biorelevantnega črevesnega medija (FaSSIF) s pH=5,0 za sproščanje na napravi 3 po USP.

Sestava	
NaH ₂ PO ₄ (g)	3,438
NaCl (g)	6,186
1M NaOH pripravljene iz Titrisol [®] (ml)	5
Tween [®] 80 (g)	0,5
Prečiščena voda	do 1 L
Lastnosti	
pH	5,0

6.2 IZDELAVA OGRODNIH TABLET

Iz vseh štirih vrst karagenanov smo stisnili tablete. Tablete so bile težke 400 mg ter so vsebovale 300 mg polimera in 100 mg pentoksifilina. Ustrezno količino polimera in pentoksifilina smo natehtali na plastične kartice. S polimerom smo najprej zapolnili luknjice v pateni, nato smo natehtane prahove zmešali po pravilu rastočih mas. Mešali smo vsaj 15 minut, da je bila zmes za tabletiranje popolnoma homogena. Homogenost zmesi je bila vidna že s prostim očesom, saj je PF kepast bel prah, polimeri pa so peščeno rjave barve. Po mešanju prahov je postala zmes svetlo rjave peščene barve. Homogenizirane

prahove smo ročno raztehtali po 400 mg (± 5 mg). Tabletirali smo s tabletirko na udarec Kilian SP 300 01-SP3. Homogeno zmes prahov smo ročno prenesli v matrično vdolbino na tabletirki in z direktnim tabletiranjem stisnili tableto. Med tabletiranjem smo preverjali trdnost tablet, ki smo jo prilagajali s spreminjanjem nastavitve pečatov. Nastavitve pečatov (Tabela 10) smo spreminjali, ker smo imeli polimere z različno stisljivostjo in različne pogoje tabletiranja (temperatura in vlažnost zraka). Za izdelavo tablet smo uporabljali okrogle pečate z ravno površino s premerom 12 mm in brez razdelilne zareze. Po tabletiranju smo tablete shranili v plastično vrečko, da smo vzorce zaščitili pred vplivom vlage iz zraka.

Tabela 10: Nastavitve pečatov pri tabletiranju posamezne vrste karagenana.

	Nastavitev spodnjega pečata (mm)	Nastavitev zgornjega pečata (mm)
CARR- ι		
Serijska 1	12,0	10,7
Serijska 2	12,0	10,5
Serijska 3	12,0	9,9
CARR- λ		
Serijska 1	12,0	10,7
Serijska 2	12,0	10,5
CARR- $\kappa 1$		
Serijska 1	12,0	10,3
Serijska 2	12,0	9,7
Serijska 3	12,0	9,6
CARR- $\kappa 2$		
Serijska 1	12,0	10,6
Serijska 2	12,0	9,9

6.3 ENAKOMERNOST MASE ENOODMERNIH TABLET

Enakomernost mase enoodmernih tablet smo določali po predpisu iz Ph. Eur. 7th Ed. iz poglavja 2.9.5. Uniformity of mass of single dose preparations. Stehtali smo 20 naključno izbranih tablet iz vsake serije. Tem tabletam smo določili povprečno maso. Pri tabletah z maso 250 mg in več, lahko največ dve individualni masi odstopata od povprečne mase za

več kot 5%, nobena masa tablete pa ne sme odstopati za več kot 10% (29). Rezultat smo podali kot povprečno maso, najmanjšo in največjo maso tablet in standardno deviacijo (SD).

6.4 TRDNOST TABLET

Preizkus trdnosti tablet smo izvajali po predpisih iz Ph. Eur. 7th Ed. s testom iz poglavja 2.9.8. Resistance to crushing of tablets (29). Uporabili smo napravo za določanje trdnosti tablet Vanderkamp VK 200. Naprava ima dva kovinska dela, eden je mirujoči, drug gibljivi. Tableto, obrnjeno z večjo površino navzdol, smo postavili ob mirujoč del. Tableta je počila ob stiku z gibljivim delom naprave. Aparat izmeri silo, ki je potrebna za prelom tablete. Aparat je kalibriran z uporabo sistema s preciznostjo 1 newton. Po predpisu iz Ph. Eur. 7th Ed. je potrebno izmeriti silo, pri kateri tableta počí, za 10 tablet iz vsake serije. V našem primeru smo, zaradi omejenega števila tablet, določili trdnost le štirim tabletam iz serije. Rezultat smo podali kot povprečno vrednost, najmanjšo in največjo vrednost izmerjene sile podano v N (newton).

6.5 IZDELAVA UMERITVENIH PREMICE

Za vse medije, v katerih smo izvajali poskus sproščanja učinkovine iz tablete, smo naredili umeritvene premice. Za vsak medij smo pripravili dve paralelki. S tem smo preverili, če je mogoče prišlo do kakšne napake pri zatehti ali pri redčenju. Najprej smo zatehtali natančno približno 10 mg pentoksifilina. Zatehtano maso PF smo prenesli v 100 ml bučko in z ustreznim medijem dopolnili do oznake in ZU raztopili. Bučko smo postavili za nekaj minut v ultrazvočno kadičko, da se je učinkovina popolnoma raztopila. Dobili smo osnovno raztopino (OR) s koncentracijo 0,1 mg/ml, ki smo jo naprej redčili. Redčitve raztopin so prikazane v tabeli 11:

Tabela 11: Redčitve raztopin pri pripravi umeritvene premice.

ml (OR)/ml (bučka)	Faktor redčenja	Dobljena koncentracija (mg/ml)
5/100	20	0,005
7/100	14,3	0,007
10/100	10	0,01
7/50	7,1	0,014
10/50	5	0,02
3/10	3,3	0,03
4/10	2,5	0,04

S pomočjo UV-VIS spektrofotometra Hewlett Packard 8453 smo pripravljenim raztopinam pomerili absorbanco pri valovni dolžini 274 nm. Pri tej valovni dolžini ima PF svoj absorpcijski maksimum. S pomočjo programa UV-Visible ChemStation Software 8453 HP smo izračunali enačbe umeritvenih premic in kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije (R^2). Enačbo umeritvenih premic smo uporabili za izračun koncentracije sproščenega PF iz tablete. Koncentracijo učinkovine smo določili z enačbo 2:

$$C = k \cdot A \quad \text{/enačba 2/}$$

C...koncentracija (mg/ml)

k...naklon umeritvene premice (ml/mg)

A...absorbanca

6.6 IZVAJANJE POSKUSOV SPROŠČANJA

6.6.1 SPROŠČANJE NA NAPRAVI 2 PO USP

Na napravi 2 po USP (naprava za vrednotenje sproščanja z vesli VanKel VK7000) smo izvedli sproščanje iz vseh tablet. Poskuse smo izvajali v naslednjih medijih: prečiščena voda, raztopina SDS-a v prečiščeni vodi s koncentracijo 2,5 g/l, raztopina NaCl v prečiščeni vodi s koncentracijo 2 g/l, 0,05M HCl (pH=1,2), raztopina HCl + SDS (pH=1,2), FaSSGF po Dressmanovi, simuliran črevesni medij (SIF) s pH=6,8 in biorelevantni črevesni medij FaSSIF s pH=6,5. Vse poskuse smo izvajali v treh paralelah. V posodah smo imeli na začetku 900 ml medija, ki smo ga segreli na temperaturo $T=37^{\circ}\text{C}$.

Posode smo pokrili s plastičnimi pokrovčki, da smo preprečili izhlapevanje medija. Poskus smo izvajali 8 ur ter vzorčili ob naslednjih časovnih točkah: 0,5 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h in 8 h. Veslo je bilo od spodnjega roba posode do spodnjega dela vesla odmaknjeno za 25 ± 2 mm, kar ustreza predpisom po Ph. Eur. 7th Ed. Vrtenje vesel je bilo nastavljeno na konstantno hitrost vrtenja 100 rpm. Tableto smo pred poskusom stehali in ovili v inertno žičko ter tako preprečili lepljenje tablete na dno posode. Na sliki 11 je prikazan primer, kako je bila tableta ovita v žičko.



Slika 11: Vzorec tablete ovit v inertno žičko s katero smo preprečili lepljenje tablete na dno posode.

Vzorčili smo po 10 ml vzorca. Odvzetega volumna vzorca nismo nadomeščali, kar smo tudi upoštevali pri izračunu količine sproščenega PF. Vzorce smo po odvzemu filtrirali skozi filtre z velikostjo por $1,20 \mu\text{m}$, jih ustrezno redčili in pomerili absorbance. Na osnovi umeritvene premice smo preračunali delež sproščenega PF po naslednjih enačbah:

$$V_n = V_0 - (n \cdot V_{vz}) \quad \text{/enačba 3/}$$

$$m_n = c_n \cdot V_n + \sum c_n \cdot V_{vz} \quad \text{/enačba 4/}$$

$$X_n = (m_n / m_0) \cdot 100\% \quad \text{/enačba 5/}$$

V_n ...dejanski volumen po vzorčenju (ml)

V_0 ...začetni volumen medija (ml)

V_{vz} ...volumen odvzetega vzorca (ml)

n ...število vzorcev

m_n ...masa raztopljenega PF v mediju ob n -tem vzorcu (mg)

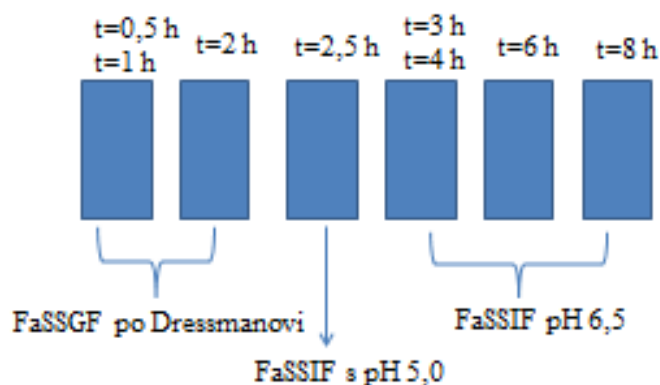
c_n ...koncentracija PF v odvzetem vzorcu izračunana iz umeritvene premice (mg/ml)

X_n ...delež sproščene PF ob n-tem jemanju vzorca (%)

m_0 ...teoretična masa PF v tableti (mg)

6.6.2 SPROŠČANJE NA NAPRAVI 3 PO USP

Poskus sproščanja smo izvajali iz vseh izdelanih tipov tablet. Uporabili smo napravo 3 po USP (naprava za spremljanje sproščanja BIO-DIS Varian). Naprava ima možnost izvajanja poskusov v 6 različnih medijih za posnemanje medijev v gastrointestinalnem traktu in možnost proučevanja vpliva različnih hidrodinamskih obremenitev na sproščanje iz farmacevtskih oblik. Recipročni valji prenašajo vzorec skozi različne medije, ki lahko posnemajo pH in sestavo medijev v GIT. V našem primeru smo uporabili 3 različne medije: FaSSGF po Dressmanovi, biorelevantni črevesni medij FaSSIF s pH=5,0 in biorelevantni črevesni medij FaSSIF s pH 6,5, ki smo jih razporedili v vseh 6 posod. V vseh posodah smo imeli začetni volumen medija 250 ml. V posodah številka 1 in 2 je bil medij FaSSGF po Dressmanovi, v posodi številka 3 biorelevantni črevesni medij FaSSIF s pH 5,0 in v posodah s številkami 4, 5 in 6 je bil biorelevantni črevesni medij FaSSIF s pH 6,5. Vzorčili smo s pomočjo avtomatskega vzorčevalnika ob naslednjih časovnih točkah: 0,5 h, 1 h, 2 h, 2,5 h, 3 h, 4 h, 6 h in 8 h. Na sliki 12 je prikazana shema, kako smo razporedili medije v posode in časovne točke odvzema vzorca.



Slika 12: Prikaz razporeditve medijev v posode pri poskusu.

Poskus smo izvajali pri konstantni temperaturi $T=37^{\circ}\text{C}$. Tablete smo pred poskusom stehali. Vzorce tablet smo dali v recipročne valje z mrežicami z velikostjo luknjic 40

MESH, ki so se potapljali v mediju s konstantno hitrostjo 10 dpm. Posode smo pokrili, da smo preprečili izhlapevanje medija. Vzorčili smo po 10 ml vzorca. Odvzetega volumna nismo nadomeščali, kar smo upoštevali pri izračunu deleža sproščenega PF. Po odvzemu smo vzorce filtrirali skozi filtre z velikostjo por 1,2 μm , jih ustrezno redčili in pomerili absorbance. S pomočjo izmerjenih absorbcanc smo izračunali delež sproščenega PF ob posamezni časovni točki po spodnjih enačbah:

A...v primeru, ko iz posode vzorčimo samo enkrat, izračunamo maso sproščenega PF pri n-tem odvzemu po enačbi 6

$$m_n = c_n \cdot V_p + m_{n-1} \quad \text{/enačba 6/}$$

B...v primeru, ko iz posode vzorčimo dvakrat, izračunamo maso sproščenega PF pri n-tem odvzemu po enačbi 7

$$m_n = c_n \cdot (V_p - V_{vz}) + c_{n-1} \cdot V_{vz} + m_{n-1} \quad \text{/enačba 7/}$$

Delež sproščenega PF izračunamo po enačbi iz strani 27.

m_n ...masa sproščenega PF v n-tem odvzemu (mg)

c_n ...koncentracija odvzetega vzorca ob n-tem odvzemu (mg/ml)

V_p ...začetni volumen medija v posodi (ml)

m_{n-1} ...masa sproščenega PF v (n-1)-tem odvzemu (mg)

V_{vz} ...volumen odvzetega vzorca (ml)

c_{n-1} ...koncentracija odvzetega vzorca ob (n-1)-tem odvzemu (mg/ml)

6.7 GRAVIMETRIČNO DOLOČANJE DEBELINE GELSKE PLASTI

Debelino gelske plasti smo določali karagenanoma tipa ι in κ 1. Vzorce tablet, narejenih iz prej omenjenih tipov karagenanov, smo najprej stehtali. Premer tablete je bil določen z velikostjo matrične vdolbine, in sicer 12 mm. To smo preverili tudi s kljunastim merilom. Nato smo tableto postavili na milimetrski papir z narisanim merilom in tableto poslikali. Tablete smo izpostavili dvema medijema, in sicer: prečiščena voda in medij FaSSGF po Dressmanovi (pH=1,2). Omočenje tablete smo izvedli na napravi za vrednotenje sproščanja z vesli ERWEKA[®]. V posodah smo imeli 500 ml medija s temperaturo $T=37^\circ\text{C}$.

