

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JASNA RUS

**VPLIV PEKTINA IN SAHAROZE NA SPROŠČANJE PARACETAMOLA IZ
OGRODNIH TABLET**

**THE INFLUENCE OF PECTIN AND SUCROSE ON THE RELEASE OF
PARACETAMOL FROM MODIFIED-RELEASE TABLETS**

Ljubljana, 2014

Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm.

Zahvala

Zahvaljujem se mentorici izr. prof. dr. Mariji Bogataj, mag. farm. in delovni mentorici Ani Krese, mag. farm. za strokovno pomoč in usmeritve pri magistrski nalogi. Obenem se zahvaljujem tudi tehnični sodelavki Greti Cof, ing. kem. in ostalim, ki so skrbeli za prijetno vzdušje v raziskovalnem laboratoriju.

Zahvaljujem se tudi družini, Tilnu in vsem ostalim, ki so mi tekom študija stali ob strani.

Izjava:

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

Jasna Rus

Ljubljana, marec 2014

Predsednik komisije: prof dr. Janez Kerč, mag. farm.

Član komisije: doc. dr. Tomaž Bratkovič, mag. farm.

Kazalo vsebine

Povzetek	I
Abstract.....	II
Seznam okrajšav	III
1. Uvod	1
1.1. HPMC (hidroksi propilmetil celuloza)	1
1.1.1. Uporaba HPMC	1
1.1.2. Vpliv sladkorjev na sproščanje iz tablet z dodatkom HPMC	2
1.2. Vlasknine v prehrani	5
1.2.1. Opredelitev in delitev	5
1.2.2. Pomen v prehrani.....	6
1.3. Pektin	8
1.3.1. Funkcija v celici, struktura in biosinteza	8
1.3.2. Stopnja esterifikacije (DE – angl. <i>degree of esterification</i>)	10
1.3.3. Lastnosti	11
1.3.4. Pridobivanje.....	13
1.3.5. Uporaba	14
2. Namen dela	16
3. Materiali in metode.....	17
3.1. Material	17
3.1.1. Uporabljene kemikalije.....	17
3.1.2. Uporabljene aparature.....	17
3.2. Metode	18
3.2.1. Izdelava tablet s podaljšanim sproščanjem.....	18
3.2.2. Priprava medija za sproščanje	18
3.2.3. Testi sproščanja	19

3.2.4.	Analiza vzorcev	21
3.2.5.	Določitev enačb umeritvene premice	21
3.2.6.	HPLC (High-performance liquid chromatography)	22
3.2.7.	Izračun profila sproščanja.....	22
3.2.8.	Statistična analiza	24
4.	Rezultati.....	25
4.1.	Določitev enačb umeritvenih premic	25
4.2.	Optimizacija postopkov	26
4.2.1.	Profili sproščanja v medijih s saharozo različnih dobaviteljev	26
4.2.2.	Profili sproščanja dobljeni z različnima analiznima metodama	27
4.3.	Profili sproščanja	30
5.	Razprava.....	41
5.1.	Optimizacija pogojev	41
5.1.1.	Vpliv saharoze različnih dobaviteljev	41
5.1.2.	Vpliv različnih analiznih metod	42
5.2.	Vpliv pektina.....	44
5.3.	Vpliv saharoze	45
5.4.	Vpliv pektina in saharoze.....	49
5.4.1.	Vpliv pektina v medijih s koncentracijo saharoze 200 g/L	49
5.4.2.	Vpliv pektina v medijih s koncentracijo saharoze 250 g/L	52
6.	Zaključki.....	55
7.	Literatura	57

Povzetek

Ogrodne tablete so peroralna farmacevtska oblika, s pomočjo katere dosežemo podaljšano sproščanje, najpogosteje z nabrekanjem hidrofilnega polimera v stiku s črevesnimi sokovi. Ob prehodu skozi gastrointestinalni trakt je taka tableta podvržena različnim pogojem (pH, peristaltika), na sproščanje pa lahko vplivata tudi zaužita hrana in pijača. Namen te naloge je bil opredeliti vpliv kombinacije različnih koncentracij saharoze in pektina v mediju, na sproščanje iz ogrodnih tablet s hidroksipropilmetil celulozo (HPMC).

Poskuse smo izvedli na dveh različnih vrstah tablet, ki smo jih izdelali sami. Tablete so vsebovale paracetamol (modelna učinkovina), mikrokristalno celulozo, magnezijev stearat ter HPMC. Polovica tablet je vsebovala HPMC vrste Metolose[®] 65SH-4000, druga polovica pa Metolose[®] 90SH-100 000 SR. Poskuse smo izvajali na pretočnem sistemu s kroglicami. Vodni mediji so vsebovali 0,002M HCl ter saharozo ali pektin v različnih koncentracijah ter kombinacijah. Mediji s saharozo so vsebovali saharozo v koncentracijah 150, 200, 250 ali 300 g/L, medij s pektinom je vseboval koncentracijo pektina 5 g/L, kombinirani mediji pa so vsebovali navedene koncentracije saharoze in koncentracije pektina 1, 2 ali 5 g/L.

Ugotovili smo, da uporabljeni vrsti HPMC različno reagirata na povišanje koncentracije saharoze. HPMC Metolose[®] 65SH-4000 je na višanje koncentracije saharoze bolj občutljiva, do hitrega sproščanja iz tablet s to vrsto HPMC je prišlo že pri koncentraciji saharoze 200 g/L, medtem ko so tablete s HPMC (Metolose[®] 90SH-100 000 SR) izkazovale hitro sproščanje šele v mediju s koncentracijo saharoze 300 g/L. Koncentracija pektina 5 g/L v mediju na sproščanje iz tablet s HPMC Metolose[®] 65SH-4000 ni vplivala, pri tabletah s HPMC Metolose[®] 90SH-100 000 SR pa se je hitrost sproščanja nekoliko povečala. Sproščanje paracetamola v kombiniranih medijih, je bilo glede na profil sproščanja v mediju s saharozo spremenjeno pri obeh vrstah tablet enako. S povečevanjem koncentracije pektina do 2 g/L se je hitrost sproščanja paracetamola zmanjševala. Pri koncentraciji pektina 5 g/L pa se je sproščanje že občutneje upočasnilo.

Ključne besede: pektin, saharoza, ogrodne tablete, hidroksipropilmetil celuloza, sproščanje

Abstract

Matrix tablet is an oral dosage form, which ensures prolonged release, most frequently by swelling of hydrophilic polymer when it comes in contact with gastric juice. While the tablet passes the gastrointestinal tract it is exposed to different conditions that could affect drug release. The release is also influenced by food and drinks one consumes. The main goal of this thesis was to define effects of different concentrations of sucrose and pectin in media on drug release from matrix tablets with hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC).

The experiments were performed on two different types of tablets, which we made ourselves. Tablets contained paracetamol as a model substance, microcrystalline cellulose, magnesium stearate and HPMC. One type of the tablets contained HPMC Metolose[®] 65SH-4000, and the other type contained HPMC Metolose[®] 90SH-100 000 SR. The experiments were performed on a flow-through system with glass beads. Aqueous medium contained 0,002 M HCl and sucrose and pectin in different concentrations and combinations. Media with sucrose contained sucrose in concentrations 150, 200, 250 or 300 g/L, the medium with pectin contained a concentration of pectin 5 g/L, and the combined media contained above cited concentrations of sucrose and pectin in concentrations 1, 2 or 5 g/L.

We concluded that both types of HPMC react differently when the concentration of sucrose increases. HPMC Metolose[®] 65SH-4000 is more susceptible to increasing the concentration of sucrose; drug release from tablets was fast, starting at concentration of sucrose 200 g/L. HPMC Metolose[®] 90SH-100 000 SR tablets started to release faster at the concentration 300 g/L of sucrose in the medium. On one hand, adding only pectin to the medium at concentration 5 g/L did not affect the release from tablets with HPMC Metolose[®] 65SH-4000. On the other, this concentration of pectin slightly increased the release rate from tablets with HPMC Metolose[®] 90SH-100 000. The release of paracetamol in sucrose media was changed (for both types of tablets) when we added pectin. With increasing the concentration of pectin up to 2 g/L in sucrose media, the release rate of paracetamol decreased. Concentration 5 g/L of added pectin significantly slowed down the release.

Key words: pectin, sucrose, matrix tablets, hydroxypropylmethyl cellulose, release

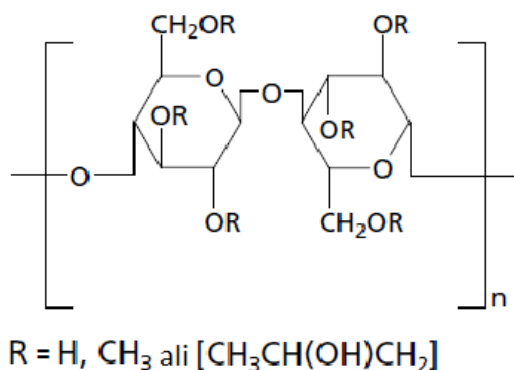
Seznam okrajšav

- HPMC: hidroksipropilmetil celuloza
- FDA: *Food and Drug Administration* (agencija za hrano in zdravila v ZDA)
- cP : centipoise, merska enota za merjenje viskoznosti
- S_{CRIT}: kritična mejna koncentracija
- HG: homogalakturonan
- RG: ramnogalakturonan
- DE: (ang. *degree of esterification*) stopnja esterifikacije
- SD: standardna deviacija (odklon)
- KV: koeficient variacije
- R²: Pearsonov koeficient

1. Uvod

1.1. *HPMC (hidroksipropilmetil celuloza)*

Hidroksipropilmetil celuloza je vodotopen, hidrofilen, neionski celulozni eter. Z vodo tvori gel in je stabilna v širokem pH območju (3,00 – 11,00). Sestavljena je iz D-glukoz, ki so med sabo povezane z $\beta(1,4)$ vezmi, ki jih prebavni encimi v črevesju ne morejo razcepiti (slika 1). Zaradi ugodnih lastnosti (dobro poznane lastnosti, neionski polimer – manjše interakcije z ioni v medijih, primernost za dobro in tudi slabše topne učinkovine) in FDA ocene GRAS (angl. *generally recognised as safe*) je HPMC ena najpogosteje uporabljenih celuloznih polimerov za izdelavo farmacevtskih oblik s podaljšanim sproščanjem (1). Pridobivajo jo tako, da surovo celulozo obdelajo z natrijevim hidroksidom, metil kloridom in propilen oksidom. Tako pride do hidroksipropil- in metil- substitucije na kisikovih atomih na celuloznem ogrodju (slika 1). Razmerje med tema dvema substituentoma določa lastnosti HPMC (2).



Slika 1: Struktura HPMC (prirejeno po 2)

Pri segrevanju vodne raztopine HPMC pride pri določeni temperaturi (odvisno od substitucije polimera) do tvorbe gela. Proces je reverzibilen, z višanjem koncentracije polimera pa se temperatura, pri kateri pride do tvorbe gela, zniža. Višanje temperature raztopine povzroči izgubo hidratirane vode, ob tem pa se poveča število interakcij polimer-polimer (vodikove vezi) preko metoksi skupin (1).

1.1.1. Uporaba HPMC

V farmacevtski tehnologiji HPMC uporabljamo pri filmskem oblaganju tablet, kot komponento ogrodnih tablet, stabilizator suspenzij, v pripravkih za oči in kožo – zagotavlja

ustrezno viskoznost pripravka, itd. V ogrodnih tabletah HPMC uporabljamo za doseganje podaljšanega sproščanja. Zaradi hidrofilnosti pride do hitre hidratacije polimera na površju tablete, voda, ki prodira skozi pore polimera, pa povzroči dodatno hidratacijo polimera. Pri tem pride do razvitja polimera, kar povzroči razklenitev vodikovih vezi med molekulami polimera – pojavijo se nova mesta za vezavo vode. Voda se z vodikovo vezjo veže na proste etrske skupine polimera. Z večanjem količine hidratirane vode se sčasoma tvori gel, ki upočasni prodiranje vode v tableto. Višja ko je stopnja viskoznosti HPMC, hitreje pride do tvorbe gela in pore med polimeri se hitreje zaprejo ter s tem preprečijo nadaljnje prodiranje vode v tableto. Viskoznost HPMC določamo v 2% (m/m) vodnih raztopinah pri 20 °C in jo izražamo v cP (centipoise). Na viskoznost vpliva molekulska masa polimera, višja ko je, bolj viskozna je raztopina. Gel služi kot fizična in difuzijska pregrada, skozi katero difundira učinkovina. Na hitrost difuzije vpliva tudi struktura učinkovine, npr. velike molekule z razvejanimi stranskimi skupinami difundirajo počasneje, saj interagirajo s polimerom (1,2).

1.1.2. Vpliv sladkorjev na sproščanje iz tablet z dodatkom HPMC

Kot že zgoraj omenjeno, je za doseg nadzorovanega sproščanja iz ogrodnih tablet s HPMC pomembna tvorba gela. Učinkovina se skozi plast gela sprošča z difuzijo, difuzijska plast pa se zaradi erozije (peristaltika, trenje) in prodiranja vode (hidratacija, geliranje, nabrekanje) pomika v notranjost tablete. Te tablete se dolgo časa zadržujejo v prebavnem traktu. S tem, ko potujejo vzdolž prebavnega trakta, pa se spreminja tudi medij, v katerem se nahaja tableta. Na medij vpliva tudi količina in sestava hrane, ki jo pacient zaužije, komponente v hrani pa lahko zavrejo tvorbo gela, kar lahko vodi do sprostitve velike količine zdravilne učinkovine naenkrat (t.i. dose dumpinga), kar je pri zdravilnih učinkovinah z ozkim terapevtskim oknom lahko ogrožajoče za pacienta (3).

Multivalentni anioni (fosfat, citrat) in etanol lahko neposredno vplivajo na HPMC in s tem povečajo sproščanje iz tablet. Tudi visoka koncentracija NaCl (nad 0,6 M), kot so ugotovili Williams in sod. (3), vpliva na tvorbo gela pri HPMC vrste Methocel® K4M. NaCl pri navedeni koncentraciji zavira nabrekanje polimera, gel se ne tvori dovolj hitro, pride do prodiranja vode v notranjost tablete in hitrega sproščanja učinkovine. Vendar pa tako koncentracijo v želodcu težko dosežemo, saj želodec ne tolerira tako visoke koncentracije soli. Večji problem predstavljajo sladkorji, saj jih zaužijemo veliko. Nahajajo se v sladkarijah, sladkih pijačah, slajenih sadnih sokovih, pripravljani hrani, ipd. (3).

In vitro raziskave na aparaturi USP 1 so pokazale, da se z višanjem koncentracije saharoze do neke meje (S_{CRIT} – kritične koncentracije) sproščanje celo upočasni. Nad S_{CRIT} (za tablete s HPMC Methocel[®] K4M je koncentracija saharoze okrog 18 g/100 mL), pa se je faza podaljšanega sproščanja skrajševala z višanjem koncentracije saharoze do te mere, da je prišlo do zelo hitrega sproščanja (3). Mikroskopski pregled nastajanja gela na površju tablete je pokazal, da je prišlo pri koncentracijah saharoze, višjih od S_{CRIT} , do počasnejšega nabrekanja polimera in zakasnitve tvorbe plasti gela, kot pri nižjih koncentracijah. V mediju s koncentracijo saharoze pod S_{CRIT} voda normalno prodira med pore HPMC in ob stiku s polimerom se le-ta najprej hidratira, polimer se razvije, kar razkrije nova vezavna mesta za vezavo vode (tvorba vodikovih vezi) in z večanjem hidratiranja pride tudi do geliranja. Najprej se pojavljajo lokalizirana območja hidratacije na površju tablete, ki pa se hitro povežejo in tvorijo kontinuirano plast gela po celi tableti. Tako se tvori trden gel, ki upočasni nadaljnje prodiranje vode v notranjost tablete in s tem zagotovi ustrezno sproščanje učinkovine iz tablete. Pri koncentracijah saharoze nad S_{CRIT} pa se je pokazalo, da je sposobnost tvorbe gela zmanjšana. Na tableti se tvorijo hidratirana območja, ki vsebujejo tudi slabše hidratirano HPMC ki se ne povežejo med seboj tako, da bi tvorila trden gel, oziroma tvorba gela ni dovolj hitra in voda neomejeno prodira v notranjost tablete. Z višanjem koncentracije saharoze se hitrost tvorbe gela zmanjšuje. Saharozna je namreč močno hidrofilna in vodo prisili, da se uredi okrog nje in tako težje hidratira HPMC. Pokazalo se je tudi, da je na sproščanje pri koncentraciji saharoze nad S_{CRIT} vplivala tudi hitrost rotacije vesla, saj je zaradi rahlejšje strukture gela prišlo do večje erozije. Poleg saharoze na sproščanje enako vplivajo tudi drugi sladkorji (poskusi so bili izvedeni na naslednjih sladkorjih: laktoza, galaktoza, glukoza, fruktoza), razlika pa je v S_{CRIT} , ki se med sladkorji razlikuje (3).