Vesla so bila nastavljena na standardno višino po Ph.Eur. 7th Ed. in so se vrtela s konstantno hitrostjo 100 rpm. Tablete smo dali v medij in jim izmerili debelino po 2 h, 3 h ali 4 h. Vse poskuse smo izvajali v treh paralelah. Za vsako časovno točko smo uporabili nov vzorec tablete. Po odvzemu tablet iz medija smo tableto dali v stekleno petrijevko, ki smo jo postavili na milimetrski papir z merilom. Vzorec tablete smo poslikali ter ocenili premer tablete in debelino nastale gelske plasti. Nato smo s pomočjo spatule ločili gelsko plast oziroma omočeno plast od preostalega dela tablete in ju stehali. Ločene preostanke tablete smo posušili in jih po enem dnevu ponovno tehtali. Po končanem poskusu smo določili še količino sproščenega PF, kar smo upoštevali pri nadaljnjih izračunih debeline gelske plasti. Izračunali smo količino vode, ki jo sprejme polimer v gelu in v preostanku (jedru) tablete. Pri izračunu smo upoštevali predpostavko, da je količina preostalega PF v tableti enakomerno porazdeljena po nastalem gelu in jedru tablete. Kot rezultat smo podali povprečne vrednosti premera tablete pred in po poskusu, debeline nastale gelske plasti, količine medija, ki jo sprejme 1 mg polimera v gelu in količine medija, ki jo sprejme 1 mg polimera v preostanku (jedru) tablete.

7 REZULTATI IN RAZPRAVA

7.1 FARMACEVTSKO-TEHNOLOŠKO VREDNOTENJE TABLET

7.1.1 ENAKOMERNOST MASE ENOODMERNIH TABLET

Izdelali smo tablete s teoretično maso 400 mg, ki so vsebovale 100 mg pentoksifilina in 300 mg polimera (carr ι , carr λ , carr κ 1 in carr κ 2). Vsem serijam tablet, ki smo jih stisnili iz različnih vrst karagenanov, smo določili enakomernost mase enoodmernih tablet po predpisu iz poglavja 2.9.5. v Ph. Eur. 7th Ed. Iz serije smo naključno izbrali 20 tablet in jih stehali. Iz pridobljenih podatkov o masah tablet smo podali rezultat kot povprečno maso, največjo in najmanjšo maso tablet ter standardno deviacijo. Pri tabletah z maso 250 mg in več lahko največ dve individualni masi odstopata od povprečne mase za več kot 5%, nobena masa tablete pa ne sme odstopati za več kot 10%. Rezultati so zbrani v tabeli 12.

Tabela 12: Rezultati poskusa enakomernost mase enoodmernih tablet (n=20).

	Povprečna masa (mg)	Najmanjša masa (mg)	Največja masa (mg)	SD (mg)	RSD (%)
CARR- ι					
Serijska 1	399	392	406	3,88	0,97
Serijska 2	399	397	402	1,65	0,41
Serijska 3	409	406	411	1,56	0,38
CARR- λ					
Serijska 1	395	389	403	3,38	0,86
Serijska 2	398	395	401	1,7	0,43
CARR- $\kappa 1$					
Serijska 1	395	391	402	2,56	0,65
Serijska 2	402	399	404	1,43	0,36
Serijska 3	409	407	413	1,78	0,43
CARR- $\kappa 2$					
Serijska 1	399	395	403	2,84	0,71
Serijska 2	400	398	402	1,41	0,35

Iz tabele 12 vidimo, da vse serije tablet ustrezajo predpisom iz Evropske farmakopeje, saj nobena tableta ne odstopa za več kot 5% od povprečne mase tablet. Povprečne mase vseh serij tablet odstopajo od teoretične mase za približno ± 4 mg. Do največjega odstopanja povprečne mase od teoretične mase je prišlo pri tabletah iz serije 3 narejenih iz carr- ι in carr- $\kappa 1$. Ti dve seriji tablet smo tabletirali na isti dan. Na tisti dan je bila relativna vlažnost zraka večja kot pri tabletiranju ostalih serijah tablet. Prahove smo ročno raztehtali enako kot pri ostalih serijah, vendar so prahovi, zaradi povečane vlage v zraku, sprejeli večji delež vode. Tako se jim je po tabletiranju povečala masa v primerjavi s tisto pred tabletiranjem. Pogoji tabletiranja so zbrani v tabeli 13. Vlaga v tabletah nismo preverjali.

Tabela 13: Pogoji tabletiranja pri različnih serijah tablet.

Seriya tablet	Temperatura zraka T (°C)	Relativna vlažnost zraka η (%)
Seriya 1	22	35,6
Seriya 2	20,8	36,7
Seriya 3	20,8	51,3

7.1.2 TRDNOST TABLET

Izdelanim tabletam smo določili tudi trdnost tablet po predpisu iz poglavja 2.9.8. v Ph. Eur. 7th Ed. Evropska farmakopeja predpisuje določitev trdnosti tablet za 10 tablet iz serije. V našem poskusu smo, zaradi omejenega števila tablet, določali trdnost samo za 4 tablete. Rezultat smo podali kot povprečno vrednost, najmanjšo in največjo vrednost sile izmerjeno v N ter standardno deviacijo (SD). Rezultati so zbrani v tabeli 14:

Tabela 14: Rezultati poskusa trdnosti tablet (n=4).

	Povprečna sila F (N)	Najmanjša sila F (N)	Največja sila F (N)	SD (N)	RSD (%)
CARR- ι					
Seriya 1	20,3	17,3	22,9	2,36	11,6
Seriya 2	19,5	18,1	21	1,21	6,22
Seriya 3	21,7	18,9	23,6	2,16	9,98
CARR- λ					
Seriya 1	21	19,1	22,4	1,54	7,33
Seriya 2	20,3	17,8	22,2	1,99	9,83
CARR- $\kappa 1$					
Seriya 1	21,8	20,3	24,3	1,85	8,49
Seriya 2	20,6	19,7	21,5	0,91	4,40
Seriya 3	22,3	19,1	24,2	2,32	10,4
CARR- $\kappa 2$					
Seriya 1	22,2	20,7	24,7	1,73	7,82
Seriya 2	19,4	19	20,2	0,57	2,92

Kot ciljno trdnost tablet smo si zadali vrednost višje od 20 N. Karagenani so relativno slabo stisljivi, tudi oblika tablete ($2r=12$ mm) je takšna, da trdote 400 mg tablete niso

visoke. Vseeno pa trdnost 20 N zagotavlja, da ob rokovanju s tableto ne pride do mehanskih poškodb. Trdnost tablet je pri vseh serijah približno enaka, da pri testu sproščanja ZU iz tablete ni prišlo do razlik in so rezultati sproščanja med sabo primerljivi. S prilagajanjem nastavitve pechatov, smo izdelali tablete približno enake trdote.

Nastavitve pechatov so bile enake za tabletiranje celotne serije posamezne vrste karagenana. Vrednosti odmikov zgornjega in spodnjega pečata so zbrane v tabeli 10. Na podlagi nastavitve pechatov in trdnosti tablet lahko določimo, kako so stisljivi prahovi različnih karagenanov. Najbolj stisljiv je carr $\kappa 1$, ki ima pri enaki nastavitvi pechatov najvišjo trdnost tablete, sledita mu carr $\kappa 2$ in carr λ . Najslabše stisljiv je carr ι , vendar se njegova stisljivost ne razlikuje veliko od stisljivosti carr λ . Najboljšo stisljivost carr $\kappa 1$ je potrdila tudi raziskovalka Katharina M. Picker-Freyer, 2005 (30,31), ki je vrednotila lastnosti različnih karagenanov pri tabletiranju. Določala je pretočnost prahov s pomočjo izračuna CARR indeksa, ki ga izračunamo iz vrednosti zbite in nasipne gostote. Višja je vrednost CARR indeksa, boljša je stisljivost prahov in slabša je njihova pretočnost. Določila je naslednje zaporedje stisljivosti polimerov: $\kappa > \iota > \lambda$. Zaporedje se razlikuje od našega, saj mi nismo določali nasipne in zbite gostote, vendar smo samo ocenili stisljivost prahov na podlagi trdnosti tablet. Pri tabletah narejenih iz carr ι , je prišlo do največjega odstopanja trdnosti od povprečne vrednosti. Do tega je najverjetneje prišlo, zaradi največjega nihanja mase tablet pri stiskanju serije 1 tablet narejenih iz carr ι . Pri vseh tabletah smo namreč ročno prenesli prahove v matrično vdolbino tabletirke. Prav tako je lahko velika razpršenost rezultatov posledica premajhnega vzorca. Namesto 10 tablet iz vsake serije smo izmerili trdnost samo štirim tabletam iz vsake serije. Tablet narejene iz carr ι in carr $\kappa 1$ iz serije 3 imajo večjo trdnost kot tablete iz enake vrste karagenana tabletirane v seriji 1 in 2. Trdnost tablet se je povečala, zaradi povečanja relativne vlažnosti prostora na dan tabletiranja, kar običajno pripomore k večjemu povezovanju materialov v tableti in posledično višji trdnosti (pogoji tabletiranja so zbrani v tabeli 13). Vpliv različne vlažnosti na stisljivost karagenanov je dokazala že raziskovalka Picker-Freyer, 2005. Ugotovila je, da pri carr $\kappa 2$ pri višji vlažnosti in s tem večji vsebnosti vode v tableti pride do povišanja vrednosti parametrov, ki določajo plastičnost materialov in s tem do zmanjšanja elastične relaksacije tablete. (30,31)

7.2 IZDELAVA UMERITVENIH PREMICE

Sproščanje PF smo izvajali v več medijih. Priprava medijev je opisana v poglavju 6.1. Za vse medije smo naredili umeritveno premico. Enačbe umeritvenih premic za posamezni medij so zbrane v tabeli 15.

Tabela 15: Enačbe umeritvenih premic in vrednosti Pearsonovega koeficienta korelacije R^2 za posamezni medij.

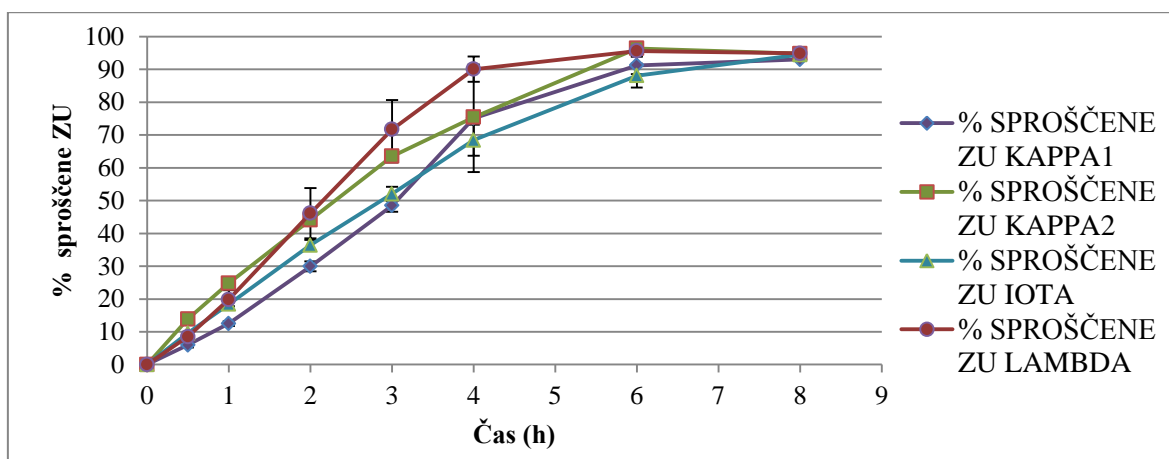
Medij	Enačba umeritvene premice	Pearsonov koeficient korelacije R^2
Prečiščena voda	$C(\text{mg/ml})=2,7118 \times 10^{-2}(\text{mg/ml}) \times A$	0,99991
Raztopina SDS (koncentracija 2,5 g/l)	$C(\text{mg/ml})=2,7286 \times 10^{-2}(\text{mg/ml}) \times A$	0,999
Raztopina NaCl (koncentracija 2 g/l)	$C(\text{mg/ml})=2,8597 \times 10^{-2}(\text{mg/ml}) \times A$	0,9999
0,05M HCl (pH=1,2)	$C(\text{mg/ml})=2,8211 \times 10^{-2}(\text{mg/ml}) \times A$	0,99993
Raztopina HCl + SDS (pH=1,2)	$C(\text{mg/ml})=3,0868 \times 10^{-2}(\text{mg/ml}) \times A$	0,99995
FaSSGF po Dressmanovi (pH=1,2)	$C(\text{mg/ml})=2,8005 \times 10^{-2}(\text{mg/ml}) \times A$	0,99995

Pearsonov koeficient korelacije R^2 meri linearno povezanost med dvema spremenljivkama. Vrednosti Pearsonovega koeficienta korelacije R^2 za uporabljene medije so blizu 1, kar nakazuje na zelo močno povezanost med spremenljivkama (32). Tudi vrednosti koeficienta k (naklon umeritvene premice) so si zelo podobne. Iz tega lahko sklepamo, da je vpliv dodajanja različnih soli in površinsko aktivnih snovi zanemarljiv. Prav zaradi majhnih razlik med umeritvenimi premicami pri medijih zbranih v tabeli 15, smo pri meritvah absorbanc za vzorce odvzete v medijih: simuliran črevesni medij (SIF) s pH=6,8, biorelevantni črevesni medij FaSSIF s pH 6,5 in biorelevantni črevesni medij FaSSIF s pH 5,0 uporabili umeritveno premico medija FaSSGF po Dressmanovi (pH=1,2).

7.3 VPLIV MEDIJA NA SPROŠČANJE PF IZ OGRODNIH TABLET

7.3.1 PROUČEVANJE VPLIVA MEDIJA NA SPROŠČANJE PF IZ OGRODNIH TABLET NA NAPRAVI Z VESELI

Tableta potuje skozi gastrointestinalni trakt v medijih z različnimi pH-ji in ionsko sestavo, zato smo želeli pogledati, kako se sprošča PF iz karagenanskih tablet v biorelevantnih medijih. Tablete za poskus sproščanja smo pripravili po postopku opisanem v poglavju 6.2. Opravili smo poskus sproščanja na napravi 2 po USP. Ovrednotili smo delež sproščenega PF iz vseh štirih vrst karagenanov (carr κ 1, κ 2, ι in λ). Tablete smo pred poskusom ovili z žičko (slika 11) in tako preprečili lepljenje tablet na dno posod. S tem smo dosegli tudi boljšo primerljivost rezultatov med paralelami in različnimi vrstami carr. Vzorec tablete je bil, zaradi teže žičke, konstantno na istem mestu posode in tako so nanj delovale enake hidrodinamske sile skozi celoten poskus. Poskus smo vedno izvajali v 3 paralelah. Sproščanje smo začeli v osnovnem mediju prečiščena voda, ki smo ga uporabili za primerjavo. Rezultati sproščanja PF v prečiščeni vodi so prikazani na sliki 13.



Slika 13: Sproščanje PF iz tablet narejenih iz carr κ 1, κ 2, ι in λ v prečiščeni vodi.

Najhitreje se PF sprosti iz carr λ , ki v vodi tvori samo viskozno raztopino in ne gela. Carr κ in carr ι v vodi tvorita gele (7,33), zato je sproščanje nekoliko počasnejše. Hitrost sproščanja PF v vodi iz carr tablet pa si sledi tako: carr λ > carr κ 2 > carr κ 1 > carr ι .

Ker voda ni najprimernejši medij za IVIVC, smo želeli izvesti sproščanja PF iz tablet narejenih iz karagenanov v mediju, ki bolj posnema pogoje v GIT. Kot biorelevantni želodčni medij smo si izbrali medij FaSSGF pripravljen po navodilih raziskovalke Dressman. Sestava medija je opisana v poglavju 6.1.5. Izbran medij je preprost za

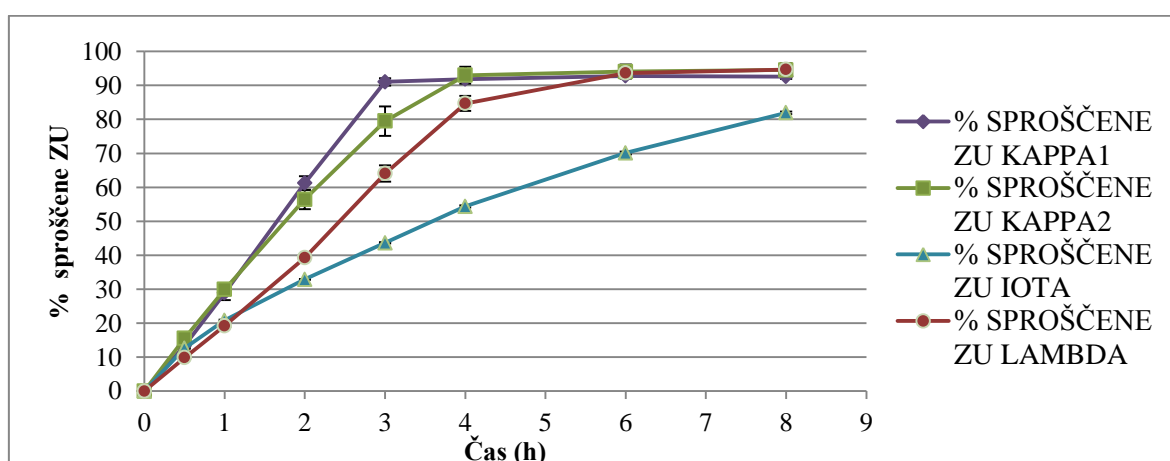
pripravo, poceni in koncentracija površinsko aktivne snovi v mediju je ustrezna, da posnema površinsko napetost v želodcu (17). Rezultati sproščanja PF iz tablet narejenih iz vseh štirih vrst carr v FaSSF po Dressmanovi so prikazani na sliki 14. Naredili smo tudi primerjavo profilov, ki smo jo izračunali na podlagi enačbe 8 za računanje podobnostnega faktorja f_2 , ki je merilo podobnosti v odstotkih med dvema krivuljama sproščanja ZU. Vrednosti f_2 nad 50 (50-100) zagotavljajo podobnost (razlika je $\leq 10\%$) med krivuljama.

$$f_2 = 50 \cdot \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} * 100 \right\} \quad \text{/enačba 8/}$$

n...število časovnih točk

R_t ...vrednost testa sproščanja za časovno točko t

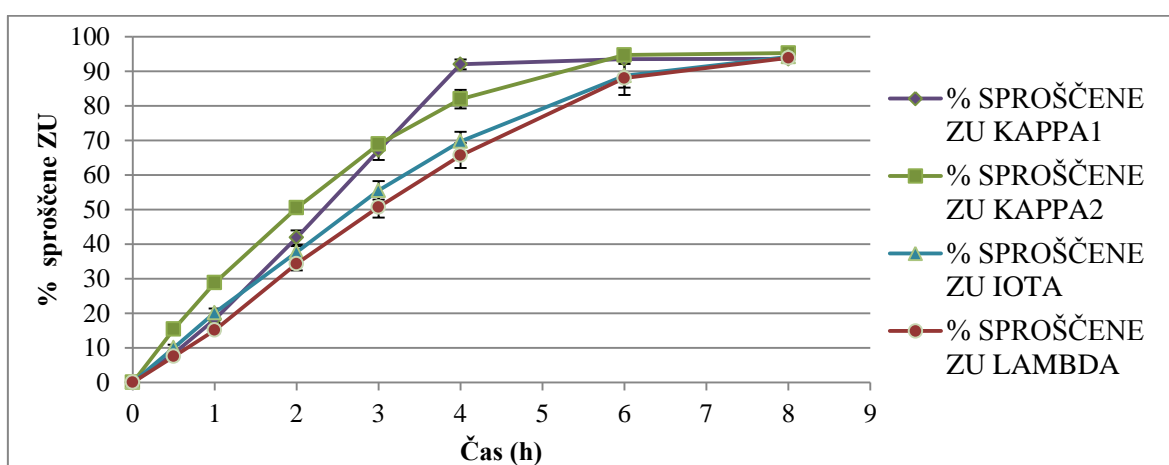
T_t ...vrednost testa sproščanja za časovno točko t (10)



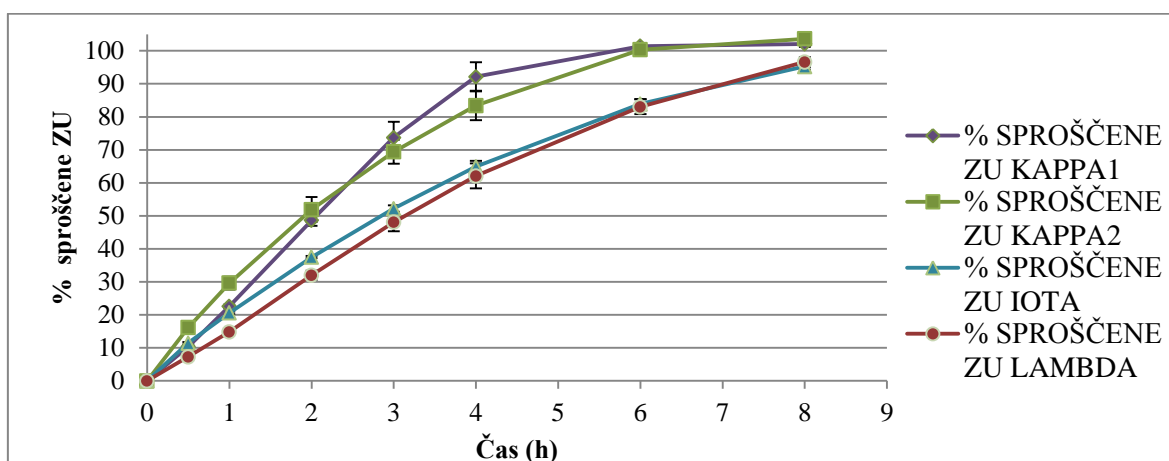
Slika 14: Sproščanje PF iz tablet narejenih iz carr κ_1 , κ_2 , ι in λ v biorelevantnem želodčnem mediju FaSSGF po Dressmanovi.

V mediju FaSSGF se PF sprošča po naslednjem zaporedju: $\kappa_1 > \kappa_2 > \lambda > \iota$. PF se iz carr κ_1 in κ_2 v FaSSGF sprosti hitreje kot v vodi. Zanimivo je dejstvo, da tablete iz carr ι v osmih urah ne razpadejo (celotna struktura je v obliki gela) in posledično se iz carr ι PF v FaSSGF ne sprosti v celoti (samo okoli 80% celotnega PF). Sproščanje PF iz carr ι v FaSSGF je počasnejše kot v vodi, kjer se po 8 h PF sprosti v celoti. Presenetljivo je dejstvo, da se PF iz carr λ v vodi in FaSSGF sprošča podobno. Vrednost podobnostnega faktorja $f_2 > 50$ ($f_2 = 66,84$), kar pomeni, da je razlika med krivuljama $\leq 10\%$. Iz tega lahko predvidevamo, da na sproščanje PF iz carr λ nimajo velikega vpliva dodane komponente v mediju FaSSGF.

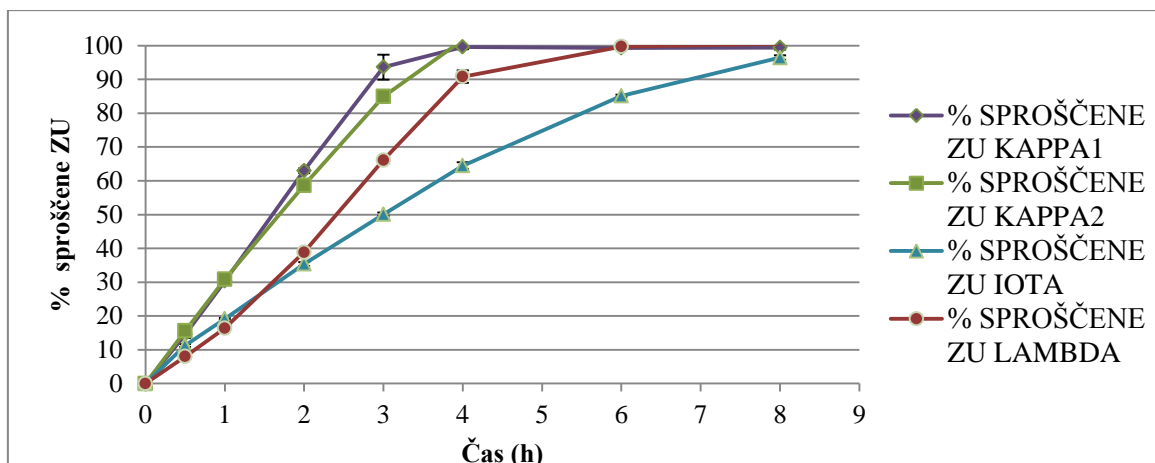
Ker nismo vedeli, katere sestavine FaSSGF imajo največji vpliv na sproščanje iz karagenanskih tablet, smo pripravili ločene medije in proučili vpliv posameznih komponent medija FaSSGF po Dressmanovi na sproščanje PF iz vseh štirih vrst karagenanov. Medij je sestavljen iz več različnih snovi: sol, površinsko aktivna snov, HCl in prečiščena voda. Iz tega razloga smo želeli proučiti, kako posamezna sestavina medija vpliva na sproščanje PF iz posamezne vrste carr. Tako smo pripravili medije v prečiščeni vodi z enako koncentracijo snovi kot v recepturi FaSSGF. Postopki priprave medije so opisani v poglavju 6.1. Rezultati sproščanja PF iz posamezne vrste karagenana so prikazani na slikah 15-18:



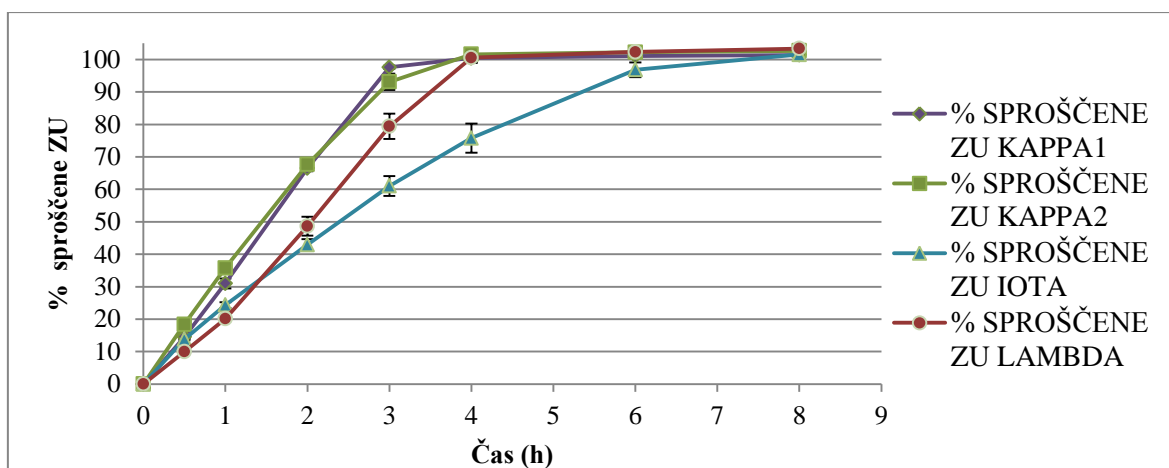
Slika 15: Sproščanje PF iz tablet narejenih iz carr $\kappa 1$, $\kappa 2$, ι in λ v raztopini SDS-a s koncentracijo 2,5 g/l.