Prisotnost soli lahko zmanjša koncentracijo sladkorja, ki je potrebna za vpliv na sproščanje učinkovine iz HPMC - ogrodnih tablet. V raziskavo so Williams in sodelavci (4) vključili NaCl in natrijev citrat, ter ugotovili, da že 0,15M NaCl z 0,015M Na-citratom zmanjša kritično koncentracijo saharoze, v tabletah s HPMC vrste Methocel[™] K4M-CR premium za skoraj 50%. Same soli v mediju v koncentraciji pod S_{CRIT} , v nasprotju s sladkorji, sproščanja učinkovine ne upočasnijo. Nad kritično mejo pa soli delujejo na podoben način kot sladkorji, upočasnijo tvorbo gela s porušenjem strukture vode okrog polimera, s tem se hitrost sproščanja učinkovine poveča. Ugotovitev, da raztopljena kombinacija soli in

sladkorjev deluje sinergistično na hitrost sproščanja, je pomembna, saj so v zaužiti hrani največkrat prisotne različne snovi, tako soli kot maščobe in sladkorji (4). Ko pogledamo vsebnost teh snovi v hrani, opazimo, da nekatere sladke pijače vsebujejo od 0,3 - 0,4 M saharoze, visoko koncentracijo vsebujejo tudi kosmiči, medtem pa je NaCl v visokih koncentracijah prisoten v pripravljene hrani, suhi mesnini, čipsih, Na-citrat pa v sladoledih, zrelem siru, vinih. Glede na to da je volumen želodca v sitem stanju približno 700 mL, na tešče pa približno 50 mL, vidimo da zgoraj omenjenih koncentracij ni tako težko doseči (3,4).

1.2. *Vlaknine v prehrani*

1.2.1. Opredelitev in delitev

Polimere ogljikovih hidratov (tri ali več monomernih enot), ki se ne prebavijo niti absorbirajo v tankem črevesju človeka, imenujemo prehranske vlaknine. Prehranske vlaknine nimajo enotne molekulske formule, ampak gre za strukturno precej različne molekule, ki jih delimo na rastlinske (strukturni polisaharidi in znotrajcelični polisaharidi) in druge polisaharide (živalski ali sintezni). Med prehranske vlaknine spadajo celuloza, hemiceluloza, pektin, lignin, gume, polisaharidi iz morskih alg (karagenan, alginati, idr.), rezistentni škrob (neprebavljivi škrob), β -glukani, inulin, oligofruktoza in fruktooligosaharidi, psilium, hitin in hitosan, rezistentni dekstrini in polidekstroza (5,6). Viri prehranskih vlaknin so predstavljeni v preglednici I.

Preglednica I: Viri prehranskih vlaknin (5, 6)

Prehranska vlaknina	Vir v prehrani
celuloza	zelenjava, lesnate rastline, žitni otrobi
hemiceluloza	žitna zrna
lignin	žitni otrobi, luščine riža in stročnic, lesnate rastline
pektin	sadje, zelenjava, stročnice, sladkorna pesa, krompir
gume	stročnice, morske alge, mikroorganizmi
rezistentni škrob	semena stročnic, žitna zrna, surov krompir, staran kruh
β -glukani	zrna (oves, ječmen, rž, pšenica)
psilium	lupina semena indijskega trpotca
inulin in fruktooligosaharidi	cikorja, artičoka, čebula
hitin in hitosan	celična stena gob, zunanje ogrodje členonožcev (raki)

Poznamo več delitev prehranskih vlaknin. Glede na njihove lastnosti jih lahko delimo na (5):

- *topne in netopne prehranske vlaknine*

Gre za delitev na osnovi topnosti v vodi. Med topne vlaknine spadajo nekateri gumiji, psilium, pektin, β -glukane in nekatere hemiceluloze. Med netopne vlaknine pa uvrščamo lignin, celulozo, hemicelulozo in nekatere pektine. Netopne vlaknine se ne raztopijo v vodi, vendar pa se vseeno hidratirajo, vežejo vodo in tako

povečajo količino vsebine v črevesju in imajo tako pomembno vlogo pri prehodu hrane skozi prebavni trakt (5).

- *viskozne in neviskozne prehranske vlaknine*

Viskozne vlaknine tvorijo z vodo viskozne raztopine, ki vplivajo na prehod hrane iz želodca ter počasnejšo absorpcijo hranil v črevesju. Neviskozna prehranska vlaknina pa z vodo ne tvori viskozne raztopine, in nima vpliva na prehod hrane iz želodca. S počasnejšo absorpcijo hranil viskozna prehranska vlaknina tudi posredno vpliva na zmanjšano količino glukoze v krvi. Med viskozne vlaknine spadajo: nekatere gume, psilium in β -glukani (5).

- *fermentirajoče in nefermentirajoče prehranske vlaknine*

Črevesna mikroflora v debelem črevesu pretvori fermentirajoče vlaknine v ogljikov dioksid, metan, vodik in kratkoverižne maščobne kisline. Govorimo o fermentaciji vlaknin. Produkti fermentacije se lahko absorbirajo in postanejo hrana za celice debelega črevesa ali pa prispevajo k energijski vrednosti hrane. Med visoko fermentirajoče vlaknine spadajo: hemiceluloza, pektin, rezistentni škrob. Nefermentirajoče vlaknine pa v debelem črevesu ne fermentirajo in se izločijo nespremenjene (6).

- *naravne in funkcionalne prehranske vlaknine*

Naravne prehranske vlaknine predstavljajo neprebavljivi ogljikovi hidrati in lignin, ki se nahajajo v rastlinski hrani. K funkcionalnim prehranskim vlakninam štejemo izolirane naravne ali sintezne vlaknine, ki imajo dokazan pozitiven vpliv na zdravje človeka. K funkcionalnim prehranskim vlakninam poleg rastlinskih vlaknin spadajo tudi hitin, psilium, dekstrini in druge sintezne vlaknine (5,6).

1.2.2. Pomen v prehrani

Uživanje zadostnih količin prehranskih vlaknin ima pozitivne učinke na človekovo zdravje. Vpliva na prehod blata skozi črevesje, zmanjša se tveganje za nastanek nekaterih vrst raka, srčno-žilnih bolezni, debelosti in diabetesa. Količina zaužitih vlaknin naj bi bila pri odraslih vsaj 30 g na dan. Vlaknine povečajo volumen blata preko vezave vode v črevesju (predvsem netopne vlaknine), poleg tega pa fermentirajoče vlaknine povzročijo povečanje količine bakterijske biomase. S tem se zmanjša čas zadrževanja blata v črevesju in stik črevesne sluznice z mutageni in dušikovimi spojinami, ki nastanejo predvsem pri mesni prehrani. Kratkoverižne maščobne kisline, produkt fermentacije vlaknin (npr.

butirat), znižajo pH v debelem črevesju, s tem pa se zmanjša rast in razmnoževanje patogenih bakterij, poleg tega pa se butirat porabi kot vir energije za kolonocite. Vse to ugodno deluje na preprečevanje nastanka raka debelega črevesja. Hrana bogata z vlakninami (sadje, zelenjava) vsebuje tudi veliko drugih mikrohranil, vitaminov, antioksidantov, ki še dodatno prispevajo k varovanju zdravja. Vplivajo tudi na vnos energije v telo. Hrana, bogata s prehranskimi vlakninami, ima nizko energijsko vrednost, poleg tega pa v želodcu viskozne vlaknine povečajo viskoznost želodčne vsebine in s tem povzročijo občutek sitosti. Zmanjša se tudi hitrost praznjenja želodca, kar podaljša občutek sitosti, topne vlaknine pa v tankem črevesju zmanjšajo absorpcijo hranljivih snovi. S podaljševanjem občutka sitosti, manjšo energijsko vrednostjo hrane bogate z vlakninami in z zmanjševanjem absorpcije nekaterih hranil vlaknine vplivajo na zniževanje telesne mase. Viskozne prehranske vlaknine vplivajo tudi na količino holesterola v krvi, vežejo namreč žolčne kisline, kar povzroči, da jetra več holesterola pretvorijo v žolčne kisline, da zagotovijo zadostno količino le-teh. Pride tudi do manjše absorpcije maščob, zaradi zmanjšanja delovanja lipaz, ter ogljikovih hidratov – počasnejše praznjenje želodca vpliva na počasnejšo absorpcijo glukoze, kar posledično vodi do večje učinkovitosti inzulina. Skupek vseh pozitivnih vplivov prehranske vlaknine vodi v zmanjšano tveganje za srčno-žilne bolezni in diabetes tipa II (5,6,7).

1.3. Pektin

1.3.1. Funkcija v celici, struktura in biosinteza

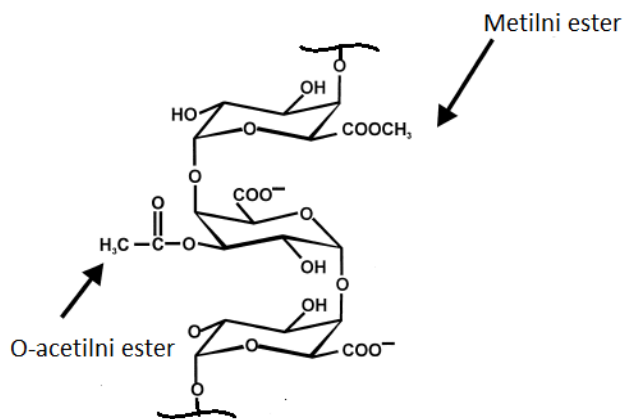
Pektin je kompleksen strukturni polisaharid, sestavina celičnih sten višje razvitih rastlin. V velikih količinah se nahaja v celičnih stenah, ki obdajajo razvijajoče celice in deleče celice, v celičnih stenah celic, ki sestavljajo mehke dele rastlin in v osrednji lameli (8).

Kompleksna sestava, sinteza in velika količina genov, ki kodirajo nastanek pektina, kaže na to, da ima pektin pomembno vlogo v rastlini. Ima vlogo v rasti in razvoju rastline - pri tvorbi novih organov poskrbi za fuzijo med celicami s sodelovanjem pri tvorbi mostu med celicami, celični obrambi, strukturi celične stene, signaliziranju, celični poroznosti, vezavi ionov, rastnih dejavnikov in encimov, razvoju cvetnega prahu, hidrataciji semena in zorenju sadja (8, 9).

Ko govorimo o pektinu, ne govorimo o kemijsko enotni strukturi, ampak govorimo o družini polisaharidov. Gre za pretežno linearen polisaharid, ki je v veliki večini sestavljen iz kovalentno povezanih galakturonskih kislin. Pektine delimo na homogalakturonane, ramnogalakturonane I, ramnogalakturonane II in ostale substituirane homogalakturonane, ki pa so z osnovnim skeletom povezani med sabo. Pektin se povezuje tudi z drugimi komponentami celične stene (8).

→ *Homogalakturonan (HG)*

Je najbolj zastopan pektin v celicah, saj predstavlja približno 65% pektina v celici. Je strukturno najpreprostejši pektin. Homogalakturonan je homopolimer, v celoti sestavljen iz galakturonskih kislin, ki so med seboj povezane z α -1,4-glikozidnimi vezmi. Na mestu 6 je pektin večinoma zaestren z metanolom, na mestih 2 ali 3 pa lahko pride do O-acetilacije, struktura je predstavljena na sliki 2. Lahko pride tudi do navzkrižnega zaestrenja HG z estri, katerih struktura še ni poznana. HG je sestavljen iz približno 100 enot galakturonske kisline.



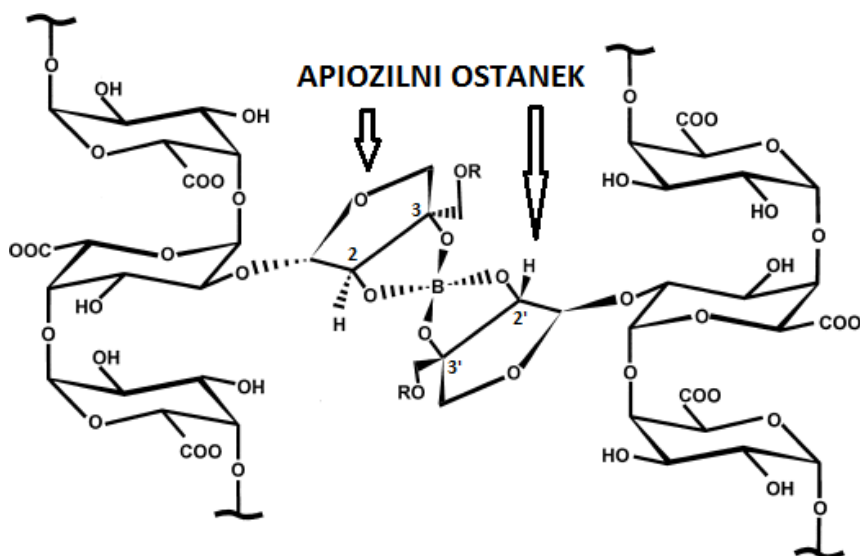
Slika 2: Struktura homogalakturonana (prirejeno po 9)

→ *Ramnogalakturonan I (RG I)*

Predstavlja 20-35% pektina v celici. Skelet sestavljajo disaharidne enote, sestavljene iz D-galakturonske kisline, ki so z α -1,2-glikozidno vezjo povezane z L-ramnozo, ki je z naslednjo galakturonsko kislino povezana z α -1,4-glikozidno vezjo. Na osnovni skelet so pripeti različni sladkorji, oligosaharidi in razvejani oligosaharidi, katerih vrsta, razvejanost in število so odvisni od razvoja in vrste celice. Vse te različice RG I so najverjetneje povezane z različnimi celičnimi funkcijami. Galakturonska kislina je tako kot pri HG na mestu 2 in/ali 3 lahko acetilirana, na ramnozo pa so v 20-80% vezane stranske verige. Stranske verige so sestavljene iz ene enote, linearne oligosaharida ali razvejanega oligosaharida, ki ga v večini primerov sestavljata L-arabinoza in D-galaktoza. Poleg teh dveh, lahko stranske verige sestavljajo še L-fukoza, D-glukuronoza in 4-O-metiliran D-glukuronozil (8,9).

→ *Ramnogalakturonan II (RG II)*

RG II je najkompleksnejši del in predstavlja približno 10% celotnega pektina v celici. Skelet sestavlja 8 ali več galakturonskih kislin, na katere so pripete stranske verige iz več kot 20 enot, sestavljene iz 12 različnih vrst sladkorjev. V celičnih stenah se RG II pojavlja v dimerni obliki. Polisaharida sta povezana z borat-diolnim estrom preko 2-OH skupine in 3-OH skupine na apiozilnem ostanku (slika 3). Tvorba dimera je zelo pomembna za rast in razvoj rastline, saj že majhne spremembe povzročijo zaostanek v rasti in razvoju.