Slika 16: Sproščanje PF iz tablet narejenih iz carr $\kappa 1$, $\kappa 2$, ι in λ v raztopini NaCl s koncentracijo 2 g/l.



Slika 17: Sproščanje PF iz tablet narejenih iz carr κ_1 , κ_2 , ι in λ v 0,05M HCl (pH=1,2).



Slika 18: Sproščanje PF iz tablet narejenih iz carr κ_1 , κ_2 , ι in λ v raztopini SDS s koncentracijo 2,5 g/l v 0,05M HCl (pH=1,2)

Na sliki 15 je prikazano sproščanje PF iz vseh vrst karagenanov v raztopini SDS-a s koncentracijo 2,5 g/l. PF se sprošča iz karagenanskih ogrodnih tablet po naslednjem vrstnem redu: $\kappa_1 > \kappa_2 > \iota = \lambda$. Če primerjamo sproščanje PF iz karagenanskih ogrodnih tablet v vodi in SDS-u, je največje odstopanje v sprostitvi PF opazno pri carr κ_1 in carr λ . V SDS-u pride do hitrejšega razpada tablete narejene iz carr κ_1 , pri carr λ pa do počasnejšega razpada tablete v primerjavi z vodo. Tablete iz carr κ_2 in carr ι so v SDS-u razpadle ob istem času kot v vodi. Tudi profili sprostitve PF iz karagenanskih tablet ustrezajo časom razpada tablet. Izračunan podobnostni faktor f_2 , za primerjavo profilov sproščanja za carr ι v vodi in SDS-u, je zelo velik ($f_2=85,66$), kar nam potrjuje neodvisnost sprostitve PF iz carr ι od prisotnosti SDS-a. Enako ugotovimo za carr κ_2 , saj je $f_2 > 50$. SDS ima največji vpliv na sprostitvev PF iz carr κ_1 . Iz rezultatov lahko predvidevamo, da carr κ_1 v prisotnosti SDS-a

tvori šibkejšje gele kot v vodi, saj se PF sprosti iz tablete prej kot v vodi. SDS ima velik vpliv tudi na λ , saj upočasni sprostitvev PF v primerjavi z vodo.

Predvidevali smo, da ima velik vpliv na sproščanje PF iz karagenanskih tablet Na^+ ion, ki je del molekule SDS-a. V literaturi (34) namreč navajajo, da v prisotnosti Na^+ ionov tvori carr κ šibke gele, ki imajo razrahljano strukturo in nizko viskoznost. Zato smo poskus sproščanja nadaljevali v raztopini NaCl s koncentracijo 2 g/l. Zanimiv podatek je, da se sprošča PF iz karagenanskih tablet v enakem vrstnem redu kot v raztopini SDS-a (slika 16). S primerjavo profilov sproščanja v SDS-u in NaCl smo potrdili, da so profili sproščanja zelo podobni, saj so bile za vse vrste karagenanov vrednosti $f_2 > 50$. Tablete iz carr $\kappa 1$ so razpadle ob enaki časovni točki kot v vodi, tablete iz carr $\kappa 2$, ι in λ pa so razpadle kasneje kot v vodi. Primerjava profilov sproščanja v NaCl in vodi nam potrди, da je sprostitvev PF iz carr ι in carr $\kappa 2$ neodvisno od prisotnosti NaCl, saj sta vrednosti $f_2 > 50$ (carr ι : $f_2 = 79,28$, carr $\kappa 2$: $f_2 = 59,64$), kar je enako kot pri sproščanju v SDS-u. Glede na literaturne podatke (34) bi predvidevali, da se bosta carr $\kappa 1$ in $\kappa 2$ v enakem mediju obnašala enako. Vendar iz rezultatov sproščanja PF, lahko sklepamo, da je sprostitvev PF iz carr $\kappa 2$ neodvisna od dodatka SDS-a in NaCl, saj je enaka sproščanju v vodi. Za carr $\kappa 1$ lahko potrdimo, da je sprostitvev PF odvisna od dodatka SDS-a in NaCl ter da ima velik vpliva na sprostitvev PF Na^+ ion, ki povzroči tvorbo šibkejših gelov. Na^+ ioni se ionsko vežejo na sulfatno skupino disaharidnih enot karagenanov in s tem zmanjšajo fleksibilnost verig polimera (6). Z zmanjšanjem fleksibilnosti verig, je manjša možnost tvorbe dvojne vijačnice, agregacija dvojnih vijačnic in nastanka gela, zato se tvorijo šibkejši geli. Potrdili smo, da na sprostitvev PF iz carr ι dodatek SDS-a in NaCl nimata vpliva, kar je tudi v skladu z literaturnimi podatki, da imajo na tvorbo gelov pri carr ι največji vpliv dvovalentni ioni kot je Ca^{2+} (6). PF se iz carr λ sprosti v vodi najhitreje, v SDS-u in NaCl pa najkasneje.

S sproščanjem v 0,05M HCl smo raziskali vpliv kislega pH-ja na sproščanje PF. Rezultati kažejo, da se PF sprošča iz posamezne vrste carr po naslednjem vrstnem redu: $\kappa 1 = \kappa 2 > \lambda > \iota$. Zaporedje sproščanja je v skladu z literaturnimi podatki (4). Opazimo, da je sproščanje PF za carr $\kappa 1$ in $\kappa 2$ hitrejše v HCl kot v vodi, medtem ko je za carr ι in λ podobno kot v vodi. Vrednost podobnostnega faktorja f_2 med HCl in vodo za carr ι znaša 80,10, ker nakazuje, da kisel pH nima vpliva na sproščanje PF iz carr ι . Razlogi za opažen vpliv kislega pH na takšen vrstni red sprostitvev PF iz posamezne vrste carr so sledeči: v kislem pride pri carr κ

do razčlenitve dvojne vijačnice in do nastanka enojnih verig v raztopini ter s tem do hitrejše sprostitve ZU iz tablete. Geli nastali iz carr ι so v kislem stabilni (4), medtem ko za carr λ v nekaterih virih (4) navajajo, da v kislem hidrolizira, vendar ni natančno navedeno pod kakšnimi pogoji. Tablete iz carr ι so razpadle šele po osmih urah, kar je kasneje kot v vodi, in tudi erozija tablete je bila v primerjavi s carr λ manjša. Iz tega lahko sklepamo, da tvori carr ι v 0,05 M raztopini HCl čvrstejše gele kot carr λ ali carr κ .

Opazili smo, da je sproščanje PF iz carr ι v FaSSGF počasnejše od sproščanja v vodi in tudi vrednost $f_2 < 50$. V vseh ostalih medijih, ki so narejeni iz posameznih komponent medija FaSSGF in v enakih koncentracijah kot v FaSSGF, pa opazimo, da je sproščanje PF iz carr ι neodvisno od dodatka posamezne snovi k vodi.

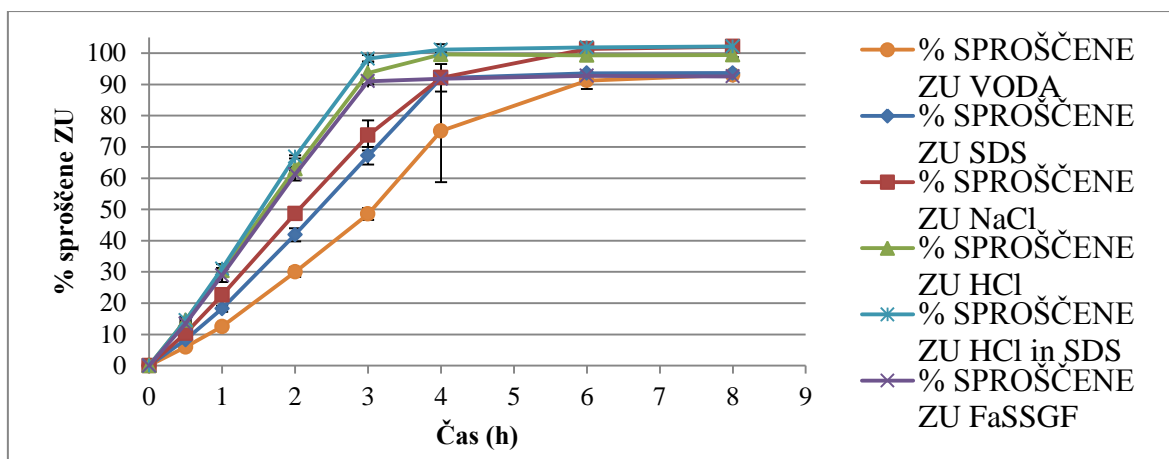
Ker si nismo znali razložiti razlik v sproščanju PF predvsem iz carr ι v FaSSGF in v posameznih komponentah medija, smo sproščanje nadaljevali v mediju pripravljenem iz HCl in SDS. S tem smo želeli ugotoviti ali mogoče na sproščanje PF iz carr ι vpliva kombinacija kislega pH in površinsko aktivne snovi. Na sliki 18 vidimo, da se sprošča PF iz vseh carr po enakem vrstnem redu kot v 0,05M HCl. Sklepamo lahko, da ima na sproščanje PF iz carr večji vpliv HCl kot SDS. Zanimiv pa je podatek, da se je PF iz vseh vrst carr sprostil hitreje iz medija pripravljenega iz HCl in SDS kot iz 0,05M HCl. K temu je najverjetneje pripomogla boljša omočenost tablete, zaradi prisotne površinsko aktivne snovi SDS. Pri primerjavi profilov sproščanja z vodo, opazimo, da sta profila sproščanja PF iz carr κ_1 in κ_2 odvisna od dodanih snovi vodi, tako da se PF v raztopini HCl in SDS sprosti hitreje kot v vodi. Pri carr ι in λ pa opazimo neodvisnost sprostitve PF od dodanih snovi k vodi. Zanimivo je dejstvo, da pri carr λ pride ob času $t=4$ h do sprostitve večjega dela PF, vendar tableta v celoti razpade šele ob $t=6$ h.

Za sproščanje PF iz carr ι še vedno ne moremo potrditi, kaj vpliva na takšen profil sproščanja v FaSSGF. Rezultati sproščanja v posameznih komponentah medija FaSSGF in tudi v kislem mediju z dodatkom SDS nakazujejo na neodvisnost sproščanja PF iz carr ι od dodanih snoveh k vodi. Predvidevamo, da na sproščanje carr ι v FaSSGF vpliva celotna kombinacija vseh snovi v mediju. Raziskovalci Chandrasekaran et al, 2001 (33) so ugotovili, da carr ι v raztopini z višjo koncentracijo Na^+ ionov tvori strukturo iz treh paralelnih desnosučnih dvojnih vijačnic, ki so oblikovane v trigonalno enoto. Dvojne vijačnice so med posameznimi verigami stabilizirane z vodikovo vezjo na 2- in 6-hidroksilni skupini galaktoznih enot. Povezavo dvojnih vijačnic med sabo omogočajo Na^+

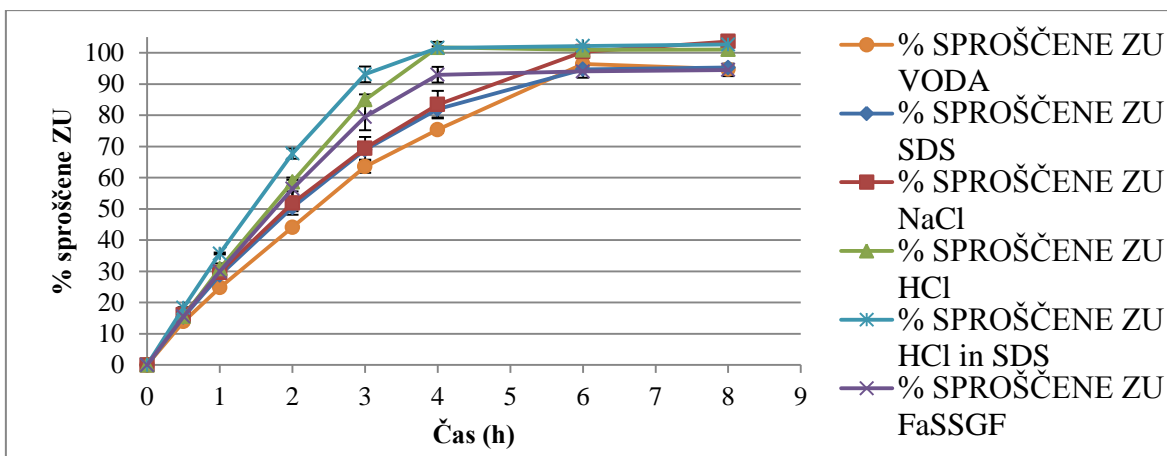
ioni in vodne molekule, ki povezujejo obe sulfatni skupini na disaharidnih enotah. Zaradi vseh teh povezav pride do nastanka trdne gelske strukture (33). V mediju FaSSGF je zelo velika koncentracija Na^+ ionov, ki po vsej verjetnosti omogočajo povezave dvojnih vijačnic v trigonalno strukturo in s tem nastanek zelo čvrstega gela. Pri vizualni ocenitvi tablet med poskusom, smo namreč opazili, da pri poskusu sproščanja PF iz carr ι v FaSSGF ostane po osmih urah tableta skoraj enake velikosti kot na začetku poskusa in sestavljena iz zelo čvrste gelske strukture mlečne barve.

Kot vidimo, se vplivi posameznih komponent odražajo na sproščanje v FaSSGF. Zaporedje sproščanja PF iz posameznih vrst carr predstavlja kombinacijo sproščanj predstavljenih na slikah 15-18. Opazen je vpliv kislega pH na sproščanje PF ($\kappa > \lambda > \iota$). PF iz carr $\kappa 1$ in $\kappa 2$ se sprošča po enakem vrstnem redu kot v raztopini SDS-a ali raztopini NaCl, na kar očitno najbolj vpliva prisotnost Na^+ iona. Zanimivo je dejstvo, da tablete iz carr ι v osmih urah ne razpadejo (celotna struktura je v obliki gela), medtem ko v vseh ostalih medijih razpadejo najkasneje do konca poskusa, in posledično je delež sproščenega PF v FaSSGF nižji kot pri ostalih vrstah tablet.

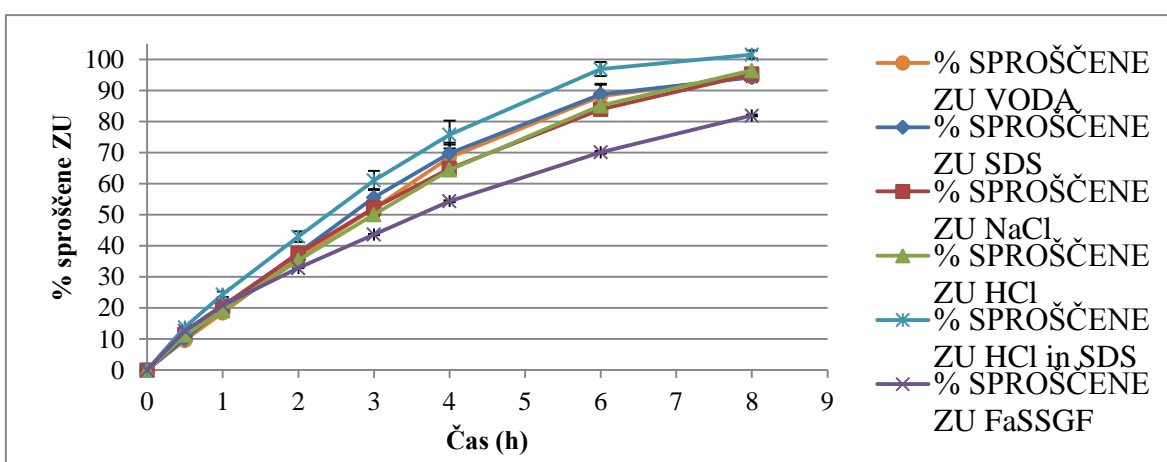
Da bi lažje ocenili vpliv posameznega medija na sproščanje iz karagenanskih tablet, smo na slikah 19-22 prikazali primerjave rezultatov sproščanja PF iz enake vrste carr v različnih medijih.



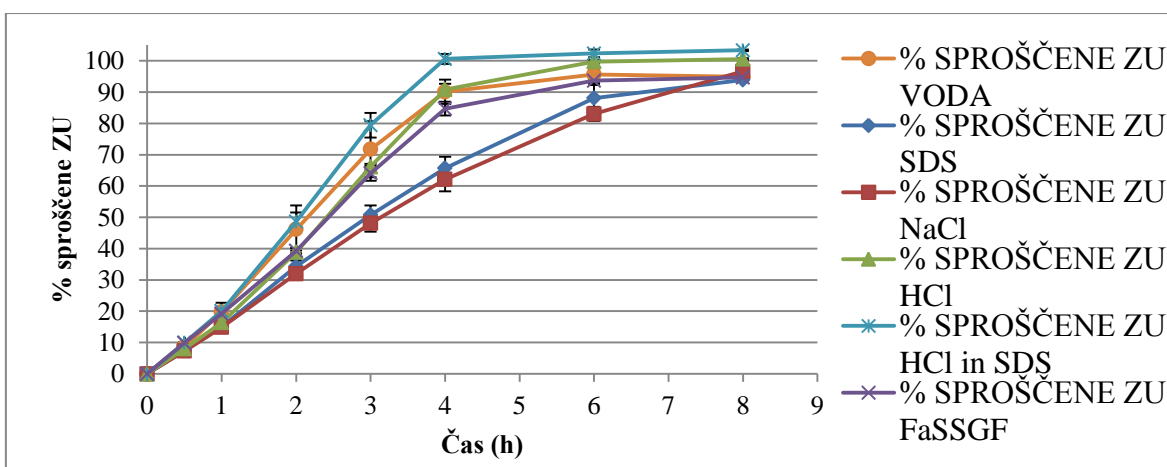
Slika 19: Primerjava profilov sproščanja PF iz tablet narejenih iz carr $\kappa 1$ v medijih, iz katerih je sestavljen FaSSGF.



Slika 20: Primerjava profilov sproščanja PF iz tablet narejenih iz carr $\kappa 2$ v medijih, iz katerih je sestavljen FaSSGF.



Slika 21: Primerjava profilov sproščanja PF iz tablet narejenih iz carr ι v medijih, iz katerih je sestavljen FaSSGF.



Slika 22: Primerjava profilov sproščanja PF iz tablet narejenih iz carr λ v medijih, iz katerih je sestavljen FaSSGF.

Carr $\kappa 1$ najprej razpade v mediju sestavljenem iz HCl in SDS, potem v FaSSGF, HCl, SDS, NaCl in nazadnje v vodi. Kot smo že prej poudarili, na sproščanje PF iz carr $\kappa 1$ vpliva kisel pH in prisotnost Na^+ . Kljub temu, da se po literaturnih podatkih Na^+ ioni vežejo na sulfatne skupine polisaharidnih enot in s tem omogočajo povezavo dvojnih vijačnic in nastanek gelske strukture, pa je ta struktura šibkejša od tiste v vodi. Kisel pH pa povzroči popolno razčlenitev dvojne vijačnice in s tem hitrejšo sprostitvev PF iz tablete, kar se vidi tudi na sliki 19 (4,6).

Vpliv medija je nekoliko manj izrazit pri sproščanju PF iz carr $\kappa 2$. Carr $\kappa 2$ je namreč polimer z višjo molekulsko maso kot carr $\kappa 1$, zato je sproščanje PF počasnejše. Efekt medija je podoben kot za carr $\kappa 1$. Le v vodi se za oba tipa carr κ sproščanje zadrži za več kot 6 ur. V vseh ostalih medijih je sproščanje hitrejšo To pomeni, da bi v fizioloških pogojih verjetno težko dosegli podaljšano sproščanje.

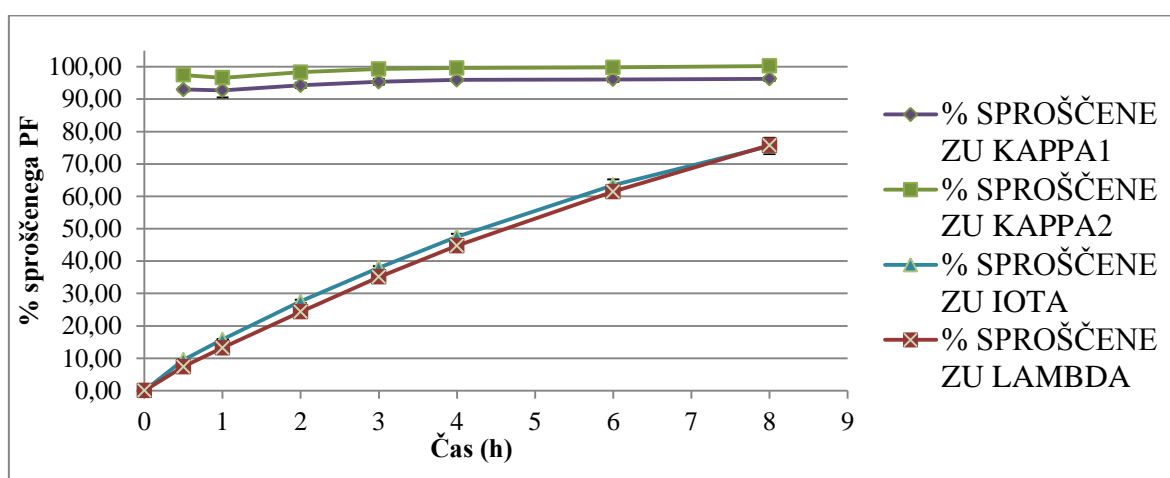
V primeru carr ι je zanimivo, da je v mediju FaSSGF najbolj podaljšano sproščanje, celo bolj kot v vodi. Rezultat je precej nenavaden, saj imajo vsi ostali mediji majhen vpliv na sproščanje PF v primerjavi z vodo, njihova kombinacija pa sproščanje upočasni. Zanimivo je tudi dejstvo, da v mediju FaSSGF ne pride do sprostitve celotne količine PF iz tablete (sprosti se le približno 80% PF v osmih urah). Na manjšo sprostitvev PF vpliva verjetno tvorba čvrstejšega gela. Tvorbo čvrstejšega gela, bomo poskusili dokazati v nadaljevanju.

PF se iz carr λ sprošča najhitreje v mediju iz SDS in HCl, v medijih HCl in FaSSGF je sproščanje zelo podobno kot v vodi. Presenetljivo je dejstvo, da je sproščanje v SDS-u in v NaCl počasnejše kot v ostalih medijih, celo počasnejše kot v vodi. Po vsej verjetnosti pride v teh dveh medijih do nastanka bolj viskozne raztopine polimera in s tem do bolj zadržanega sproščanja.

Iz naših rezultatov lahko sklepamo, da se bo PF v želodcu najpočasneje sproščal iz carr ι , kar dokazuje zelo upočasnjeno sproščanje v FaSSGF mediju. Carr λ pa se je pokazal kot polimer, kjer je sproščanje najbolj neodvisno od prisotnosti ostalih komponent. Poleg tega smo ugotovili, da tablete iz carr λ v FaSSGF razpadejo šele po šestih urah, tako da lahko pričakujemo, da bo ob vstopu tablete v TČ ta še cela in bo podaljšan čas sproščala učinkovino. Potrebno je opraviti še poskuse sproščanja v višjem pH-ju in v mediju, ki je podoben črevesnim tekočinam, da lahko ovrednotimo kaj se zgodi s tableto. Najmanj primeren polimer za podaljšano sproščanje je carr κ , saj v želodčnem mediju tableta

razpade že v treh oziroma štirih urah. Glede na to, da se tableta zadrži v želodcu okoli dve uri, predvidevamo, da bo prišlo v TČ do sprostitve celotne ZU že ob vstopu v TČ in celotna količina ZU bo takoj na voljo za absorpcijo. Za končne zaključke je potrebno preveriti še vpliv spremembe pH-ja ob vstopu v tanko črevo in hidrodinamskih sil (mešanja želodca in peristaltike) na nastanek gela in sproščanje ZU iz tablete.

Ker potuje tableta po GIT, pride tudi v območje z višjim pH-jem kot je v želodcu. Zato smo poskus sproščanja PF iz tablet izvajali tudi v mediju z višjim pH-jem (simuliran črevesni medij SIF pH=6,8). Pufer smo pripravili po postopku iz poglavja 6.1.6. Rezultati sproščanja so zbrani na sliki 23.

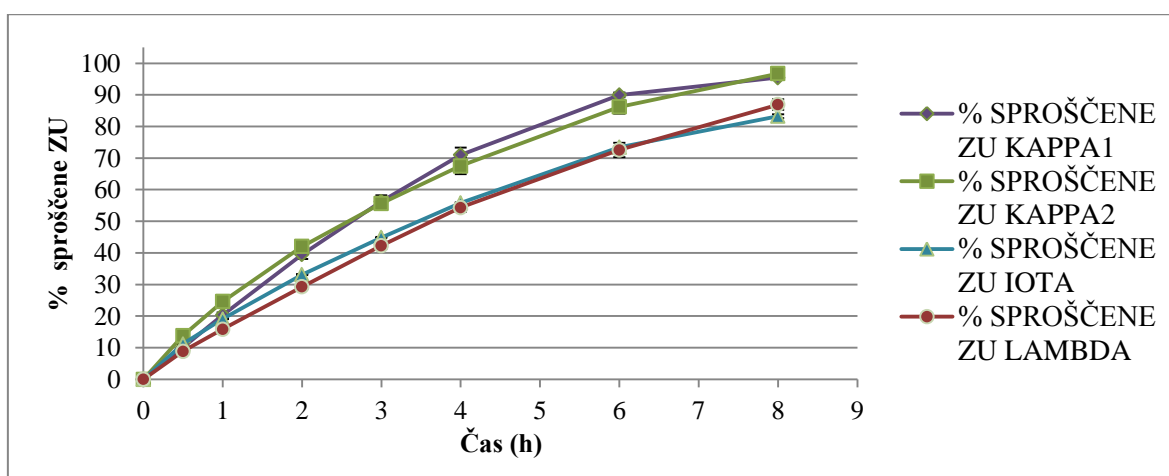


Slika 23: Sproščanje PF iz tablet narejenih iz carr κ 1, κ 2, ι in λ v SIF (pufru s pH=6,8).

Pri sproščanju PF iz carr κ 1 in κ 2 je prišlo do razpada tablete v manj kot petih minutah. Tako se je na začetku sprostil ves PF. Predvidevamo, da ima na tak profil sproščanja največji vpliv K^+ ion (34). Raziskovalci Alany et al, 2010 (6) so preučevali vpliv K^+ ionov na nastajanje gela pri carr κ (0,4% w/v). Ugotovili so, da se z višanjem koncentracije K^+ ionov v raztopini poveča premreženje polimernih verig carr κ in nastane urejena struktura v obliki čebeljega satja, kar pripomore k visoki trdnosti sistema. Pri koncentraciji K^+ ionov 0,4% (w/v) pa K^+ ioni motijo prečno premreženje in oblika čebeljega satja se podre. Medij s pH=6,8 se uporablja za simulacijo tekočin v TČ, vendar je koncentracija K^+ ionov desetkrat višja kot so vrednosti v *in vivo* pogojih na tešče, kjer znaša koncentracija K^+ ionov 5,2 mM (14), zato dobljeni rezultati za napoved dogajanja *in vivo* niso relevantni. Carr ι geli so v prisotnosti višjih koncentracij K^+ bolj kohezivni in elastični, kot geli iz carr κ (6). PF se iz carr ι in λ sprošča zelo podobno in sproščanje je v obeh primerih zadržano.