Slika 3: Borat-diolni ester med dvema enotama RG II (prirejeno po 9)

→ *Ostali substituirani HG*

Druga dva substituirana HG sta ksilogalakturonan (XGA) in apiogalakturonan (AP). XGA je HG, ki ima na mestu 3 pripeto ksilozo, ki ima lahko pripeto še eno ksilozo na mestu 4. XGA ima najverjetneje obrambno vlogo pri napadu patogenov na rastlino, saj je bolj odporen proti razgradnji kot pa navaden HG. AP ima na mestu 2 ali 3 pripeto D-apiofuranozo in se pojavlja v nižje razvitih rastlinah (8).

1.3.2. Stopnja esterifikacije (DE – angl. *degree of esterification*)

Karboksilne in hidroksilne kisline v poligalakturonskem skeletu so lahko delno zaestrene, nevtralizirane z Na^+ , K^+ ali NH_4^+ ioni ali pa proste. Stopnja esterifikacije je definirana kot razmerje med zaestrenimi galakturonskimi kislinami in celokupnimi galakturonskimi kislinami. V celici se pektin sintetizira v visoko zaestreni obliki, pri vgraditvi v celično steno pa pride do delne deesterifikacije. Do tega lahko pride tudi pri ekstrakciji pektina z raztopino kisline. Ločimo visoko zaestren pektin (HM – visoko metkosiliran) z DE od 60-75% in nizko zaestren (LM – nizko metoksiliran) pektin z DE 20-40%. Med LM-pektin štejemo tako demetilirane molekule, kot tudi amidirane molekule pektina. Od DE so odvisne lastnosti pektina. HM-pektin je topen v vroči vodi ter za popolno raztapljanje potrebuje so-topilo, poleg tega pa za tvorbo gela potrebuje ustrezen pH (okrog 3), ustrezno količino raztopljenih snovi, gel pa je termolabilen. LM-pektin ni tako občutljiv na pH, ne potrebuje topljencev za geliranje, vendar pa za geliranje potrebuje kontrolirano koncentracijo dvovalentnih ionov (npr.: Ca^{2+}), saj je način tvorbe gela pri LM-pektinu drugačen kot pri HM-pektinu (10).

Pektin se sintetizira v Golgijevem aparatu, transport do celične stene pa poteka v veziklih. Celotna sintezna pot pektina še ni popolnoma poznana, predvidevajo pa, da jo sestavlja približno 67 encimov (glikoziltransferaze, metiltransferaze, acetiltransferaze). Sinteza poteka v Golgijevem aparatu z membransko vezanimi ali prostimi encimi.

Glikoziltransferaze poskrbijo za prenos sladkornega ostanka na oligo- ali polisaharidni receptor. V celično steno HG vstopi visoko metoksiliran, tam pa z različnimi metilesterazami pride do demetoksilacije. Pri tem pride do spremembe naboja pektina, vezave kationov in ostale dele celične stene, vse to pa je v rastlini povezano z zmanjšanjem intenzitete rasti rastline. Pride tudi do povezave z drugimi HG preko Ca^{2+} ionov, kar prispeva k tvorbi mostov med celicami (8).

1.3.3. Lastnosti

Topnost in stabilnost

Pektin je hidrofilen polimer, topen v vodi. Topnost je odvisna tudi od oblike, v kateri se pektin nahaja, monovalentne soli pektina so bolj topne kot di- ali tri-valentne soli. Pektin v prahu se ob dodatku vode zelo hitro hidratira, tvorijo se kepice pektina, ki imajo znotraj še suh pektin, zunanji ovoj pa je sestavljen iz plasti gela. Take kepice se zelo počasi raztapljajo (10).

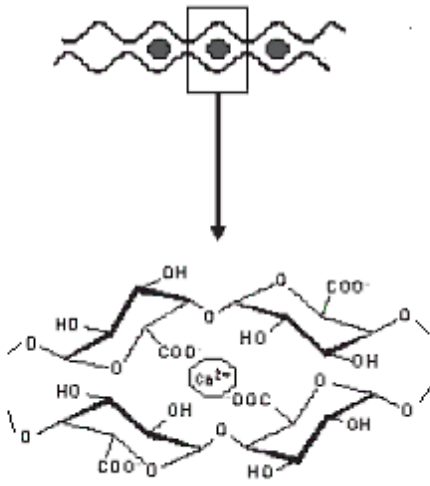
Raztopine pektina izražajo Newtonske lastnosti, z višanjem koncentracije pa ne-Newtonske lastnosti, obnašajo se psevdoplastično. Za Newtonske tekočine je značilno, da se viskoznost kljub povečanju strižnih sil na tekočino ne spreminja, primer je voda. Pri ne-Newtonskih tekočinah pa pride do spremembe viskoznosti, pri povečanju strižnih sil na tekočino, primer je raztopina škroba v vodi, ki pri majhni sili deluje kot tekočina, pri višji sili pa se obnaša kot trdna snov. Topnost, viskoznost in sposobnost tvorbe gela so pri pektinu tesno povezani. Dejavnik, ki poveča trdnost gela bo tudi povečal sposobnost tvorbe gela, zmanjšal topnost in povečal viskoznost, in obratno. To je posledica polianionske oblike polimera. Monovalentne soli pektina so močno ionizirane v raztopini, molekula pektina je v iztegnjeni obliki zaradi odbojnih sil med negativno nabitimi karboksilnimi kislinami. Odbojne sile med karboksilnimi skupinami v molekuli pektina tudi preprečijo njegovo agregacijo, njihovo število pa je odvisno od DE. Poleg tega je od DE odvisna tudi hidratacija polimera, saj so proste skupine veliko bolj hidratirane, kot zaestrene. Količina negativno nabitih skupin je seveda odvisna tudi od pH raztopine, pri nižjem pH je več

karboksilnih skupin neioniziranih, zmanjšajo se odbojne sile, molekule se zvijejo, manjša je hidratacija in večja je agregacija molekul - tvorba gela je otežena. Pektin z višjo DE gelira pri višjem pH, ker ima manjše število prostih karboksilnih kislin (10).

Pektin je občutljiv na spremembe pH, nihanje temperature in aktivnosti vode v raztopini. Največjo stabilnost pektin kaže pri pH okoli 4. Pri nižjih pH prihaja do razgradnje glikozidnih vezi in v manjši meri tudi do deesterifikacije, prav tako pride do deesterifikacije pri visokem, alkalnem pH, ter pri povišanju temperature in takrat lastnosti HM- preidejo v lastnosti LM-pektina (10).

Tvorba gela

Sposobnost tvorbe gela je najpomembnejša lastnost pektina za uporabo v industriji. Pektin tvori gel tako, da pride do povezave med posameznimi deli molekul pektina, tako se tvori tri-dimenzionalna mreža, v katero se ujamejo molekule vode. Pri HM-pektinu do teh povezav pride zaradi hidrofobnih in vodikovih vezi med metoksi skupinami, pri LM-pektinu pa Ca^{2+} ioni, ki jih dodamo v raztopino, povežejo dve karboksilni skupini. HM-pektin gelira v raztopini z nizkim pH (približno 3) in z visoko količino topljenca (navadno 60-65 % (m/m) saharoze) in zaradi te lastnosti jih uporabljamo za izdelavo marmelad, džemov in za stabilizacijo jogurtov, sokov, itd. (11, 12). LM-pektin uporabljamo pri geliranju in stabilizaciji izdelkov z nižjo vsebnostjo sladkorja (dietni izdelki), npr. marmelad in jogurtov (6). Pri nizkem pH karboksilne kisline niso ionizirane, zmanjšajo se odbojne sile med posameznimi molekulami pektina, velika količina saharoze pa pektinu odtegne vodo in s tem zmanjša hidratacijo pektina, zato se molekule pektina začnejo povezovati med sabo in tvorijo gel (10). DE pa je pomembna tudi za hitrost nastanka gela, višja ko je, prej se tvori gel. LM-pektin tvori gel tipa 'škatle za jajca' (slika 4), za tvorbo gela pa so potrebne dokaj visoke količine Ca^{2+} ionov, pri višjih koncentracijah pa pride do precipitacije pektina. Prisotnost sladkorja za tvorbo gela pri LM-pektinu ni potrebna, vendar pa majhna koncentracija sladkorjev poveča trdnost gela. Med procesom obdelave izoliranega pektina za optimizacijo lastnosti pektin lahko amidiramo. Tak amidiran LM-pektin gelira že pri nižji koncentraciji kalcijevih ionov, in je manj občutljiv na višanje koncentracije le-teh (13).



Slika 4: Prikaz tvorbe gela LM-pektina (gel tipa 'škatla za jajca'). Prirejeno po 10.

1.3.4. Pridobivanje

Kljub temu, da se pektin nahaja v celični steni višjih rastlin (sadje in zelenjava v povprečju vsebujeta 5-10% pektina), je njegovo pridobivanje omejeno le na nekaj virov (6, 10).

Lastnosti pektina so namreč različne od rastline do rastline, za geliranje sta pomembni DE in velikost molekule pektina. Za uspešnost in ekonomičnost pridobivanja sta pomembna tudi vsebnost pektina v rastlini ter vir surovine. Pektin za uporabo v komercialne namene v največji meri pridobivamo iz jabolčnih tropin in iz lupin citrusov, oboje pa je stranski produkt pri iztiskanju sokov. Jabolčne tropine vsebujejo 10-15% pektina, medtem ko citrusni olupki vsebujejo 20-30% pektina. Alternativno lahko za pridobivanje pektina uporabljamo tudi ostanke sladkorne pese (ostanek pri proizvodnji sladkorja), sončnične glave (ostanek pri pridelavi sončničnega olja), mangove ostanke in krompirjeve olupke (10, 14). Vendar pa se pektin, pridobljen iz sladkorne pese ali krompirja, po sposobnosti geliranja ne more primerjati s pektinom pridobljenim iz citrusov ali jabolk. Tak pektin ima majhno sposobnost geliranja zaradi velike stopnje acetilacije, nizke molekulske mase in velikega deleža stranskih verig (14).

Načinov pridobivanja pektina je več. Možno ga je pridobiti z ekstrakcijo v mediju s kalcijevimi ioni (pH= 3,0 - 8,0), ter nadaljnjo ekstrakcijo z oksalno kislino, z ekstrakcijo v vroči zmesi z nevtralnimi topilom, s homogenizacijo surovine z vrtničnoslojnim mešalnikom in ekstruzijo, ter ekstrakcijo z vodnim medijem. Viri navajajo tudi ekstrakcijo v alkalnem mediju in encimsko obdelavo surovine. Na tak način dobimo pektin z

različnimi lastnostmi, v nadaljevanju pa je podrobneje opisan način ekstrakcije s kislino (14).

Surovino za pridobivanje pektina v tovarni najprej obdelajo z vročo anorgansko kislino s pH približno 2. Po določenem času (razlika glede na tip surovine, tip pektina, ki ga želijo ekstrahirati in proizvajalca) tekoči ekstrakt pektina ločijo od trdnih ostankov. Ločitev ni tako preprosta, saj jo otežuje viskoznost pektinske zmesi, poleg tega pa je prej trdna snov postala mehka in tekoča zaradi močne kisline. Ekstrakt dehidrirajo v vakuumu, ter ga obdelajo z alkoholom. Nato pektin ločijo od alkoholne zmesi, ga osušijo in zmeljejo, da dobijo prah. Na tak način pridobijo pektin s približno 70% esterifikacijo, za pripravo drugih vrst pektina pa je treba estrske skupine hidrolizirati. Hidrolizo izvajajo s kislino že med prvim korakom, kjer podaljšajo čas ekstrakcije ali pa med alkoholnim čiščenjem, z dodatkom kisline v mešanico alkohola in pektina. Tako dobijo nizko metoksiliran pektin, ob uporabi amoniaka kot hidroliznega sredstva pa dobijo amidiran nizko metoksiliran pektin (10).

1.3.5. Uporaba

Pektin spada med topne prehranske vlaknine, ki imajo ugodne lastnosti na zdravje. Znanstveno je dokazano, da pektin zmanjšuje serumsko koncentracijo holesterola (do 13% v 14 dneh rednega uživanja več od 6 g pektina/dan) in glukoze, ter da ima najverjetneje tudi protirakave učinke (10,11). V prebavnem traktu lahko zaradi svoje strukture veže nekatere snovi in zato je uporaben tudi kot vezalec toksinov, uspešno veže npr. živo srebro in svinec. Sam ali v kombinaciji z drugimi oligosaharidi tudi zmanjša čas trajanja driske pri otrocih in dojenčkih. Zaradi velike kapacitete vezave vode v črevesju daje občutek sitosti ter podaljša čas praznjenja želodca, kar zmanjša pogostnost hranjenja in posledično vpliva na zmanjšanje telesne teže. V črevesju tudi zmanjša motiliteto vsebine črevesja, in ustvari sloj okrog hrane, ki otežuje dostop encimov do hrane, posledično pride do zmanjšane absorpcije hranil in znižanja telesne mase (10).

Zaradi odpornosti proti encimski razgradnji v želodcu in tankem črevesu tablete s pektinskim ogrodjem preizkušajo za tarčno dostavo učinkovin v debelo črevo, za lokalno ali sistemsko zdravljenje. V debelem črevesu je pektin podvržen fermentaciji in s tem razpadu. Za sistemsko dostavo so zanimivi predvsem proteini in peptidi, ki so občutljivi na encimsko razgradnjo v višjih delih prebavil. Pektin v takih pripravkih je pogosto modificiran, da zagotavlja bolj predvidljivo sproščanje ali pa za oblogo jeder tablet za

dostavo v kolon pektinu dodajo še npr. etilcelulozo. S kombinacijami izkoriščamo prednost obeh polimerov. Vendar pa topnost pektina predstavlja velik problem pri razvoju dostavnih sistemov za dostavo v debelo črevo. Pektin se namreč raztopi tudi že v zgornjem delu prebavne poti, kar lahko vodi do npr. razpada dostavnega sistema. Razvoj pektina je zato usmerjen v sintezo novih vrst pektina, ki so bolj vodoodporni, vendar še vedno encimsko občutljivi (15).

Vedno več je raziskav, kjer preiskujejo vpliv pektina na preprečevanje in zdravljenje nekaterih vrst raka. Pektin s spremenjeno strukturo, ki razpade na manjše fragmente, se scono, bogato z galaktani, nespecifično veže na protein galektin-3 in ga tako inhibira. Ker ta protein deluje tako, da promovira celično delitev in metastaziranje, pektin z njegovo inhibicijo deluje protitumorno (16).

2. Namen dela

Pri raziskovalnem delu želimo ugotoviti vpliv dodanega pektina na sproščanje paracetamola iz ogrodnih tablet v mediju s saharozo. Zanima nas primerjava med sproščanjem v medijih s samo saharozo in v medijih s saharozo in pektinom. Obe komponenti sta namreč pogosti sestavini hrane, in zanima nas, kako bi lahko pektin in saharoza v kombinaciji vplivala na sproščanje iz tablet z dodano HPMC. Koncentracija saharoze, ki presega S_{CRIT} , zmanjša nabrekanje in geliranje HPMC in namesto do podaljšanega sproščanja, pride celo do takojšnjega sproščanja (3). Nas pa zanima, kako na sproščanje modelne učinkovine iz tablet s HPMC vpliva dodatek pektina (zniža ali zviša S_{CRIT} saharoze, se sproščanje mogoče upočasni ali pa mogoče sploh ne vpliva na sproščanje). Najprej bomo poskuse izvedli le v saharoznih medijih, kasneje pa bomo dodali še pektin. Mediji bodo poleg saharoze, pektina ali kombinacij obeh, vsebovali še 0,002 M HCl, tako bomo simulirali kislost želodca. Poskuse bomo izvajali 4 ure in bodo potekali na pretočnem sistemu s kroglicami. Poskuse bomo izvedli z dvema serijama tablet, ki bosta vsebovali dve različni vrsti HPMC (Metolose[®] 65SH-4000 in Metolose[®] 90SH-100 000SR). Obe vrsti tablet bomo preizkusili v enakih pogojih ter med sabo primerjali profile sproščanja.

3. Materiali in metode

3.1. Material

3.1.1. Uporabljene kemikalije

- Standard: Paracetamol, minimum 99,0%, Sigma-Aldrich, ZDA
- Mikrokristalna celuloza, Avicel PH 200, FMC, Irska, (Ph.Eur. 7.0)
- Magnezijev stearat, Lex d.o.o., Slovenija
- HPMC, Metolose[®] 65SH-4000 in 90SH-100000SR, Shin-Etsu, Japonska
- Saharoza, Lex d.o.o., Slovenija, (Ph.Eur 7.0)
- Saharoza, D-(+)-Sucrose, Molekula, Nemčija
- Pektin GENU[®] pectin type B rapid set-Z, CP Kelco, Danska
- Klorovodikova kislina Titrisol[®] za pripravo 1M HCl, Merck KGaA, Nemčija

3.1.2. Uporabljene aparature

- Pretočni sistem s kroglicami:
 - Čaša 150 mL
 - Steklene kroglice, premer 1 mm
 - Magnet
 - Silikonske cevke z notranjim premerom 3,2 mm (zunanji premer 6,4 mm), Carl Roth, GmbH, Karlsruhe, Nemčija
 - Grelec in magnetno mešalo IKA[®] RET control/t, Nemčija
 - Črpalka Ismatec BVP, Nemčija
- Analizna tehtnica Mettler Toledo AG245, Schwerzenbach, Švica
- Digitalna tehtnica Exacta 300EB, Tehtnica, Železniki, Slovenija
- Magnetno mešalo, Tehtnica, Rotamix 550 MMH, Slovenija
- Membranski filter za brizgo, Millex[®]-HA 0,45 μ m, Millipore Ireland Ltd, Irska
- UV spektrofotometer Agilent 8453, Agilent Technologies, Nemčija
- Tekočinski kromatograf visoke ločljivosti (HPLC), Agilent Technologies 1100, Kalifornija, ZDA
- Avtomatske pipete Eppendorf Research, različne velikosti (100-1000 μ L, 500-2500 μ L, 1000-5000 μ L), Eppendorf, Nemčija

- Vibracijski mešalnik lab dancer, IKA[®], Nemčija
- Ultrazvočna kadička Sonis 4, Iskra, Kranj, Slovenija
- Tabletirka na udarec Killian SP 300, Killian and co., Nemčija
- pH-meter MA 5750 Iskra, Slovenija

3.2. Metode

3.2.1. Izdelava tablet s podaljšanim sproščanjem

Za poskuse smo izdelali 400 mg tablete s podaljšanim sproščanjem. Izdelali smo dve vrsti tablet, razlika med njima je bila le v vrsti uporabljene HPMC. Tablete so vsebovale 25,0% paracetamola, 49,5% mikrokristalne celuloze, 0,5% magnezijevega stearata in 25,0% HPMC (Metolose[®] 65SH-4000 ali Metolose[®] 90SH-100000 SR). Najprej smo ustrezno količino sestavin natehtali v pateno in zmes narahlo zmešali s pestilom po pravilu rastočih mas. Zmes smo nato kvantitativno prenesli v plastično vrečko. Vrečko smo zaprli tako, da je vsebovala polovico zraka, nato pa smo vrečko narahlo vrteli, dokler zmes ni bila homogena. Ko je bila zmes homogeno premešana (odsotnost grudic, mešanje predpisan čas), smo maso ene tablete natehtali (400 ± 5 mg), ter jo prenesli v matrično vdolbino. Tabletirali smo ročno, lega pečatov je bila: 10,2 mm zgornji pečat in 12,5 mm spodnji pečat. Pri tabletah s HPMC Metolose[®] 65SH-4000 je bila sila stiskanja od 9,5 - 10,5 kN, trdnost tablet pa od 90 - 110 N, pri tabletah s HPMC Metolose[®] 90SH-100000 SR pa je bila sila stiskanja 10,0 - 11,0 kN, trdnost tablet pa 80 - 130 kN.

3.2.2. Priprava medija za sproščanje

Medij za sproščanje je bil sestavljen iz 20 % (vol/vol) 0,01 M HCl in 80 % (vol/vol) vodne raztopine topljenca (saharoza, pektin, saharoza in pektin) v različnih koncentracijah. Zaradi poenostavitve nismo pripravili obeh raztopin posebej in jih potem združili, ampak smo raztopino pripravili v 2 L buči. Zaradi različnih lastnosti raztapljanja saharoze in pektina v vodi smo različne medije pripravili na različen način (opisano v nadaljevanju). Vsakemu na novo pripravljenem mediju smo izmerili pH.

1. Medij brez saharoze ali pektina

Ta medij vsebuje le 20 % (vol/vol) 0,01 M HCl in 80 % (vol/vol) destilirane vode. Ustrezno količino (4 mL) 1,0 M HCl smo odmerili v 2 L bučo, ter do oznake dopolnili z destilirano vodo. S tem medijem smo preverili sproščanje brez prisotnosti saharoze in pektina.

2. Medij s saharozo

Saharosa se v vodi dobro raztaplja, zato smo v 2 L bučo natehtali 300 g, 400 g, 500 g ali 600 g saharoze, dodali destilirano vodo približno do polovice, z avtomatsko pipeto smo odmerili 4 mL 1,0 M HCl ter do oznake dopolnili z destilirano vodo. V bučo smo dodali magnet ter raztopino na magnetnem mešalu mešali čez noč oz. toliko časa, da ni bilo več vidnih kristalov saharoze. Pripravili smo medije z naslednjimi koncentracijami saharoze: 150 g/L, 200 g/L, 250 g/L in 300 g/L.

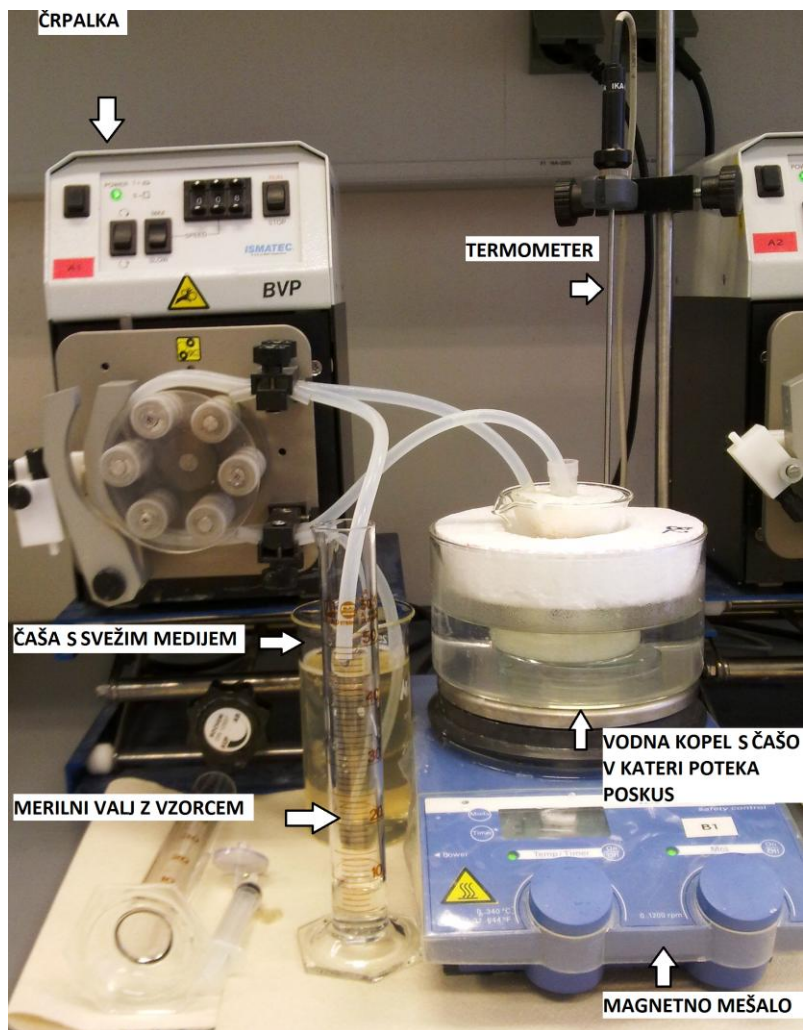
3. Medij s saharozo in pektinom

V suho čašo smo natehtali 2g, 4g ali 10 g pektina, ter ga počasi razpršeno stresli v drugo čašo z destilirano vodo, ki se je že mešala na magnetnem mešalu, tako smo dosegli ustrezno dispergiranost pektina in s tem hitrejšo raztapljanje. Čašo smo sprali z destilirano vodo, da smo zagotovili kvantitativen prenos. Pustili smo mešati čez noč, zjutraj pa smo v 2L bučo natehtali 300g, 400 g, 500g ali 600 g saharoze, kvantitativno smo v bučo prenesli tudi raztopino pektina. Čašo smo večkrat sprali z destilirano vodo, saj je bila raztopina v čaši viskozna in se je lepila na stene čaše. Z avtomatsko pipeto smo dodali 4 mL 1,0M HCl ter dopolnili do oznake. Dodali smo magnet in postavili mešati na magnetno mešalo, dokler se ni raztopila še saharosa. Pripravili smo medije z naslednjimi koncentracijami: 5 g/L pektina, ter medije s 1, 2 ali 5 g/L pektina in s 150, 200, 250 ali 300 g/L saharoze.

3.2.3. Testi sproščanja

Testi sproščanja so potekali na pretočnem sistemu s kroglicami. Poskus je potekal v čaši, v kateri je poleg preiskovane tablete tudi 40 mL medija, 25 g steklenih kroglic ter magnet. Magnet z mešanjem kroglic ponazarja značilno gibanje želodca. Čaša je bila v vodni kopeli, ki je zagotavljala stalno temperaturo. Poskuse smo izvajali pri temperaturi 36,5°C. Čašo smo na vrhu pokrili, da smo preprečili izhlapevanje vode. V čašo sta bili speljani dve cevki, po eni cevki smo črpali medij z raztopljenim vzorcem s pretokom 2 mL/min v merilni valj, po drugi cevki pa smo z enakim pretokom v čašo črpal svež medij.

Poskusi so trajali 4 ure, vzorčili smo na 20 minut, in sicer je vzorec predstavljala raztopina, ki se je natekla v merilni valj v 20 minutah (40 mL). Vsebino merilnega valja smo nato prelili v čašo, da se je vsebina premešala in smo zagotovili ustrezno homogenost vzorca. Iz čaše smo z brizgo odvzeli vzorec, ki smo ga prefiltrirali v ustrezno označeno epruveto. Vzorce smo analizirali spektrofotometrično.



Slika 5: Fotografija pretočnega sistema s kroglicami, na katerem smo izvajali testiranje sproščanja

Pregled izvedenih poskusov je predstavljen v preglednici II. V preglednici je navedena tudi vrsta saharoze uporabljene v poskusu. Razlog za spremembo je bil v zamenjavi dobavitelja.

Preglednica II: Pregled izvedenih poskusov.

VRSTA SAHAROZE	KONCENTRACIJA SAHAROZE	KONCENTRACIJA PEKTINA
-	0 g/L	0 g/L
Molekula	150 g/L	0 g/L
Molekula	150 g/L	5 g/L
Lex	200 g/L	0 g/L
Lex	200 g/L	1 g/L
Molekula	200 g/L	2 g/L
Molekula	200 g/L	5 g/L
Lex	250 g/L	0 g/L
Molekula	250 g/L	1 g/L
Molekula	250 g/L	2 g/L
Molekula	250 g/L	5 g/L
Lex, Molekula	300 g/L	0 g/L
Molekula	300 g/L	5 g/L
-	0 g/L	5 g/L

3.2.4. Analiza vzorcev

Prefiltrirane in ustrezno redčene vzorce smo analizirali z UV-VIS spektrofotometrom. Koncentracijo paracetamola smo merili pri njegovem absorpcijskem maksimumu - valovni dolžini 243 nm. Pred meritvijo smo izbrisali ozadje z medijem, ki je bil enak tistemu v vzorcu in je bil redčen enako kot vzorci. Vzorce smo redčili z medijem oziroma pri visokih koncentracijah topljencev (kombinirani mediji s koncentracijami pektina 1, 2 in 5 g/L) tudi z vodo. Pri vsakem redčenju smo vzorec premešali na vibracijskem mešalniku, da smo dosegli homogenost vzorca. Vzorce smo redčili 10-krat, oziroma 50-krat, da je bila izmerjena vrednost znotraj linearnega območja absorbance, ki smo ga dobili z umeritveno premico.

3.2.5. Določitev enačb umeritvene premice

Za vsak medij smo pripravili novo umeritveno premico. Umeritveno premico smo naredili tako, da smo najprej pripravili tri osnovne raztopine A, B in C s koncentracijo paracetamola približno 100 mg/L. Za osnovne raztopine smo najprej trikrat natehtali približno 10 mg paracetamola, natančno vrednost pa smo si zapisali. Paracetamol smo dali v 100 mL bučke in do oznake dopolnili z medijem, za katerega smo delali umeritveno premico. Bučke smo dali za 15 min v ultrazvočno kadičko, da se je paracetamol zagotovo ves raztopil. Z redčenjem smo nato napravili raztopine v koncentracijskem območju 1,0 – 30,0 mg/L, pri tem pa smo izmenično jemali osnovne raztopine. Izmerili smo absorbance

dobljenih raztopin ter vrednosti nanesti na ordinatno os, na abscisno os pa smo nanesti točne koncentracije. Skozi točke smo s pomočjo linearne regresije potegnili premico – umeritveno premico, izračunali smo enačbo premice ter Pearsonov koeficient korelacije. Dobili smo linearno enačbo oblike (enačba 1)

$$y = kx + n \quad (\text{enačba 1}),$$

kjer y predstavlja absorbanco (A), x pa koncentracijo (c) paracetamola v preiskovani raztopini, k predstavlja naklon premice, n pa odsek na ordinatni osi. V enačbo umeritvene premice smo nato vstavili absorbance, izmerjene pri vzorcih, ter izračunali koncentracijo paracetamola v vzorcih.

3.2.6. HPLC (High-performance liquid chromatography)

Za primerjavo metod analize smo nekatere vzorce analizirali tudi s HPLC z UV VIS-detektorjem, valovna dolžina detekcije je bila 243 nm. Uporabili smo kolono Onyx Monolithic C18, 50×4,6 mm, Merck, Nemčija. Mobilna faza je bila sestavljena iz 92% vodne faze, ki jo je predstavljal 50 mM fosfatni pufer in iz 8% organske faze – acetonitrila. Volumen injiciranja je bil 5 μ L, pretok mobilne faze 2 mL/min, analiza pa je potekala pri temperaturi 35 °C. Retencijski čas paracetamola pri tej metodi je bil 0,8 min.

3.2.7. Izračun profila sproščanja

Izračun iz rezultatov spektrofotometrične analize

Koncentracijo paracetamola v vzorcih smo izračunali s pomočjo umeritvene premice, pri tem smo upoštevali redčenje vzorca. S pomočjo volumna vzorca smo izračunali maso paracetamola v vzorcu, s seštevanjem teh mas pa smo izračunali maso sproščenega paracetamola iz tablete v času t .

Koncentracijo paracetamola v vzorcu smo izračunali po enačbi 2.

$$c = ((A + n) / k) \cdot b \quad (\text{enačba 2})$$

Iz dobljene koncentracije smo izračunali maso v vzorcu po enačbi 3.

$$m = c \cdot v \quad (\text{enačba 3})$$

Kumulativno vsoto sproščenega paracetamola smo izračunali s seštevanjem posameznih mas paracetamola v vzorcih (enačba 4).

$$M_t = m_1 + m_2 + \dots + m_t \quad (\text{enačba 4})$$

Odstotek sproščene paracetamola smo izračunali po enačbi 5.

$$\% = (M_t / D) \cdot 100 \quad (\text{enačba 5})$$

Pomen znakov, uporabljenih v enačbah 2-5, je predstavljen v preglednici III.