Tableti v osmih urah nista razpadli v celoti, zato se tudi ni sprostila celotna količina PF. V SIF (pH=6,8) se PF iz carr ι in λ sprosti kasneje, kot v vodi in v FaSSGF.

Ker smo ugotovili, da je v mediju SIF (pH=6,8) previsoka koncentracija K^+ ionov in zato pridobljeni podatki niso uporabni za napovedi *in vivo*, smo nadaljevali sproščanje v mediju FaSSIF s pH=6,5. Medij smo pripravili po recepturi opisani v poglavju 6.1.7 in je bolj podoben fiziološkem mediju kot pufer SIF s pH=6,8. Medij FaSSIF ne vsebuje K^+ ionov, ampak samo Na^+ ione. Rezultati sproščanja PF v mediju FaSSIF iz vseh štirih vrst karagenanov so prikazani na sliki 24.



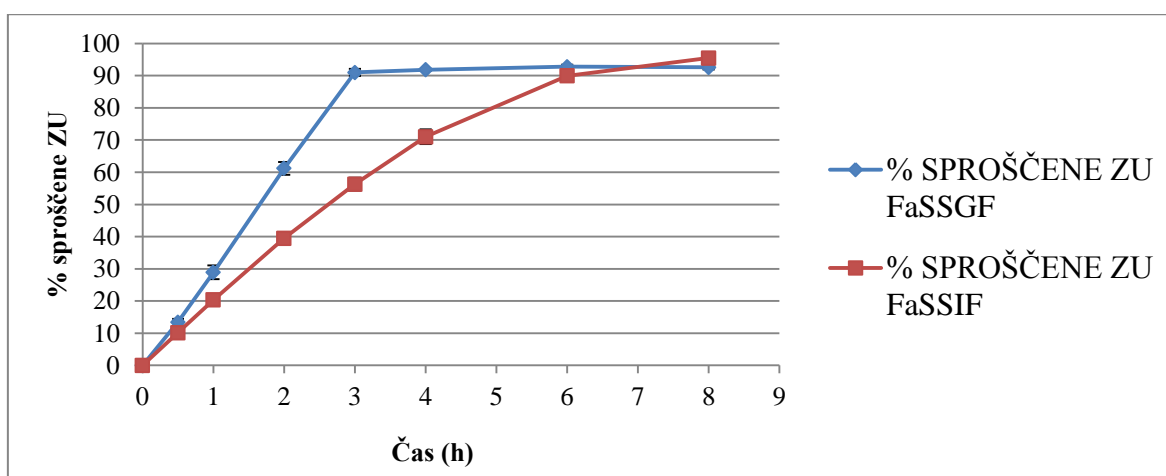
Slika 24: Sproščanje PF iz tablet narejenih iz carr κ 1, κ 2, ι in λ v biorelevantnem črevesnem mediju FaSSIF (pH=6,5).

PF se v FaSSIF (pH=6,5) sprošča iz carr κ 1 in κ 2 približno enako in hitreje kot carr ι in λ iz katerih se PF ravno tako sprošča približno enako. Sproščanje PF iz carr κ 1 in κ 2 je drugačno v primerjavi s sproščanjem v SIF (pH=6,8). To je dokaz, da imajo K^+ ioni največji vpliv na razpad tablete v mediju SIF (pH=6,8). Pri primerjavi profilov sproščanja PF iz carr ι in λ opazimo, da se PF iz obeh vrst karagenanov sprosti v FaSSIF (pH=6,5) hitreje kot v SIF (pH=6,8). Zanimiv pa je podatek, da sta vrednosti faktorja podobnosti f_2 za medija FaSSIF (pH=6,5) in SIF (pH=6,8) za obe vrsti karagenanov (carr ι in λ) višji kot 50, kar nam nakazuje, da sta profila sproščanja podobna.

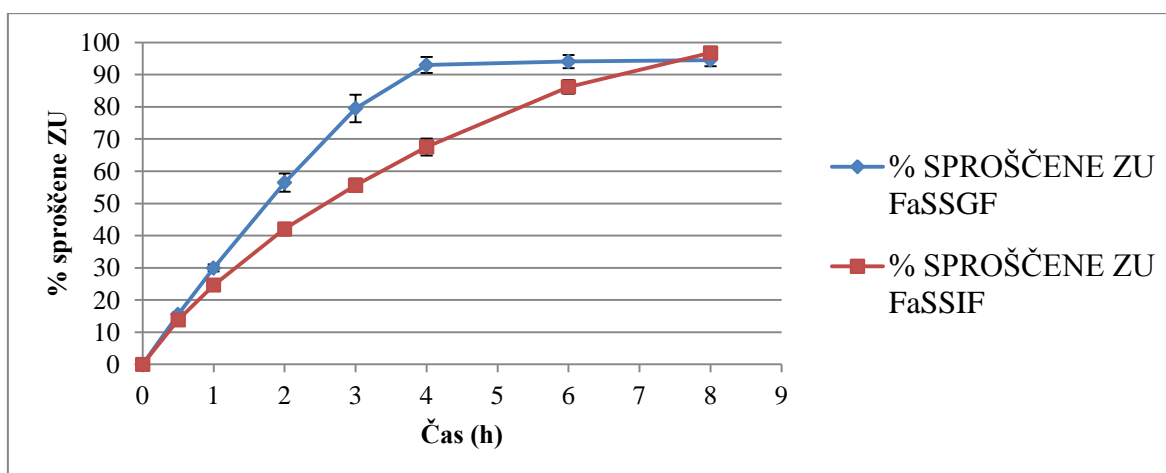
V mediju FaSSIF in v vseh ostalih medijih, kjer smo dodali PAS, smo pričakovali hitrejše sproščanje PF. Površinsko aktivna snov namreč zniža površinsko napetost medija in s tem poveča močenje tablete. Na podlagi naših rezultatov sproščanja smo ugotovili, da v vseh

primerih dodatek PAS ne omogoča hitrejše sprostitve PF iz karagenanskih tablet. Na sproščanje PF iz tablet veliko bolj vplivajo drugi dejavniki (ioni, HCl).

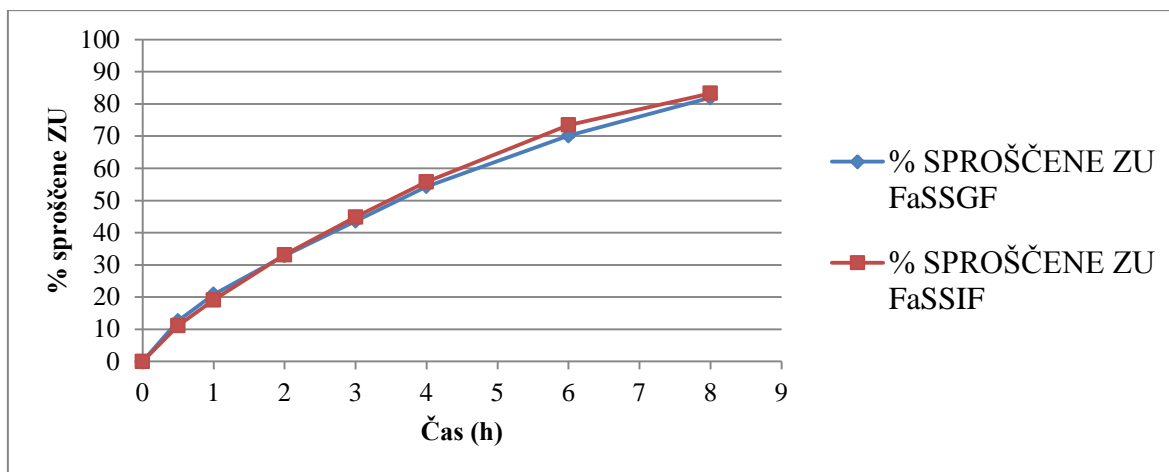
Na slikah 25-28 je prikazana primerjava profilov sproščanja PF v FaSSGF in FaSSIF za vse štiri vrste carr. Iz vseh vrst carr se PF sprošča hitreje v FaSSGF kot v FaSSIF, razen iz carr τ . Iz carr τ se v obeh medijih PF sprošča približno enako. Potrdimo lahko velik vpliv kislega pH-ja na sproščanje iz carr κ in λ . Sproščanje PF iz carr τ ni odvisno od vrste medija in tudi ni odvisno od pH-ja. Da bi potrdili to domnevo, bi morali opraviti še več poskusov v medijih z različnimi pH-ji.



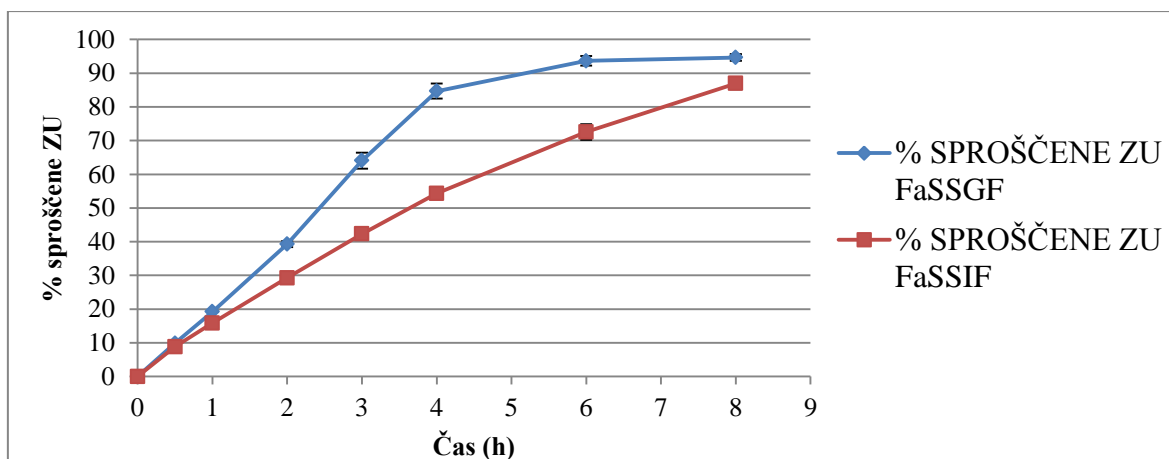
Slika 25: Primerjava profilov sproščanja PF iz carr $\kappa 1$ v želodčnem in črevesnem biorelevantnem mediju.



Slika 26: Primerjava profilov sproščanja PF iz carr $\kappa 2$ v želodčnem in črevesnem biorelevantnem mediju.



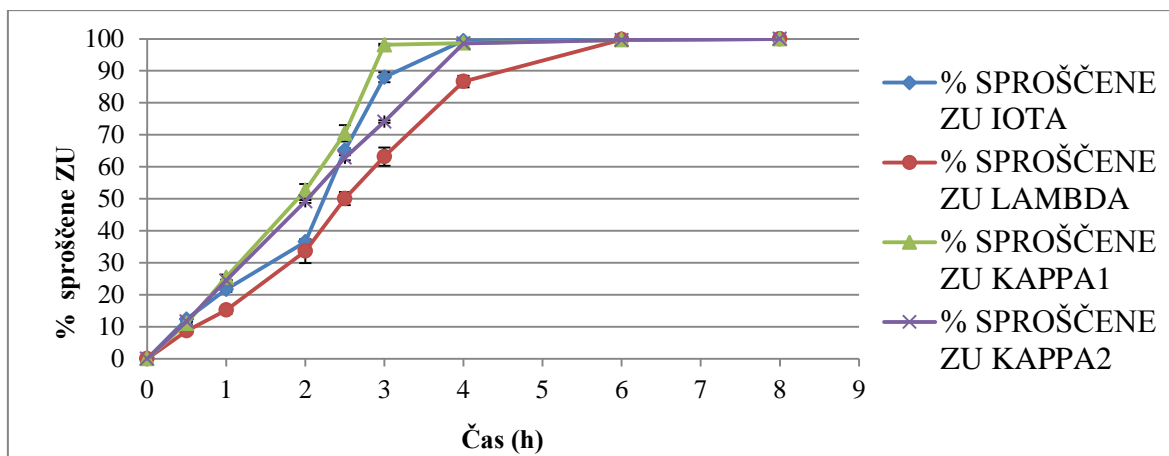
Slika 27: Primerjava profilov sproščanja PF iz carr ι v želodčnem in črevesnem biorelevantnem mediju.



Slika 28: Primerjava profilov sproščanja PF iz carr λ v želodčnem in črevesnem biorelevantnem mediju.

7.3.2 PROUČEVANJE VPLIVA MEDIJA NA SPROŠČANJE PF IZ OGRODNIH TABLET NA NAPRAVI BIO-DIS

Sproščanje PF smo iz vseh carr izvedli tudi na napravi BIO-DIS. Na ta način smo se skušali približati pogojem v *in vivo*. S spremembo pH-ja in hidrodinamskimi obremenitvami smo želeli posnemati fiziološke pogoje. Poskus smo izvajali po postopku opisanem v poglavju 6.6.2. Rezultati sproščanja so zbrani na sliki 29.



Slika 29: Sproščanje PF iz tablet narejenih iz carr κ_1 , κ_2 , ι in λ na napravi 3 po USP v medijih, ki simulirajo pogoje v gastrointestinalnem traktu (FaSSGF po Dressmanovi (pH 1,2); FaSSIF (pH 5,0); FaSSIF pH (6,5)).

Do časa 2 h se sprošča PF iz tablet po naslednjem vrstnem redu: $\kappa_1 > \kappa_2 > \iota > \lambda$. Vrstni red sproščanja je malo drugačen kot tisti v FaSSGF na napravi 2 po USP. Na BIO-DIS-u pride do spremembe sproščanja pri carr λ , saj se sprosti PF počasneje kot na napravi 2 po USP.

Ob prehodu iz FaSSIF s pH=5,0 v medij FaSSIF s pH=6,5 pride v prve pol ure do sprostitve skoraj celotne količine PF iz carr κ_1 in carr ι . S pomočjo primerjave količine PF, ki se je sprostila v prve pol ure potapljanja tablete v medij FaSSIF na napravi BIO-DIS in na napravi 2 po USP smo ugotavljali, kakšen je vpliv hidrodinamskih sil na sproščanje PF. Ugotovili smo, da imajo hidrodinamske sile v mediju FaSSIF največji vpliv na sproščanje PF iz carr κ_1 in carr ι . Pri teh dveh vrstah carr hidrodinamske sile povečajo količino sproščenega PF ob enaki časovni točki v primerjavi s sproščanjem na napravi 2 po USP v istem mediju. Iz grafa opazimo, da ima najbolj podaljšano sproščanje PF v tabletah iz carr λ , kar je mogoče presenetljivo glede na to, da v vodi tvori samo viskozne raztopine. Pri sproščanju na napravi 2 po USP se PF v FaSSIF namreč sprošča enako iz carr ι in iz carr λ . Raztopina carr λ je zelo viskozna in zato manj občutljiva na hidrodinamske sile kot šibka gelska struktura. Tableta se lahko bolj upira eroziji le, če je gel močan, če pa je gel šibak pa pride do erozije prej kot pri viskozni raztopini.

7.4 GRAVIMETRIČNO DOLOČANJE DEBELINE GELSKE PLASTI

Da potrdimo vpliv debeline gelske plasti na sproščanje PF iz carr, smo izvedli poskus določanja debeline gelske plasti po postopku opisanem v poglavju 6.7. Za gravimetrično določanje debeline gelske plasti smo se odločili zaradi enostavnosti in cene postopka.

Uporabili smo samo tablete narejene iz carr $\kappa 1$ in carr ι . Za ti dve vrsti tablet smo se odločili na podlagi opazovanja tvorbe gelske plasti pri izvajanju poskusa sproščanja PF v mediju FaSSGF po Dressmanovi na napravi 2 po USP. PF se je iz tablet narejenih iz carr $\kappa 1$ sprostil najhitreje, iz tablet iz carr ι pa najpočasneje. Zanimalo nas je, kako debela gelska plast se tvori, koliko medija sprejme polimer, ki je geliral in koliko medija sprejme polimer, ki je v jedru tablete, kjer še ni prišlo do nastanka gela in če si lahko s temi rezultati pomagamo razložiti sproščanje iz carr κ in carr ι . Rezultati meritev debeline gelske plasti so zbrani v tabelah 16 in 17. Po vsakem izvedenem poskusu smo tableto slikali in ocenili premer tablete in debelino gelske plasti. Slikani vzorci tablet so zbrani na slikah 30-31.

7.4.1 GRAVIMETRIČNO DOLOČANJE DEBELINE GELSKE PLASTI ZA CARR KAPPA1

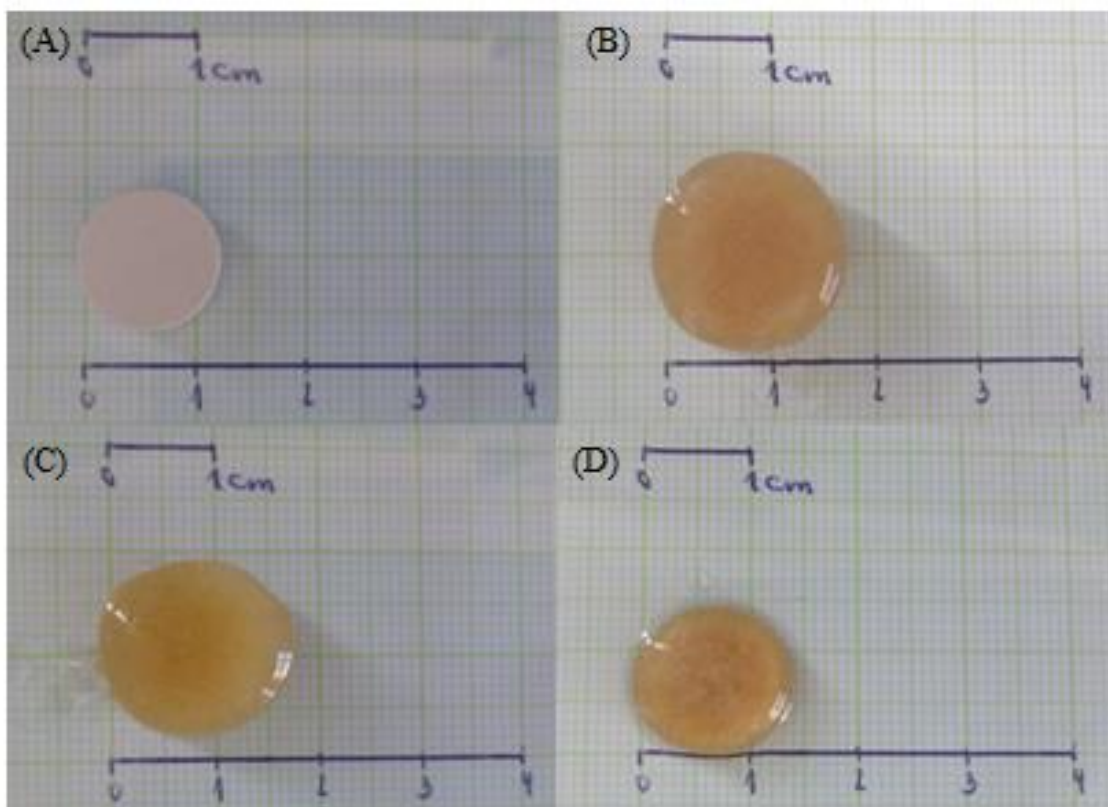
Carr $\kappa 1$ se po dveh urah omočenja v prečiščeni vodi poveča premer za 4,3 mm (tabela 16). V času do 2 h (slika 30B) je v večji meri prisoten vstop medija v tableto, nastanek gela in nabrekanje tablete. Po 3 h (slika 30C) opazimo povečanje debeline gelske plasti v primerjavi s tableto ob času $t=2$ h. Prišlo je tudi do zmanjšanja premera tablete, kar lahko pripišemo eroziji tablete, do katere je prišlo zaradi hidrodinamskih tokov topila povzročenih z mešanjem topila. Na slikah 30B in 30C lahko vidimo spremembo v gostoti polimera v jedru tablete in tudi v gelski plasti. Spremembo opazimo na podlagi barvne spremembe tablete. Po 3 h ostane v jedru tablete manj polimera, ki ni geliral v primerjavi s časom 2 h, zato je jedro tablete svetlejša kot ob $t=2$ h. Enako velja za gelsko plast.

Tabela 16: Rezultati meritev debeline gelske plasti za carr $\kappa 1$.

	voda				FaSSGF			
	2h	SD	3h	SD	2h	SD	3h	SD
Premer tablete (mm)	16,3	0,58	15,7	0,58	13,2	0,9	0	/
Debelina gelske plasti (mm)	1,8	0,29	2,7	0,29	0,5	0	0	/
1 mg polimera v gelu sprejme X mg	13,40	1,03	11,99	0,57	7,76	0,78	/	/
1 mg polimera v preostali tableti	4,89	0,29	6,23	0,12	3,37	0,09	/	/

V raztopini FaSSGF je povečanje premera tablete po 2 h manjše kot v vodi (slika 30D). Tudi debelina gelske plasti je tanjša, kar je v skladu z literaturnimi podatki (4). Po 3 h je tableta v celoti razpadla. Pri carr $\kappa 1$ namreč v kislem pride do razčlenitve verig dvojne

vijačnice, nastali gel je šibkejši in to opazimo kot povečano erozijo tablete. Rezultati meritve debeline gelske plasti so v skladu z rezultati sproščanja, saj pride v FaSSGF do najhitrejše sprostitve PF kot v vodi (slika 19). Potrdimo lahko, da na sproščanje PF iz carr $\kappa 1$ vpliva erozija tablete, ki je posledica razčlenitve verig dvojne vijačnice v kislem. Gelska plast je tudi občutljiva na gibanje in zato se verige polimera hitro odpletajo. To smo potrdili tudi s poskusom, na BIO-DIS-u. Tanjša gelska plast omogoča hitrejšo difuzijo PF iz tablete. Prav tako tableta po treh urah razpade in s tem se iz tablete sprosti celotna količina PF. Tudi razpad tablete je v skladu z rezultati sproščanja v FaSSGF (slika 14).



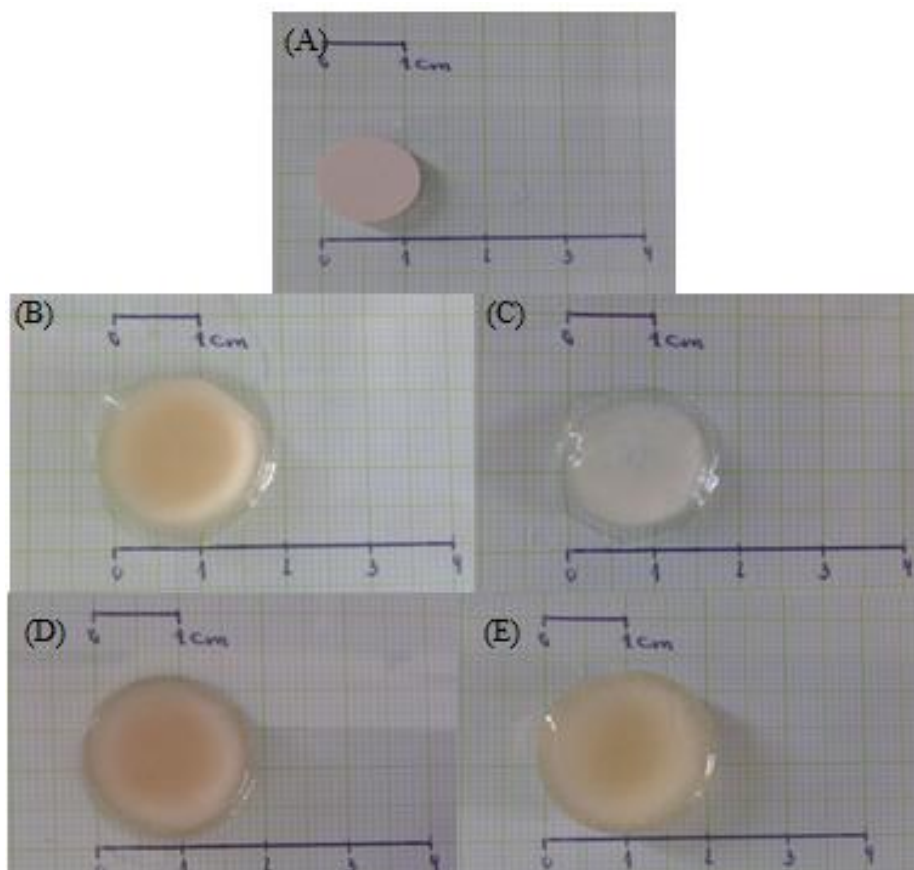
Slika 30: Tablete narejene iz carr $\kappa 1$ slikane po odvzemu iz posameznega medija: (A) pred izvedbo poskusa, (B) po 2 h poskusa v vodi, (C) po 3 h poskusa v vodi in (D) po 2 h poskusa v mediju FaSSGF po Dressmanovi.

7.4.2 GRAVIMETRIČNO DOLOČANJE DEBELINE GELSKE PLASTI ZA CARR IOTA

Carr ι se po 2 h v vodi poveča premer tablete za 4,2 mm (tabela 17). Nastane gelska plast debeline 1,5 mm. V času do 2 h je prisotna hidratacija polimera in nabrekanje tablete. V 4 h se celotna tableta spremeni v gel (slika 31C). Celotni polimer v tableti je hidratiran,

premer tablete se je v primerjavi s časovno točko $t=2$ h celo malo povečal. Predvidevamo, da je po 4 h prisotna samo še erozija tablete.

Pri izvajanju poskusa v FaSSGF opazimo ob $t=2$ h večje povečanje premera tablete in debeline gelske plasti v primerjavi z vodo (slika 31D). Tudi pri $t=4$ h (slika 31E) sta premer tablete in debelina gelske plasti večja v primerjavi s časom $t=2$ h v FaSSGF in s časom $t=4$ h v vodi. Rezultati poskusa so v skladu z literaturo (4), v kislem je gel carr ι namreč stabilen. V FaSSGF je nastal močnejši gel kot v vodi, zato je tudi sproščanje PF počasnejše (slika 21). Že z vizualna primerjavo tablet lahko potrdimo, da je v FaSSGF nastal močnejši gel kot v vodi, saj je v vodi ob času $t=4$ h celoten polimer prešel v gel, v FaSSGF pa je v gel prešel le del tablete. Tudi premer tablete je večji v FaSSGF kot v vodi, kar nam potrjuje, da je gel iz carr ι v FaSSGF bolj stabilen in odporen na erozijo. S tem tudi potrdimo počasnejše sproščanje PF iz carr ι v FaSSGF, saj nastanek čvrstjega gela onemogoča prehod molekulam ZU v raztopino.



Slika 31: Tablete narejene iz carr ι slikane po odvzemu iz posameznega medija: (A) pred izvedbo poskusa, (B) po 2 h v vodi, (C) po 4 h v vodi, (D) po 2 h v mediju FaSSGF po Dressmanovi in (E) po 4 h v mediju FaSSGF po Dressmanovi.