Preglednica III : Pomen znakov uporabljenih v enačbah 2-5 za izračun profila sproščanja iz rezultatov spektrofotometrične analize

Znak	Pomen
c	koncentracija paracetamola v vzorcu v času t
A	absorbanca vzorca
n	odsek na ordinati enačbe umeritvene premce
k	naklon umeritvene premice
b	redčenje vzorca
m	masa paracetamola v vzorcu ob času t
M_t	kumulativna vsota mas paracetamola do časa t
t	število vzorcev
D	masa paracetamola v tableti

Izračun iz rezultatov HPLC analize

Koncentracijo paracetamola v vzorcih smo izračunali s pomočjo standardne raztopine paracetamola. Isto standardno raztopino smo analizirali večkrat, iz dobljenih odzivov (površin pod krivuljo) smo izračunali povprečno vrednost odziva (enačba 6).

$$A_{st} = \frac{A_1 + A_2 + \dots + A_n}{n} \quad (\text{enačba 6})$$

Iz odzivov vzorcev, koncentracije paracetamola v standardu in izračunanega povprečnega odziva standarda smo prek križnega računa dobili koncentracijo paracetamola v vzorcu (enačba 7).

$$c = \frac{A_{vz} \cdot c_{st}}{A_{st}} \quad (\text{enačba 7})$$

Maso paracetamola v vzorcu smo izračunali po enačbi 3, kumulativno vsoto mas po enačbi 4 in odstotek sproščene paracetamola po enačbi 5. Pomen znakov, uporabljenih v enačbah 6 in 7, je predstavljen v preglednici IV.

Preglednica IV: Pomen znakov uporabljenih v enačbah 6 in 7 za izračun profila sproščanja iz rezultatov HPLC analize

Znak	Pomen
A_{st}	povprečni odziv standardne raztopine paracetamola
A_1, A_2, A_n	odzivi standardne raztopine paracetamola pri večkratni analizi
n	število analiz standardne raztopine paracetamola
c	koncentracija paracetamola v vzorcu
A_{vz}	odziv vzorca
C_{st}	koncentracija paracetamola v standardni raztopini

3.2.8. Statistična analiza

Iz dobljenih rezultatov smo izračunali povprečno vrednost paralelk za določen medij, poleg povprečne vrednosti pa smo izračunali tudi standardno deviacijo in koeficient variacije profilov sproščanja. Statistično obdelavo rezultatov smo naredili s programom Microsoft Office Excel.

4. Rezultati

4.1. Določitev enačb umeritvenih premic

Iz izmerjenih absorbanc standardnih raztopin paracetamola, ki smo jih izmerili pri valovni dolžini 243 nm, smo s pomočjo linearne regresije določili enačbe umeritvenih premic. Za vsak uporabljen medij in redčenje smo naredili novo umeritveno premico. V preglednici VIII lahko vidimo uporabljene umeritvene premice, podani pa so tudi Pearsonovi koeficienti (R^2), ki so merilo dejanske linearnosti dobljenih točk v koordinatnem sistemu. A v enačbi predstavlja absorbanco, c pa koncentracijo paracetamola v mg/L.

Preglednica VIII: Enačbe umeritvenih premic.

MEDIJ	REDČENJE	ENAČBA UMERITVENE PREMICE	R^2
HCl		$A=0,0632c+0,00434$	0,9992
HCl + 150 g/L saharoza		$A=0,0619c+0,0119$	0,9997
HCl + 150 g/L saharoza + 5 g/L pektin	10 ×	$A=0,0642c-0,0231$	0,9990
	50 ×	$A=0,0596c-0,0113$	0,9990
HCl + 200 g/L saharoza		$A=0,0637c-0,0024$	0,9992
HCl + 200 g/L saharoza + 1 g/L pektin		$A=0,0629c+0,0076$	0,9990
	10 ×	$A=0,0627c+0,0061$	0,9998
	50 ×	$A=0,0654c-0,0030$	0,9992
HCl + 200 g/L saharoza + 2 g/L pektin		$A=0,0602c+0,0040$	0,9996
	10 ×	$A=0,0576c-0,0354$	0,9990
	50 ×	$A=0,0587c+0,0189$	0,9990
HCl + 200 g/L saharoza + 5 g/L pektin	10 ×	$A=0,0444c+0,0131$	0,9990
	50 ×	$A=0,0612c-0,0204$	0,9991
HCl + 250 g/L saharoza		$A=0,0635c-0,0036$	0,9990
HCl + 250 g/L saharoza + 1 g/L pektin		$A=0,0664c+0,0036$	0,9991
	10 ×	$A=0,0612c-0,0104$	0,9997
	50 ×	$A=0,0622c-0,0046$	0,9996
HCl + 250 g/L saharoza + 2 g/L pektin		$A=0,0631c+0,0113$	0,9995
	10 ×	$A=0,0550c-0,0014$	0,9997
	50 ×	$A=0,0517c-0,0012$	0,9996
HCl + 250 g/L saharoza + 5 g/L pektin		$A=0,0567c+0,0141$	0,9991
	10 ×	$A=0,0610c-0,0170$	0,9992
	50 ×	$A=0,0535c-0,0011$	0,9992

HCl + 300 g/L saharoza		A=0,0642c-0,0322	0,9993
HCl + 300 g/L saharoza + 5 g/L pektin		A=0,0670c-0,0148	0,9992
	10 ×	A=0,0452c-0,0123	0,9990
	50 ×	A=0,0518c-0,0066	0,9997
HCl + 5 g/L pektin		A=0,0617c-0,0852	0,9990

4.2. Optimizacija postopkov

4.2.1. Profili sproščanja v medijih s saharozo različnih dobaviteljev

Ker smo bili zaradi težav pri dobavi prisiljeni zamenjati dobavitelja in sta se saharozi, kljub enakemu analitskemu izvidu, razlikovali že na pogled (ena je bila v kristalni obliki – Lex d.o.o., druga pa zmleta - Molekula), smo preverili, ali se profili sproščanja razlikujejo glede na uporabljeno saharozo v mediju. Enak poskus (pri enaki koncentraciji saharoze) smo naredili s saharozama obeh dobaviteljev v mediju s koncentracijo saharoze 300 g/L. Rezultati so podani v preglednici V.

Preglednica V: Rezultati sproščanja paracetamola iz tablet s HPMC Metolose® 90SH-100 000SR v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo 300 g/L saharoze obeh dobaviteljev

Vrsta saharoze v mediju (dobavitelj): Lex d.o.o., Slovenija						
	% sproščena paracetamola					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	22,112	21,956	26,006	23,358	2,295	9,823
40	66,997	63,570	67,215	65,927	2,044	3,101
60	84,187	81,850	83,720	83,252	1,236	1,485
80	91,283	90,442	89,850	90,525	0,720	0,795
100	93,855	93,750	92,074	93,226	1,000	1,072
120	94,969	95,144	92,957	94,357	1,215	1,288
140	95,211	95,641	93,286	94,713	1,254	1,324
160	95,304	95,777	93,414	94,831	1,251	1,319
180	95,304	95,843	93,430	94,859	1,267	1,335
200	95,304	95,843	93,457	94,868	1,251	1,319
220	95,304	95,843	93,457	94,868	1,251	1,319
240	95,304	95,843	93,457	94,868	1,251	1,319
Vrsta saharoze v mediju (dobavitelj): Molekula, Nemčija						
	% sproščena paracetamola					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	8,779	25,040	27,657	20,492	10,228	49,912
40	39,364	63,196	67,090	56,550	15,010	26,543

60	63,408	78,829	82,598	74,945	10,167	13,567
80	75,832	85,583	87,421	82,945	6,228	7,509
100	80,903	87,882	89,226	86,004	4,468	5,195
120	84,186	89,320	89,717	87,741	3,085	3,516
140	86,103	89,860	90,024	88,662	2,218	2,501
160	87,292	90,021	90,111	89,141	1,602	1,797
180	88,101	90,151	90,126	89,459	1,177	1,315
200	88,705	90,208	90,126	89,680	0,845	0,942
220	89,088	90,220	90,126	89,811	0,628	0,699
240	89,310	90,241	90,126	89,892	0,508	0,565

4.2.2. Profili sproščanja dobljeni z različnima analiznima metodama

Za glavno analizno metodo smo določili UV-VIS spektrofotometrijo, vendar pa smo želeli videti še primerjavo z drugo metodo, da bi potrdili točnost in natančnost naše metode. Za drugo metodo smo si izbrali HPLC in poskuse izvedli v mediju s HCl in koncentracijo pektina 5 g/L z obema vrstama tablet. Poskuse smo izvedli pod enakimi pogoji kot ostale, le vsak vzorec smo analizirali z vsako od prej navedenih metod (UV-VIS spektrofotometrija, HPLC). Rezultati so podani v preglednicah VI in VII.

Preglednica VI: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo pektina 5 g/L iz tablet s HPMC vrste Metolose® 65SH-4000 dobljeni z obema analiznima metodama

<u>HPLC</u>	<i>% sproščenege paracetamola</i>				
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	3,775	3,993	3,884	0,154	3,971
40	9,757	10,541	10,149	0,555	5,465
60	15,34	16,506	15,923	0,825	5,178
80	19,635	20,516	20,075	0,623	3,103
100	23,410	24,224	23,817	0,575	2,416
120	26,942	27,710	27,326	0,543	1,986
140	30,109	31,132	30,621	0,724	2,363
160	33,146	34,312	33,729	0,825	2,445
180	35,704	36,896	36,300	0,842	2,321
200	38,234	39,467	38,850	0,872	2,245
220	40,553	41,740	41,147	0,839	2,040
240	42,512	43,947	43,230	1,014	2,347
<u>UV-VIS</u>	<i>% sproščenege paracetamola</i>				
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

20	3,930	4,047	3,988	0,083	2,069
40	9,922	10,434	10,178	0,362	3,558
60	16,043	16,224	16,134	0,128	0,796
80	21,321	20,945	21,133	0,266	1,258
100	25,796	24,784	25,290	0,715	2,828
120	29,810	28,604	29,207	0,853	2,919
140	33,468	32,204	32,836	0,894	2,722
160	36,795	35,822	36,309	0,688	1,894
180	40,044	39,000	39,522	0,738	1,867
200	42,989	41,958	42,473	0,729	1,716
220	45,641	44,682	45,162	0,678	1,502
240	48,223	47,328	47,776	0,633	1,324

Preglednica VII: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo pektina 5 g/L iz tablet s HPMC vrste Metolose® 90SH-100 000, dobljeni z obema analiznima metodama

<u>HPLC</u>	% sproščenege paracetamola				
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	3,742	3,175	3,458	0,400	11,578
40	8,603	8,796	8,700	0,136	1,568
60	13,825	13,976	13,901	0,107	0,768
80	17,995	18,377	18,186	0,270	1,484
100	21,904	22,437	22,171	0,377	1,699
120	25,268	25,717	25,493	0,317	1,245
140	28,234	28,746	28,490	0,362	1,270
160	31,38	31,514	31,447	0,095	0,302
180	33,892	34,215	34,054	0,228	0,671
200	36,359	36,506	36,432	0,104	0,285
220	38,876	38,905	38,890	0,021	0,053
240	41,216	41,061	41,139	0,110	0,267
<u>UV-VIS</u>	% sproščenege paracetamola				
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	4,118	3,599	3,859	0,367	9,504
40	9,747	8,852	9,299	0,633	6,803
60	15,090	14,124	14,607	0,683	4,676
80	19,811	18,760	19,286	0,743	3,851
100	23,825	22,548	23,186	0,903	3,895
120	27,599	25,629	26,614	1,394	5,236

140	30,622	28,729	29,675	1,339	4,511
160	33,897	31,764	32,830	1,508	4,594
180	36,835	34,689	35,762	1,517	4,243
200	39,507	37,329	38,418	1,540	4,009
220	42,244	39,885	41,065	1,669	4,063
240	44,865	42,246	43,555	1,852	4,252

4.3. Profili sproščanja

V spodnjih preglednicah (preglednice IX-XXII) so predstavljeni deleži sproščenega paracetamola iz tablet, narejenih iz dveh vrst HPMC (Metolose® 65SH-4000 in Metolose® 90SH-100 000 SR) v različnih medijih. Poleg deleža sproščenega paracetamola za vse tri paralelke so v preglednicah podani tudi povprečna vrednost deleža sproščenega paracetamola, standardna deviacija (SD) in koeficient variacije (KV). Vsi podatki v preglednicah, razen časa, so izraženi v odstotkih (%).

Najprej smo naredili poskuse brez saharoze ali pektina (preglednica IX), kasneje le s saharozo (preglednice X-XIII) in le s pektinom (preglednica XIV) ter na koncu s saharozo in pektinom (preglednice XV-XXII).

Preglednica IX: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl

Vrsta HPMC v tabletih: Metolose® 65SH-4000						
	<i>% sproščenega paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	4,707	4,757	4,732	4,732	0,025	0,531
40	12,591	11,671	11,660	11,974	0,534	4,461
60	19,171	17,104	17,032	17,769	1,215	6,836
80	24,517	21,794	21,953	22,755	1,528	6,715
100	28,977	25,644	26,413	27,011	1,745	6,460
120	32,778	29,107	30,576	30,820	1,848	5,995
140	35,846	32,168	34,485	34,166	1,859	5,442
160	38,520	35,014	38,597	37,377	2,047	5,476
180	40,803	37,510	42,354	40,222	2,473	6,150
200	42,991	39,865	46,011	42,956	3,073	7,154
220	44,742	41,945	49,452	45,380	3,794	8,361
240	46,486	44,099	52,988	47,858	4,600	9,613
Vrsta HPMC v tabletih: Metolose® 90SH-100 000 SR						
	<i>% sproščenega paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	3,283	3,029	3,624	3,312	0,299	9,014
40	8,363	8,306	7,192	7,954	0,660	8,301
60	12,804	12,728	11,658	12,396	0,641	5,168
80	16,409	16,422	15,333	16,055	0,625	3,892
100	19,445	19,622	18,698	19,255	0,490	2,547
120	22,101	22,417	21,721	22,080	0,349	1,579
140	24,529	24,820	24,289	24,546	0,266	1,085

160	26,717	27,103	26,533	26,784	0,291	1,086
180	28,708	29,076	28,797	28,860	0,192	0,664
200	30,516	30,922	30,858	30,765	0,218	0,708
220	32,217	32,666	32,711	32,531	0,273	0,840
240	33,905	34,234	34,677	34,272	0,387	1,131

Preglednica X: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo saharoze 200 g/L

Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 65SH-4000						
	<i>% sproščene paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	29,965	18,725	35,334	28,008	8,476	30,261
40	63,573	50,763	63,730	59,355	7,442	12,537
60	77,495	69,017	73,601	73,371	4,243	5,783
80	83,724	79,925	78,041	80,563	2,895	3,593
100	86,508	85,415	79,525	83,816	3,756	4,481
120	87,421	88,784	80,096	85,433	4,673	5,469
140	87,832	90,657	80,313	86,267	5,347	6,198
160	88,029	91,702	80,418	86,716	5,756	6,637
180	88,080	92,353	80,451	86,961	6,029	6,933
200	88,098	92,767	80,463	87,109	6,211	7,130
220	88,104	93,032	80,509	87,215	6,309	7,233
240	88,113	93,187	80,510	87,270	6,380	7,311
Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 90SH-100 000 SR						
	<i>% sproščene paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	4,220	3,843	4,942	4,335	0,558	12,882
40	10,323	8,408	11,140	9,957	1,402	14,082
60	16,082	13,099	16,521	15,234	1,862	12,223
80	20,354	17,177	21,604	19,712	2,282	11,579
100	24,030	20,652	25,211	23,298	2,366	10,156
120	27,260	23,373	28,171	26,268	2,548	9,700
140	30,120	25,831	30,641	28,864	2,640	9,145
160	32,609	28,157	32,986	31,251	2,686	8,594
180	34,904	30,138	35,280	33,441	2,867	8,572
200	37,047	32,036	37,807	35,630	3,136	8,800
220	39,078	33,791	39,781	37,550	3,275	8,721
240	41,134	35,520	41,574	39,409	3,375	8,564