Tabela 17: Rezultati meritve debeline gelske plasti za carr ι .

	voda				FaSSGF			
	2h	SD	4h	SD	2h	SD	4h	SD
Premer tablete (mm)	16,2	0,3	16,8	0,8	18	0	20	0
Debelina gelske plasti (mm)	1,5	0	16,8	0,8	2,3	0,6	2,8	0,3
1 mg polimera v gelu sprejme X	12,72	5,01	23,23	2,06	11,94	0,68	11,83	1,57
1 mg polimera v preostali tableti	3,09	0,42	/	/	3,01	0,23	4,77	0,12

S primerjavo premerov tablet in debeline gelske plasti si lahko razložimo tudi sproščanje PF iz carr $\kappa 1$ in carr ι . Pri sproščanju PF v vodi opazimo, da med carr κ in ι ni velikih razlik, kar nam potrjuje tudi debelina gelske plasti za obe vrsti karagenanskih tablet, ki se ne razlikuje veliko. Pri sproščanju PF v FaSSGF pa opazimo večje razlike. Potrdimo lahko, da se PF hitreje sprosti iz carr $\kappa 1$ kot iz carr ι . Carr $\kappa 1$ namreč tvori v FaSSGF tanjšo gelsko plast in tudi hitreje razpade kot carr ι .

Pri poskusu sproščanja na napravi BIO-DIS (slika 29) je prišlo ob prehodu tablete v višji pH do zelo hitre sprostitve ZU iz carr $\kappa 1$ in carr ι . Vendar pa na podlagi velikosti tablete po $t=2$ h predvidevamo, da bo pri obeh vrstah carr prišlo do zakasnitve sprostitve PF v TČ. Obe velikosti tablet sta namreč večji kot je povprečni premer pilorusa ($2r=12,8\pm 7\text{mm}$) (35). Premer pilorusa namreč zelo variira in sprostitvev FO naprej po GIT je zelo odvisna od premera pilorusa. S tem je tudi odvisno, kako podaljšano bo sproščanje. Zagotovo pa lahko trdimo, da bi v primeru zadržanja obeh vrst carr prišlo do hitrejše sprostitve PF iz carr $\kappa 1$ kot iz carr ι , saj carr ι tvori čvrstejši gel v FaSSGF. Carr ι tudi po štirih urah v FaSSGF ne razpade v celoti (slika 14). V primeru carr $\kappa 1$ bi po štirih urah zadržanja v želodcu prišlo do razpada tablete in do sprostitve celotnega odmerka ZU. Pri carr ι bi najverjetneje prišlo do zadržanja v želodcu dlje kot 4 ure, saj ima tableta premer 20 mm.

V tabeli 16 in 17 so podani tudi rezultati količine medija, ki ga sprejme 1 mg polimera. Po času 2h sprejme gel v tableti carr $\kappa 1$ 3x več medija kot polimer v jedru tablete. Po 3 h je količina vode bistveno bolj enakomerno porazdeljena. Po 3 h pride do večje penetracije medija v suho jedro tablete, počasi se tvori gel. V FaSSGF je po 2 h razmerje sprejema vode enako kot v vodi po 3 h. Zaradi razčlenitve verig dvojne vijačnice polimera v kislem, sprejme polimer v krajšem času več medija.

Po času 2 h je v gelu v carr τ 4x več vode kot v jedru tablete. Po 4 h je celotna tableta v obliki gela. Zanimivo je dejstvo, da sprejme 1 mg polimera v gelu ob času 4 h dvakrat večjo količino vode kot 1 mg polimera v času 2 h, kar pomeni, da se gel s časom redči in je bolj občutljiv na erozijo. Količina sprejetega medija ob času 2 h je v FaSSGF zelo podobna količini sprejetega medija v vodi ob $t=2$ h.

Zanimiva je dejstvo, da sprejme polimer carr τ v mediju FaSSGF manjšo količino medija kot v prečiščeni vodi. Ugotovitev je v nasprotju s pričakovanji, saj bi pričakovali, da bo polimer v FaSSGF sprejel, zaradi dodatka PAS, več vode. Vendar verjetno na količino sprejete vode vpliva obnašanje polimera v kislem in vpliv kisline na tvorbo gelske plasti.

8 SKLEP

Z našim raziskovalnim delom smo prišli do naslednjih sklepov:

- NaCl in SDS povzročita hitrejšo sprostitvev PF iz carr $\kappa 1$ v primerjavi z vodo. Velik vpliv imajo Na^+ ioni, ki povzročijo tvorbo šibkejšega gela.
- Za sproščanje PF iz karagenanov v HCl smo ugotovili, da se sprošča po naslednjem vrstnem redu: $\kappa 1 = \kappa 2 > \lambda > \iota$. Opazen je vpliv kislega pH na karagenane. Pri carr κ pride do razpleta dvojne vijačnice in s tem do zelo hitre sprostitve učinkovine, carr ι pa v kislem tvori stabilne gele. Carr ι v kislem tvori čvrstije gele kot carr κ ali carr λ .
- PF se iz carr ι v posameznih sestavinah medija FaSSGF sprošča primerljivo hitro, v celokupnem mediju FaSSGF pa smo ugotovili, da je sproščanje najpočasnejše. Do takšnega sproščanja najverjetneje pride zaradi velike koncentracije Na^+ ionov v raztopini. To povzroči povezavo dvojnih vijačnic polimera v trigonalno strukturo in s tem nastanek čvrstega gela. PF se sprošča enako iz carr ι v mediju FaSSGF in FaSSIF, zato se carr ι kaže kot primeren za uporabo v FO s podaljšanim sproščanjem. Poleg tega je tableta carr ι po dveh urah v biorelevantnem želodčnem mediju FaSSGF tako velika, da po vsej verjetnosti tableta ne bi mogla zapustiti želodca in bi dejansko lahko prišlo do zadržanja tablete v želodcu.
- Ugotovili smo tudi, da tablete iz carr κ v simuliranem črevesnem mediju (SIF) s pH= 6,8 pripravljenem po USP takoj razpadejo zaradi prisotnih K^+ ionov. Rezultat fiziološko ni relevanten, saj je koncentracija K^+ ionov v pufru višja kot v fizioloških pogojih na tešče.

Na podlagi naših rezultatov smo ugotovili, da so tablete narejene iz carr κ neprimerne za pripravo FO s podaljšanim sproščanjem, saj bi prišlo v fizioloških pogojih na tešče do prehitre sprostitve celotne količine ZU, saj tablete v vseh medijih razpadejo prej kot v 6-ih urah. Kot primernejša sta se izkazala carr ι in λ . Carr ι se je izkazal kot nekoliko manj občutljiv na vplive medija, carr λ pa je bolj neobčutljiv na hidrodinamske pogoje. V nadaljevanju bi morali proučiti, kako se tablete obnašajo tudi v pogojih po hranjenju ter se nato odločiti, kateri polimer je ugodnejši za izdelavo hidrofilnih ogrodnih tablet s podaljšanim sproščanjem.

9 LITERATURA

1. Maderuelo C, Zarzuelo A, Lanao JM: Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. *Journal of Controlled Release* 2011; 154: 2-19.
2. Jain KK: *Drug Delivery Systems*, Humana Press, USA, 2008: 217-243
3. Li L, Ni R, Shao Y, Mao S: Carrageenan and its applications in drug delivery. *Carbohydrate Polymers* 2014; 103: 1-11.
4. Prajapati VD, Maheriya PM, Jani GK, Solanki HK: Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. *Carbohydrate Polymers* 2014; 105: 97-112.
5. Pavli M: Načrtovanje, izdelava in vrednotenje ogradnih tablet s prirejenim sproščanjem na osnovi naravnih polimerov, Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2010, 23-25.
6. Thrimawithana TR, Young S, Dunstan DE, Alany RG: Texture and rheological characterization of kappa and iota carrageenan in the presence of counter ions. *Carbohydrate Polymers* 2010; 82: 69-77.
7. Yuguchi Y, Thuy TTT, Urakawa H, Kajiwara K: Structural characteristics of carrageenan gels: temperature and concentration dependence. *Food Hydrocolloids* 2002; 16: 515-522.
8. Daniel-da-Silva AL, Ferreira L, Gil AM, Trindade T: Synthesis and swelling behavior of temperature responsive κ -carrageenan nanogels. *Journal of Colloid and Interface Science* 2011; 355: 512-517.
9. Yuguchi Y, Urakawa H, Kajiwara K: Structural characteristics of carrageenan gels: various types of counter ions. *Food Hydrocolloids* 2003; 17: 481-485.
10. Hazaveh H, Idayu Muhamad I: Modification and swelling kinetic study of kappa-carrageenan-based hydrogel for controlled release study. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 2013; 44: 182-191.
11. Jantratid E, De Maio V, Ronda E, Mattavelli V, Vertzoni M, Dressman JB: Application of biorelevant dissolution tests to the prediction of *in vivo* performance of diclofenac sodium from an oral modified-release pellet dosage form. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009; 37: 434-441.

12. Dressman JB, Amidon GL, Reppas C, Shah VP: Dissolution Testing as a Prognostic Tool for Oral Drug Absorption: Immediate Release Dosage Forms. *Pharmaceutical Research* 1998; Vol. 15; No. 1: 11-21.
13. Aulton ME: *Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicine*, 2007, 266-276
14. Di Maio S, Carrier RL: Gastrointestinal contents in fasted state and post-lipid ingestion: *In vivo* measurements and *in vitro* models for studying oral drug delivery. *Journal of Controlled Release* 2011; 151: 110-122.
15. Jantravid E, Janssen N, Reppas C, Dressman JB: Dissolution Media Simulating Conditions in the Proximal Human Gastrointestinal Tract: An Update. *Pharmaceutical Research* 2008; Vol. 25; No. 7: 1663-1676.
16. Klein S: The Use of Biorelevant Dissolution Media to Forecast the *In Vivo* Performance of the Drug. *The AAPS Journal* 2010; Vol. 12; No. 3: 397-406.
17. Aburub A, Risley DS, Mishra D: A critical evaluation of fasted state simulating gastric fluid (FaSSGF) that contains sodium lauryl sulfate and proposal of modified recipe. *International Journal of Pharmaceutics* 2008; 347: 16-22.
18. Efentakis M, Dressman JB: Gastric juice as a dissolution medium: Surface tension and pH. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 1998; Volume 23: 97-102.
19. Zoeller T, Klein S: Simplified Biorelevant Media for Screening Dissolution Performance of Poorly Soluble Drugs. *Dissolution Technologies* 2007, November: 8-13.
20. Sodium Dodecyl Sulfate, podatki povzeti iz portala PubChem; <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=3423265#x27>, dostopano 19. avgust 2014
21. Naskar B, Dey A, Maulik SP: Counter-ion Effect on Micellization of Ionic Surfactants: A Comprehensive Understanding with Two Representatives, Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) and Dodecyltrimethylammonium Bromide (DTAB), *Journal of Surfactants and Detergents* 2013; 16: 785-794.
22. Yang L, Johnson B, Fassihi R: Determination of Continuous Changes in the Gel Layer Thickness of Poly(ethylene oxide) and HPMC Tablets Undergoing Hydration: A Texture Analysis Study. *Pharmaceutical Research* 1998; Vol 15; No 12: 1902-1906.

23. Leskinen JTT, Hakulinen MA, Kuosmanen M, Ketolainen J, Abrahmsen-Almi S, Lappalainen R: Monitoring of swelling of hydrophilic polymer matrix tablets by ultrasound techniques. *International Journal of Pharmaceutics* 2011; 404: 142-147.
24. Barb AA, d'Amore M, Chirico S, Lamberti G, Titomanlio G: Swelling of cellulose derivative (HPMC) matrix systems for drug delivery. *Carbohydrate Polymers* 2009; 78: 469-474.
25. Dahlberg C, Fureby A, Schuleit M, Dvinskikh SV, Furo I: Polymer mobilization and drug release during tablet swelling. A ¹H NMR and NMR microimaging study. *Journal of Controlled Release* 2007; 122: 199-205.
26. SPC za zdravilo Pentilin, proizvajalec: Krka, datum zadnje revizije dokumenta: 11.3.2011;
[http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/2856E6B5698E4091C12579C2003F5C5F/\\$File/s-009256.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/2856E6B5698E4091C12579C2003F5C5F/$File/s-009256.pdf), dostopano 15. april 2014
27. Slosarczyk A, Szymura-Oleksiak J, Mycek B: The kinetics of pentoxifylline release from drug-loaded hydroxyapatite implants. *Biomaterials* 2000; 21: 1215-1221.
28. Stippler E, Koop S, Dressman JB: Comparison of US Pharmacopeia Simulated Intestinal Fluid TS (without pancreatin) and Phosphate Standard Buffer pH 6.8, TS of the International Pharmacopeia with Respect to Their Use in *In Vitro* Dissolution Testing. *Dissolution Technologies* 2004; May: 6-10.
29. European Pharmacopeia, 7th edition, Volume 1. EDQM, Strasburg, 2011
30. Picker-Freyer KM: Carrageenans: Analysis of Tablet Formation and Properties. *Pharmaceutical technology Europe* 2005; Aug 1:
<http://www.pharmtech.com/pharmtech/article/articleDetail.jsp?id=173526>, 15. september 2014
31. Picker-Freyer KM: Carrageenans: Analysis of Tablet Formation and Properties (Part II). *Pharmaceutical technology Europe* 2005; Sep 1:
<http://www.pharmtech.com/pharmtech/article/articleDetail.jsp?id=176028>, dostopano 15. september 2014
32. Nagelkerke NJD: A note on a general definition of the coefficient of determination. *Biometrika* 1991; 78: 691-692.
33. Janaswamy S, Chandrasekaran R. Three-dimensional structure of the sodium salt of iota-carrageenan. *Carbohydrate Research* 2001; 335: 181-194.

34. Mangione MR, Giacomazza D, Bulone D, Martorana V, Cavallaro G, San Biagio PL: K⁺ and Na⁺ effects on the gelation properties of κ-Carrageenan. *Biophysical Chemistry* 2005; 113: 129-135.
35. Talukder R, Fassihi R: Gastroretentive Delivery Systems: A Mini Review. *Drug development and industrial pharmacy* 2004; Vol 30; No 10: 1019-1028.