Preglednica XI: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo saharoze 250 g/L

Vrsta HPMC v tabletih: Metolose® 65SH-4000						
	<i>% sproščenege paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	42,917	48,176	48,050	46,381	3,001	6,470
40	71,030	78,967	77,833	75,943	4,293	5,653
60	81,128	89,474	91,206	87,269	5,389	6,175
80	85,556	93,115	95,792	91,488	5,309	5,803
100	87,055	94,750	97,660	93,155	5,480	5,882
120	87,670	95,381	98,225	93,758	5,461	5,825
140	87,907	95,616	98,409	93,977	5,439	5,788
160	87,983	95,696	98,474	94,051	5,435	5,779
180	88,013	95,721	98,498	94,077	5,432	5,774
200	88,024	95,732	98,505	94,087	5,431	5,772
220	88,040	95,735	98,507	94,094	5,423	5,764
240	88,043	95,739	98,510	94,097	5,423	5,763
Vrsta HPMC v tabletih: Metolose® 90SH-100 000 SR						
	<i>% sproščenege paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	4,806	11,483	5,562	7,284	3,656	50,198
40	11,187	28,069	12,227	17,161	9,461	55,130
60	17,254	54,765	18,923	30,314	21,192	69,909
80	22,910	71,099	25,461	39,824	27,115	68,089
100	28,913	81,323	31,465	47,234	29,550	62,561
120	34,633	87,609	37,720	53,321	29,735	55,766
140	39,250	91,408	44,195	58,285	28,792	49,399
160	47,708	94,240	51,928	64,625	25,734	39,820
180	56,637	95,907	59,617	70,720	21,863	30,914
200	64,515	97,089	65,939	75,848	18,409	24,271
220	71,821	97,810	71,039	80,223	15,236	18,992
240	77,475	98,387	75,049	83,637	12,832	15,342

Preglednica XII: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo saharoze 150 g/L

Vrsta HPMC v tabletih: Metolose® 65SH-4000						
	<i>% sproščenege paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	9,244	8,404	6,950	8,199	1,161	14,155
40	20,847	18,391	23,528	20,922	2,569	12,281
60	29,250	32,288	45,438	35,659	8,604	24,129
80	41,338	51,580	59,431	50,783	9,073	17,866

100	57,787	64,895	68,869	63,850	5,615	8,793
120	68,097	73,525	75,302	72,308	3,754	5,191
140	75,952	78,763	79,183	77,966	1,757	2,253
160	83,192	82,514	81,964	82,557	0,615	0,745
180	86,620	85,457	84,763	85,614	0,938	1,096
200	89,581	87,739	87,000	88,106	1,329	1,509
220	91,526	89,497	88,713	89,912	1,452	1,615
240	92,852	90,920	90,051	91,274	1,434	1,571

Preglednica XIII: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo saharoze 300 g/L

Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 90SH-100 000 SR						
	% sproščeneqa paracetamola					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	22,112	21,956	26,006	23,358	2,295	9,823
40	66,997	63,570	67,215	65,927	2,044	3,101
60	84,187	81,850	83,720	83,252	1,236	1,485
80	91,283	90,442	89,850	90,525	0,720	0,795
100	93,855	93,750	92,074	93,226	1,000	1,072
120	94,969	95,144	92,957	94,357	1,215	1,288
140	95,211	95,641	93,286	94,713	1,254	1,324
160	95,304	95,777	93,414	94,831	1,251	1,319
180	95,304	95,843	93,430	94,859	1,267	1,335
200	95,304	95,843	93,457	94,868	1,251	1,319
220	95,304	95,843	93,457	94,868	1,251	1,319
240	95,304	95,843	93,457	94,868	1,251	1,319

Preglednica XIV: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo pektina 5 g/L

Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 65SH-4000						
	% sproščeneqa paracetamola					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	3,930	4,047	4,112	4,029	0,092	2,283
40	9,922	10,434	10,226	10,194	0,258	2,527
60	16,043	16,224	15,848	16,038	0,188	1,172
80	21,321	20,945	20,602	20,956	0,360	1,718
100	25,796	24,784	24,622	25,068	0,636	2,537
120	29,810	28,604	28,358	28,924	0,777	2,687
140	33,468	32,204	31,477	32,383	1,007	3,110
160	36,795	35,822	34,772	35,796	1,012	2,826
180	40,044	39,000	37,717	38,920	1,166	2,995
200	42,989	41,958	40,609	41,852	1,193	2,851

220	45,641	44,682	43,035	44,453	1,318	2,965	
240	48,223	47,328	45,714	47,088	1,272	2,700	
Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 90SH-100 000 SR							
	<i>% sproščenege paracetamola</i>						
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
20	4,118	3,599	3,833	3,850	0,260	6,747	
40	9,747	8,852	10,349	9,649	0,754	7,809	
60	15,090	14,124	15,822	15,012	0,852	5,675	
80	19,811	18,760	20,342	19,638	0,805	4,099	
100	23,825	22,548	24,305	23,559	0,908	3,855	
120	27,599	25,629	27,839	27,022	1,213	4,489	
140	30,622	28,729	30,991	30,114	1,214	4,031	
160	33,897	31,764	34,228	33,296	1,337	4,016	
180	36,835	34,689	37,205	36,243	1,358	3,748	
200	39,507	37,329	40,071	38,969	1,448	3,716	
220	42,244	39,885	42,776	41,635	1,539	3,696	
240	44,865	42,246	45,234	44,115	1,629	3,693	

Preglednica XV: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl, koncentracijo saharoze 200 g/L in koncentracijo pektina 1 g/L

Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 65SH-4000							
	<i>% sproščenege paracetamola</i>						
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
20	36,514	5,963	12,569	18,349	16,074	87,606	
40	59,205	38,257	51,865	49,776	10,629	21,354	
60	68,012	62,691	71,865	67,523	4,607	6,822	
80	70,841	74,985	84,281	76,702	6,883	8,973	
100	71,977	81,722	90,603	81,434	9,316	11,440	
120	72,354	85,053	93,805	83,737	10,786	12,880	
140	72,391	86,540	95,520	84,817	11,660	13,747	
160	72,396	87,370	96,540	85,436	12,188	14,265	
180	72,401	87,753	97,069	85,741	12,457	14,528	
200	72,406	87,854	97,221	85,827	12,531	14,600	
220	72,411	87,869	97,233	85,838	12,535	14,603	
240	72,416	87,874	97,233	85,841	12,533	14,600	
Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 90SH-100 000 SR							
	<i>% sproščenege paracetamola</i>						
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
20	3,089	8,746	2,538	4,791	3,436	71,724	
40	8,012	18,104	6,086	10,734	6,455	60,136	

60	11,713	24,954	10,917	15,861	7,885	49,709
80	14,688	30,306	14,159	19,718	9,173	46,524
100	17,387	34,664	17,113	23,055	10,055	43,612
120	19,582	38,179	19,589	25,784	10,735	41,635
140	21,663	41,204	21,778	28,215	11,249	39,869
160	23,533	43,897	23,737	30,389	11,699	38,496
180	25,256	46,290	25,486	32,344	12,078	37,343
200	26,851	48,504	27,203	34,186	12,401	36,275
220	28,402	50,616	28,779	35,933	12,718	35,394
240	29,985	52,690	30,311	37,662	13,016	34,560

Preglednica XVI: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl, koncentracijo saharoze 200 g/L in koncentracijo pektina 2 g/L

Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 65SH-4000						
	% sproščeneqa paracetamola					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	6,681	11,417	36,698	18,266	16,138	88,350
40	39,462	51,353	70,024	53,613	15,406	28,736
60	65,359	77,319	82,906	75,195	8,964	11,921
80	80,116	88,055	88,123	85,431	4,603	5,388
100	87,172	91,227	90,348	89,582	2,133	2,381
120	89,833	93,361	91,302	91,499	1,772	1,937
140	91,690	94,552	91,612	92,618	1,675	1,809
160	92,721	94,884	91,779	93,128	1,592	1,710
180	93,064	95,065	91,837	93,322	1,630	1,746
200	93,253	95,135	91,917	93,435	1,616	1,730
220	93,368	95,181	91,937	93,496	1,626	1,739
240	93,471	95,223	92,025	93,573	1,602	1,712
Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 90SH-100 000 SR						
	% sproščeneqa paracetamola					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	1,911	0,685	1,884	1,493	0,700	46,899
40	5,288	3,005	5,227	4,507	1,301	28,861
60	7,813	4,814	8,296	6,974	1,886	27,046
80	9,860	7,729	11,716	9,769	1,995	20,420
100	12,551	10,215	14,972	12,579	2,378	18,907
120	15,098	12,497	17,996	15,197	2,751	18,102
140	17,475	14,621	20,645	17,580	3,013	17,140
160	19,736	16,358	23,165	19,753	3,404	17,232
180	21,622	17,890	25,767	21,759	3,940	18,109
200	23,270	19,408	28,062	23,580	4,335	18,386

220	24,815	20,987	30,487	25,430	4,779	18,794
240	26,238	22,219	32,952	27,136	5,422	19,982

Preglednica XVII: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl, koncentracijo saharoze 200 g/L in koncentracijo pektina 5 g/L

Vrsta HPMC v tabletih: Metolose® 65SH-4000						
	<i>% sproščenege paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	4,180	6,092	9,327	6,533	2,602	39,827
40	14,978	19,242	35,484	23,235	10,820	46,568
60	29,383	36,510	58,863	41,585	15,381	36,987
80	44,786	54,399	75,183	58,123	15,537	26,731
100	59,384	70,882	83,268	71,178	11,945	16,781
120	71,020	81,157	86,843	79,673	8,015	10,060
140	82,077	87,902	88,383	86,120	3,510	4,076
160	90,396	90,856	88,895	90,049	1,025	1,139
180	96,129	92,503	90,669	93,101	2,779	2,984
200	98,560	92,583	90,669	93,938	4,116	4,382
220	99,571	92,583	90,669	94,275	4,686	4,970
240	99,916	92,583	90,669	94,390	4,881	5,171
Vrsta HPMC v tabletih: Metolose® 90SH-100 000 SR						
	<i>% sproščenege paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	1,855	2,675	2,242	2,257	0,410	18,168
40	6,683	7,368	7,566	7,205	0,463	6,429
60	11,376	12,150	12,628	12,051	0,632	5,244
80	15,555	16,330	17,150	16,345	0,797	4,879
100	19,851	19,779	20,842	20,158	0,594	2,947
120	23,932	23,040	24,040	23,670	0,549	2,319
140	27,327	26,183	27,138	26,883	0,613	2,281
160	30,398	28,686	29,822	29,635	0,871	2,939
180	33,226	30,758	32,334	32,106	1,250	3,893
200	35,874	32,694	34,423	34,330	1,592	4,638
220	38,269	34,729	35,927	36,308	1,801	4,960
240	40,521	36,539	37,476	38,178	2,082	5,453

Preglednica XVIII: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl, koncentracijo saharoze 250 g/L in koncentracijo pektina 1 g/L

Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 65SH-4000						
	<i>% sproščenege paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	45,807	49,183	44,585	46,525	2,382	5,119
40	77,080	80,778	74,572	77,477	3,122	4,029
60	88,740	91,376	86,328	88,815	2,525	2,843
80	92,875	95,736	90,752	93,121	2,501	2,686
100	94,662	97,267	92,669	94,866	2,306	2,431
120	95,192	97,698	93,292	95,394	2,210	2,317
140	95,486	97,842	93,509	95,612	2,169	2,269
160	95,616	97,860	93,610	95,695	2,126	2,222
180	95,708	97,887	93,658	95,751	2,115	2,209
200	95,731	97,887	93,658	95,758	2,115	2,208
220	95,766	97,890	93,686	95,781	2,102	2,195
240	95,813	97,923	93,725	95,820	2,099	2,190
Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 90SH-100 000 SR						
	<i>% sproščenege paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	3,687	3,434	4,754	3,958	0,701	17,703
40	9,351	9,208	11,273	9,944	1,153	11,597
60	14,649	14,936	17,648	15,744	1,655	10,513
80	20,455	20,644	23,625	21,575	1,778	8,241
100	25,591	26,412	31,072	27,692	2,956	10,675
120	31,687	31,957	43,663	35,769	6,838	19,117
140	39,825	37,358	56,223	44,469	10,254	23,059
160	47,079	45,531	65,052	52,554	10,852	20,649
180	56,037	55,068	71,438	60,848	9,185	15,094
200	63,966	62,129	76,538	67,544	7,843	11,611
220	70,191	68,225	79,773	72,730	6,178	8,495
240	75,838	75,704	82,107	77,883	3,659	4,698

Preglednica XIX: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl, koncentracijo saharoze 250 g/L saharoze in koncentracijo pektina 2 g/L

Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 65SH-4000						
	<i>% sproščenege paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	38,422	43,141	42,404	41,322	2,539	6,144
40	71,234	78,778	77,079	75,697	3,957	5,228

60	86,716	89,733	90,173	88,874	1,882	2,117
80	93,222	95,002	95,767	94,664	1,305	1,379
100	94,769	97,150	98,201	96,707	1,759	1,819
120	95,369	98,251	99,283	97,635	2,028	2,078
140	95,497	98,611	99,746	97,951	2,200	2,246
160	95,647	98,685	99,895	98,076	2,188	2,231
180	95,655	98,738	99,931	98,108	2,206	2,249
200	95,666	98,774	99,963	98,134	2,219	2,261
220	95,678	98,808	99,990	98,159	2,228	2,270
240	95,678	98,858	99,990	98,175	2,236	2,277
Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 90SH-100 000 SR						
	<i>% sproščenege paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	2,781	2,912	2,308	2,667	0,318	11,906
40	7,671	7,693	7,315	7,560	0,212	2,809
60	12,678	12,241	12,511	12,477	0,220	1,765
80	17,852	17,241	18,041	17,711	0,418	2,361
100	22,916	22,044	22,916	22,625	0,504	2,227
120	27,530	26,534	27,857	27,307	0,689	2,525
140	32,042	30,995	33,133	32,057	1,069	3,335
160	37,441	35,609	38,161	37,071	1,316	3,550
180	41,677	40,092	42,833	41,534	1,376	3,314
200	46,240	44,924	47,440	46,201	1,259	2,724
220	50,687	49,821	51,734	50,747	0,958	1,887
240	55,039	53,948	55,337	54,774	0,731	1,335

Preglednica XX: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl, koncentracijo saharoze 250 g/L in koncentracijo pektina 5 g/L

Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 65SH-4000						
	<i>% sproščenege paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	18,209	18,621	16,564	17,798	1,088	6,113
40	58,736	56,269	54,624	56,543	2,070	3,660
60	76,684	76,460	72,011	75,052	2,636	3,512
80	83,492	85,660	79,006	82,719	3,394	4,103
100	86,486	88,630	82,120	85,746	3,318	3,869
120	87,693	89,857	83,452	87,000	3,258	3,745
140	88,178	90,368	84,153	87,566	3,152	3,600
160	88,350	90,558	84,313	87,740	3,167	3,610
180	88,402	90,641	84,339	87,794	3,195	3,639
200	88,430	90,685	84,339	87,818	3,217	3,664

220	88,453	90,705	84,339	87,832	3,228	3,675
240	88,453	90,705	84,339	87,832	3,228	3,675
Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 90SH-100 000 SR						
	<u>% sproščene paraacetamola</u>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	2,866	1,449	1,954	2,090	0,718	34,353
40	8,623	5,325	5,705	6,551	1,805	27,547
60	15,757	9,744	9,967	11,823	3,409	28,835
80	22,374	13,744	13,561	16,560	5,036	30,412
100	27,548	17,757	17,593	20,966	5,700	27,188
120	32,459	21,239	21,207	24,968	6,487	25,982
140	36,748	24,498	24,505	28,584	7,070	24,735
160	41,384	27,292	27,659	32,111	8,032	25,013
180	45,089	30,059	30,570	35,239	8,533	24,216
200	48,315	32,321	33,423	38,020	8,933	23,495
220	51,692	34,603	36,459	40,918	9,376	22,915
240	54,223	36,531	39,325	43,360	9,511	21,935

Preglednica XXI: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl, koncentracijo saharoze 150 g/L in koncentracijo pektina 5 g/L

Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 65SH-4000						
	<u>% sproščene paraacetamola</u>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	2,917	2,898	3,353	3,056	0,257	8,423
40	9,366	7,232	8,799	8,465	1,105	13,057
60	18,134	19,685	15,523	17,781	2,104	11,831
80	28,245	33,052	23,547	28,282	4,753	16,805
100	37,987	45,154	32,380	38,507	6,403	16,628
120	48,567	54,304	41,073	47,981	6,635	13,828
140	58,376	63,488	49,941	57,268	6,841	11,946
160	67,144	70,318	56,911	64,791	7,006	10,814
180	73,631	76,163	62,897	70,897	7,043	9,934
200	78,205	80,743	67,758	75,569	6,882	9,107
220	82,812	85,499	72,690	80,334	6,755	8,408
240	86,211	88,638	76,426	83,758	6,465	7,718

Preglednica XXII: Rezultati sproščanja paracetamola v mediju z 0,002 M HCl, koncentracijo saharoze 300 g/L in koncentracijo pektina 5 g/L

Vrsta HPMC v tableti: Metolose® 90SH-100 000 SR						
	<i>% sproščenega paracetamola</i>					
čas (min)	1. paralelka	2. paralelka	3. paralelka	povprečje	SD	KV
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	4,596	8,250	12,764	8,537	4,092	47,933
40	16,626	27,926	44,409	29,654	13,972	47,116
60	38,464	43,277	70,301	50,681	17,161	33,861
80	52,928	57,200	82,641	64,256	16,064	25,000
100	64,959	67,803	88,147	73,636	12,647	17,175
120	73,437	76,166	90,840	80,147	9,360	11,678
140	79,870	82,735	92,170	84,925	6,436	7,578
160	84,111	85,569	92,659	87,446	4,573	5,229
180	85,680	86,660	92,781	88,374	3,848	4,354
200	86,167	86,910	92,816	88,631	3,644	4,111
220	86,297	87,062	92,828	88,729	3,570	4,024
240	86,413	87,136	92,872	88,807	3,539	3,985

5. Razprava

Glavni namen magistrske naloge je bil ugotoviti vpliv saharoze in pektina v medijih za raztapljanje na sproščanje izbrane učinkovine (paracetamol) iz ogrodnih tablet, pri uporabi dveh vrst HPMC. Izhajali smo iz člankov (3,4), kjer so raziskovalci ugotavljali vpliv sladkorjev in soli na sproščanje iz ogrodnih tablet s HPMC. V članku (3) so raziskovalci ugotovili, da saharoza in ostali preiskovani sladkorji vplivajo na sproščanje učinkovine iz ogrodnih tablet s HPMC in da nad S_{CRIT} tablete ne sproščajo več podaljšano, temveč pride do hitrejšega, nenadzorovanega sproščanja, pri zelo visokih koncentracijah pa do takojšnjega sproščanja. V drugem članku (4) pa so znanstveniki preiskovali vpliv soli v kombinaciji s saharozo na sproščanje iz ogrodnih tablet s HPMC. Ugotovili so, da dodatek soli mediju zniža koncentracijo saharoze, ki je potrebna za doseganje takojšnjega sproščanja, z drugimi besedami, zniža se S_{CRIT} . Vpliv pektina na sproščanje so preiskovali v diplomski nalogi (17), kjer so ugotovili, da pektin nima vpliva na hitrost sproščanja učinkovine iz preiskovanih tablet, uporabili so različne tipe HPMC. Nas pa je zanimal vpliv kombinacije različnih koncentracij pektina in saharoze v mediju na sproščanje paracetamola iz ogrodnih tablet.

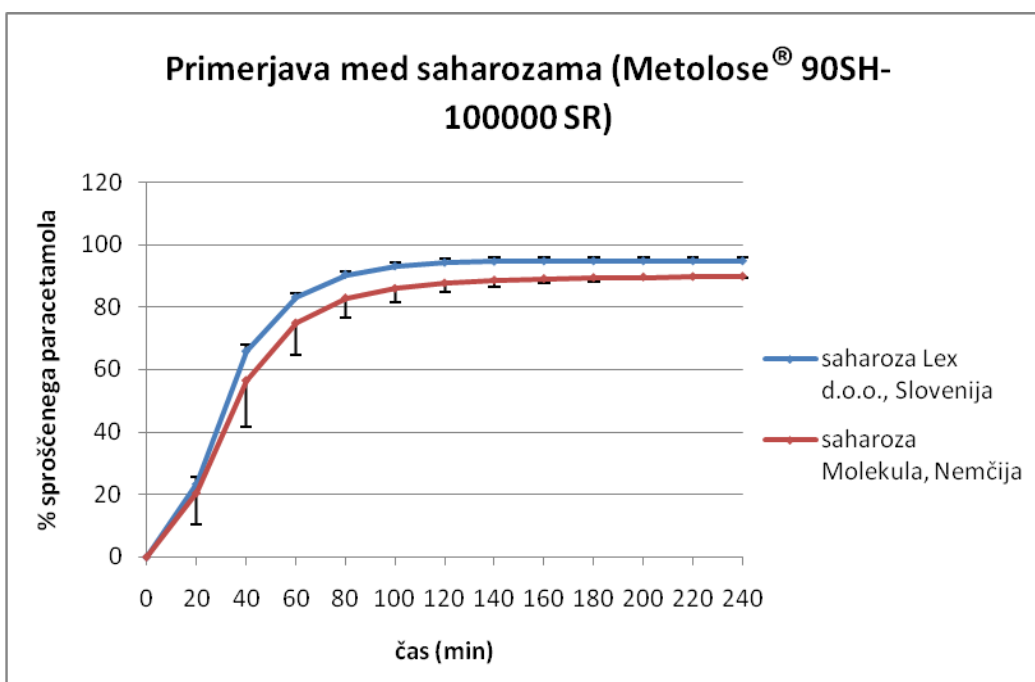
5.1. *Optimizacija pogojev*

5.1.1. Vpliv saharoze različnih dobaviteljev

V času trajanja laboratorijskega dela je prišlo do težav z dobavo saharoze, zato smo bili prisiljeni v zamenjavo dobavitelja. Saharozna dobavitelja Molekula je sicer imela enake analizne rezultate, vendar pa je bila, za razliko od saharoze dobavitelja Lex d.o.o., v mleti obliki, raztopine pa so bile obarvane rahlo rumenkasto. Zato smo se odločili, da naredimo poskuse, kjer bomo preverili, ali so rezultati pridobljeni v medijih z novo saharozo (Molekula), primerljivi z rezultati, dobljenimi s prvo saharozo (Lex d.o.o.). Poskuse smo naredili v mediju s koncentracijo saharoze 300 g/L, saj je to medij z najvišjo koncentracijo, uporabljeno pri poskusih, in se bi vpliv zamenjave saharoze najbolje videl. Primerjava profilov sproščanja je prikazana na sliki 6.

Opazimo, da je krivulja profila sproščanja v mediju s saharozo dobavitelja Lex d.o.o., malce nad krivuljo profila sproščanja v mediju s saharozo dobavitelja Molekula. Tudi standardna deviacija je pri krivulji s saharozo proizvajalca Lex d.o.o. višja, predvsem v

srednjem delu, kjer je sproščanje najhitrejše, vendar pa je vpliv zamenjave dobavitelja saharoze v mediju za sproščanje majhen. Končna razlika v sproščenem paracetamolu je približno 5% (slika 6).

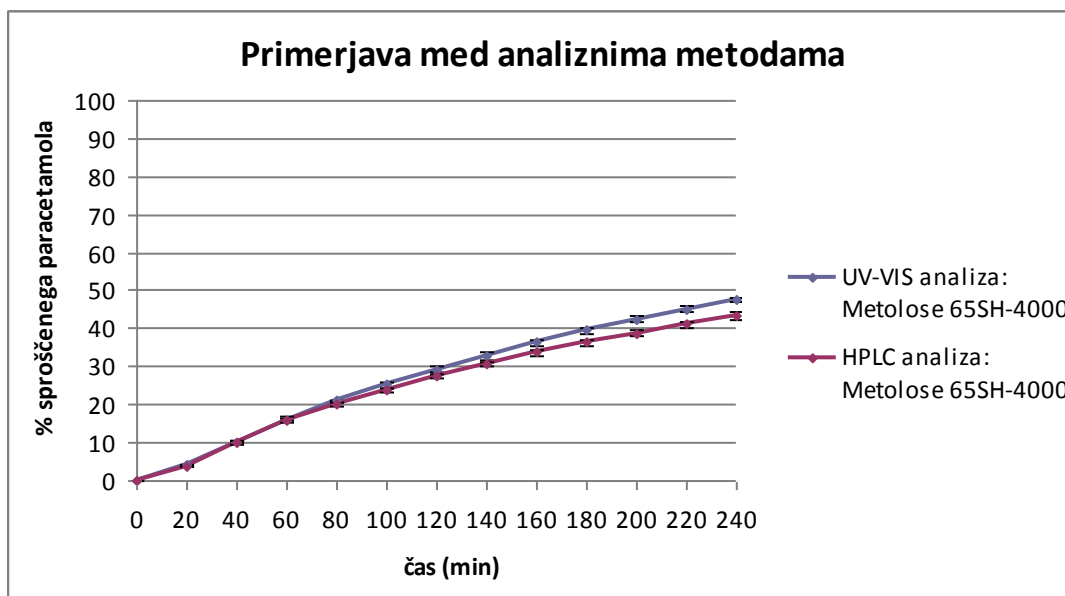


Slika 6: Primerjava profilov sproščanja med saharozama. Medij: 0,002 M HCl in koncentracija saharoze 300 g/L.

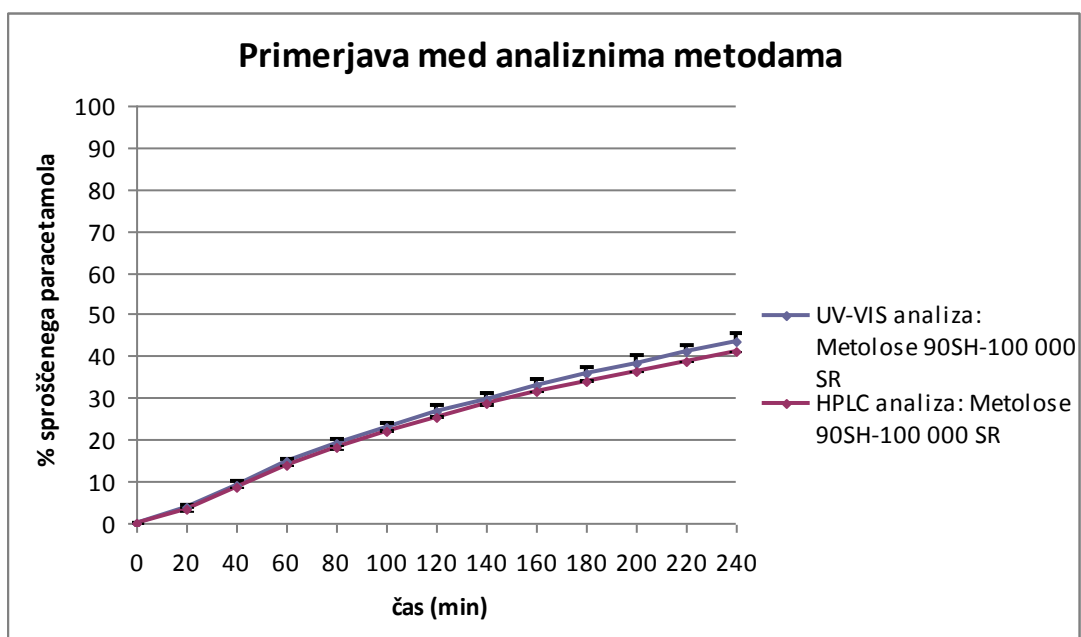
Vidimo, da zamenjava saharoze le rahlo vpliva na profil sproščanja. Vendar pa ta zamenjava na naše rezultate ni vplivala, saj smo gledali predvsem spremembe v hitrosti sproščanja ter razlike v obliki profilov sproščanja. Na kar pa, glede na primerjavo profilov sproščanja v medijih z različno saharozo, zamenjava vrste saharoze vpliva le v manjši meri. Katero vrsto saharoze smo uporabili za kateri poskus lahko vidimo v preglednici II v poglavju 5.2.3.

5.1.2. Vpliv različnih analiznih metod

Po nekaj poskusih smo ugotovili, da vrednosti sproščenega paracetamola ne dosegajo 100% (100 mg), ampak so nekoliko nižje (slike 6, 11, 13, 14, 16, 18). Hoteli smo preveriti, ali gre za napako v analizni metodi, zato smo dobljene vzorce analizirali še z drugo metodo – HPLC. Poskuse smo izvedli v mediju s koncentracijo pektina 5 g/L, vsak dobljen vzorec pa smo analizirali z obema analiznima metodama. Rezultate vidimo na sliki 7 (Metolose® 65SH-4000) in sliki 8 (Metolose® 90SH-100 000 SR).



Slika 7: Profili sproščanja iz tablet s HPMC vrste Metolose® 65SH-4000 dobljeni z različnima analiznima metodama. Medij: 0,002 M HCl in koncentracija pektina 5 g/L.



Slika 8: Profili sproščanja iz tablet s HPMC vrste Metolose® 90SH-100 000 SR dobljeni z različnima analiznima metodama. Medij: 0,002 M HCl in koncentracija pektina 5 g/L.

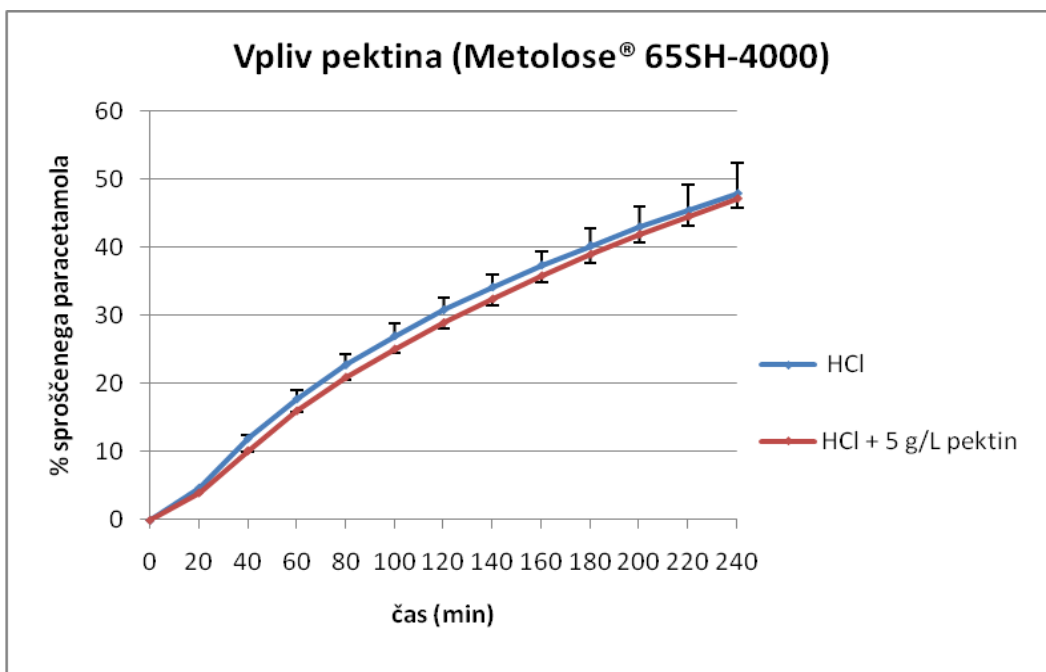
Po pregledu rezultatov vidimo, da so rezultati pri analizi z UV-VIS nekoliko višji, vendar pa je razlika minimalna. Končna razlika med količino sproščenega paracetamola je približno 4% pri tabletah s HPMC vrste Metolose® 65SH-4000 (slika 7), ter približno 2% pri tabletah s HPMC vrste Metolose® 90SH-100 000 SR (slika 8). Predvidevamo, da sta analizni metodi za naše poskuse primerljivi, in je bila spektrofotometrična analiza zaradi enostavnosti, hitrosti in cene boljša izbira za naše raziskovalno delo.

Vzroke za nizke vrednosti moramo torej iskati drugje, ne pa v izbiri analizne metode. Verjetno gre za posledico več dejavnikov, lahko da že vsebnost paracetamola v tabletah ni bila 100 mg, ampak manjša, analizne napake (pri filtriranju lahko delček paracetamola ostane na filtru). Možno je tudi, da pektin veže nekaj učinkovine, kot veže žolčne kisline v tankem črevesju.

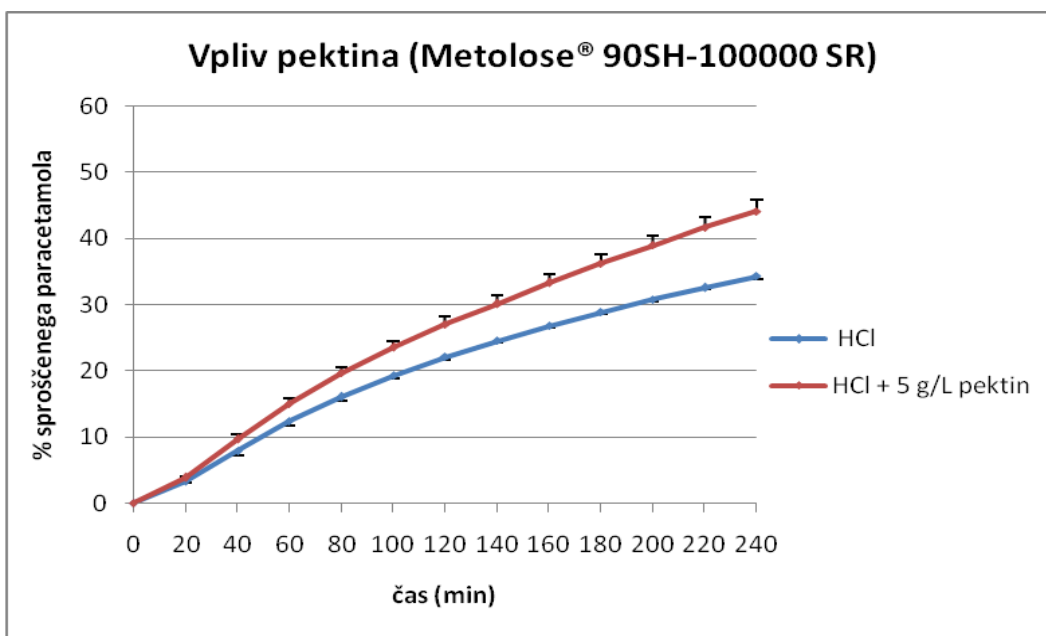
5.2. Vpliv pektina

Naš glavni namen je bil ugotoviti vpliv pektina na sproščanje v kombinaciji s saharozo. Najprej smo naredili poskus, v katerem ni bilo saharoze in pektina (le ustrezna količina HCl) za primerjavo z ostalimi. Ker smo preverjali vpliv kombinacije saharoze in pektina, smo preverili tudi, kako vsaka posamezna substanca vpliva na profile sproščanja. Vpliv pektina na sproščanje je predstavljen v tem poglavju.

Iz slike 9 je razvidno, da pri naših pogojih pektin v koncentraciji 5 g/L na sproščanje iz tablet z HPMC Metolose[®] 65SH-4000 ne vpliva, saj se profila sproščanja praktično prekrivata. Pri tabletah, kjer smo uporabili HPMC Metolose[®] 90SH-100 000 SR, pa vidimo (slika 10) da je bilo sproščanje pod vplivom pektina celo hitrejše. Pektin ima očitno večji vpliv na HPMC tipa Metolose[®] 90SH-100 000 SR. Če pa primerjamo standardne deviacije, vidimo, da je SD pri sproščanju iz tablet s HPMC Metolose[®] 90SH-100 000 SR v mediju brez pektina manjša kot v mediju s pektinom. Velika količina pektina povzroči večjo viskoznost medija, s tem pa se poveča tudi napaka pri delu (pipetiranje, filtriranje, itd.). Posledično je profil sproščanja v takem mediju manj predvidljiv in lahko predstavlja oviro pri načrtovanju farmacevtskih oblik s prirejenim sproščanjem, saj želimo zagotoviti, da bo tableta izkazovala enak profil sproščanja, ne glede na spremembe v zaužiti hrani in pijači.



Slika 9: Vpliv pektina na sproščanje paracetamola. Uporabljena HPMC: Metolose® 65SH-4000.



Slika 10: Vpliv pektina na sproščanje paracetamola. Uporabljena HPMC: Metolose® 90SH-100000 SR.

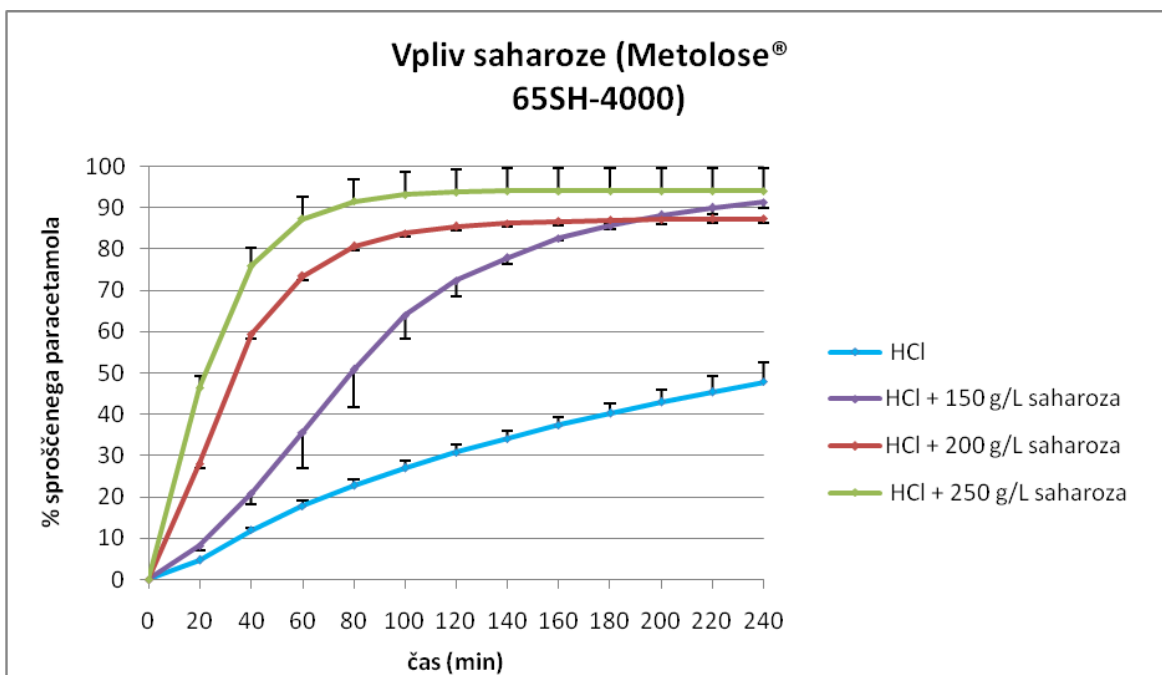
5.3. Vpliv saharoze

Velika količina saharoze v mediju namesto zaželenega podaljšanega, pri ogrodnih tabletah s HPMC, povzroči takojšnje sproščanje. Poskuse smo izvajali pri koncentracijah saharoze 150 g/L, 200 g/L, 250 g/L in 300 g/L, saj smo želeli preseči S_{CRIT} in doseči hitro sproščanje. Pri pregledu slike 11 vidimo, da so rezultati v skladu s pričakovanji in se hitrost sproščanja povečuje z višanjem koncentracije saharoze. Vsi mediji imajo saharozo v

višji koncentraciji od S_{CRIT} , lepo pa so opazne spremembe v obliki krivulje ob povečevanju koncentracije saharoze.

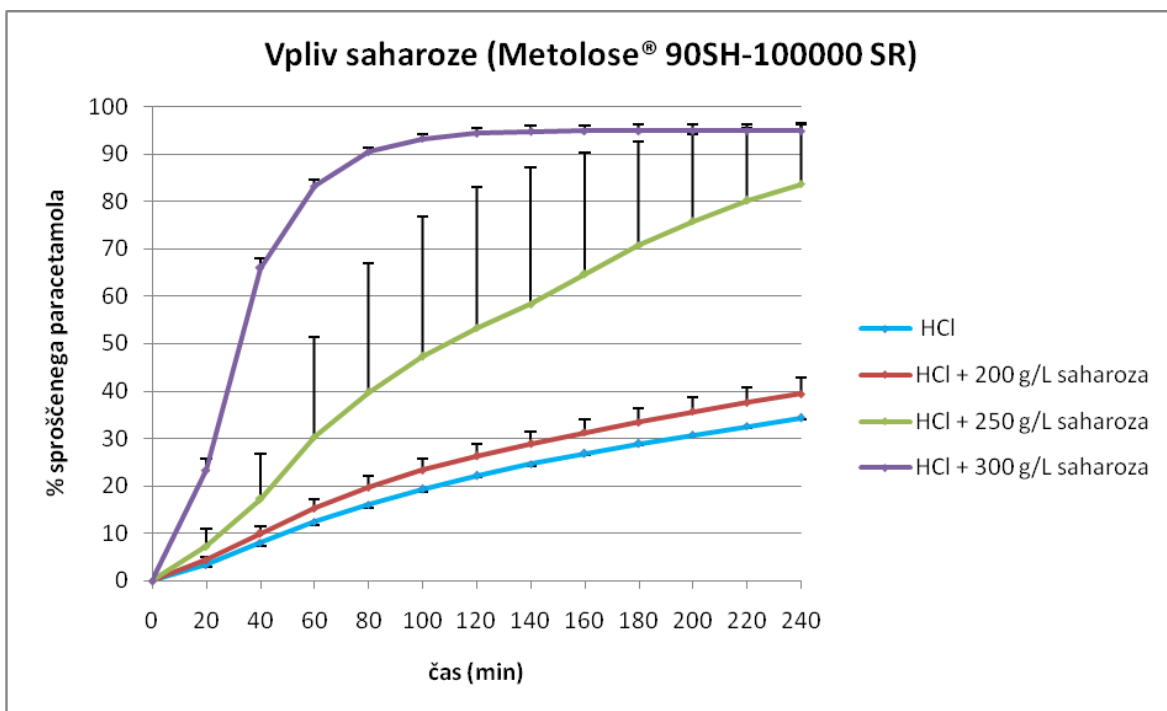
V mediju brez saharoze je krivulja na pogled linearna in izraža počasno sproščanje paracetamola celoten čas poskusa. Že pri koncentraciji saharoze 150 g/L opazimo drastično spremembo v profilu sproščanja, že po 80 min se je sprostila polovica paracetamola, medtem ko se je enaka količina paracetamola v mediju brez saharoze za ta tip HPMC (Metolose[®] 65SH-4000) sprostila šele po približno 4 urah (slika 11). Z višanjem koncentracije saharoze pa opazimo spremembo krivulje iz sigmoidne oblike, ki jo vidimo pri koncentraciji saharoze 150 g/L, preide v krivuljo takojšnjega sproščanja (koncentracije saharoze 200 g/L in 250 g/L). Če pogledamo standardno deviacijo pri krivulji, ki prikazuje profil sproščanja v mediju s koncentracijo 150 g/L saharoze, pa vidimo, da je SD v srednjem delu relativno visoka in je lepo vidno, da saharoza tudi pri tej koncentraciji povzroči slabo ponovljivost profilov sproščanja (slika 11).

Vpliv saharoze v mediju smo opazili že organoleptično, saj so se tablete v različnih medijih različno obnašale. V mediju brez saharoze so tablete nabrekli malo in enakomerno. Po preteklem poskusu smo tableto razdelili na dva dela in lepo je bila vidna zunanja gelirana plast, v notranjosti pa del tablete, ki je bil še suh in nedotaknjen. V mediju s koncentracijo saharoze 150 g/L so tablete močno nabrekli in po približno uri trajanja poskusa razpadle na več majhnih delčkov. V medijih s koncentracijami saharoze 200 g/L in 250 g/L pa je bilo nabrekanje tablet še močnejše, neenakomerno in tablete so popolnoma razpadle po 5-10 min ali pa je ostal še majhen košček, ki je plaval in sčasoma dokončno razpadel.



Slika 11: Vpliv spremembe koncentracije saharoze na sproščanje paracetamola. Uporabljena HPMC: Metolose® 65SH-4000.

Če primerjamo med sabo sliki 11 in 12, kjer so predstavljeni rezultati profilov sproščanja paracetamola pod vplivom različnih koncentracij saharoze za dve vrsti HPMC, že na prvi pogled vidimo, da se profili sproščanja, kljub enakim pogojem razlikujejo. HPMC Metolose® 90SH-100000 SR še pri koncentraciji saharoze 200 g/L izkazuje počasno sproščanje, medtem ko se učinkovina pri HPMC Metolose® 65SH-4000 že pri koncentraciji saharoze 150 g/L ne sprošča več tako počasi kot v mediju brez saharoze.



Slika 12: Vpliv spremembe koncentracije saharoze na sproščanje paracetamola. Uporabljena HPMC: Metolose® 90SH-100000 SR.

Pri primerjavi profilov sproščanja (slika 12) v mediju brez saharoze in mediju s koncentracijo saharoze 200 g/L vidimo, da je sproščanje paracetamola v mediju s saharozo hitrejše. Razlika v povprečni količini sproščene paraacetamola po 240 min je približno 5 odstotkov (slika 12). Torej je vpliv saharoze že opazen, S_{CRIT} saharoze je najverjetneje že presežena, vendar pa koncentracija saharoze še ni tako visoka, da bi povzročila zelo hitro sproščanje.

Prav tako se profila sproščanja v mediju s koncentracijo saharoze 250 g/L razlikujeta med obema vrstama HPMC. Tablete s HPMC vrste Metolose® 65SH-4000 na tako koncentracijo saharoze reagirajo z zelo hitrim sproščanjem (slika 11), medtem ko oblika profila sproščanja pri tabletih s HPMC vrste Metolose® 90SH-100000 SR v tem mediju (koncentracija saharoze 250 g/L) kaže hitrejše sproščanje, kot v mediju brez saharoze (slika 12). Tudi zelo visoka SD nakazuje na to, da je koncentracija saharoze 250 g/L za tablete z Metolose® 90SH-100000 SR zelo blizu S_{CRIT} , saj so se tablete med poskusi obnašale različno. Pri vseh treh paralelah je prišlo do močnega nabrekanja in razpada tablet, pri drugi paraleli je prišlo do precej večjega nabrekanja in hitrejšega razpada kot pri ostalih dveh. Tableta je na več majhnih koščkov razpadla po približno 40 min, medtem, ko sta ostali dve tableti močno nabrekli in razpadli na dva dela po približno 1,5 h. Pri

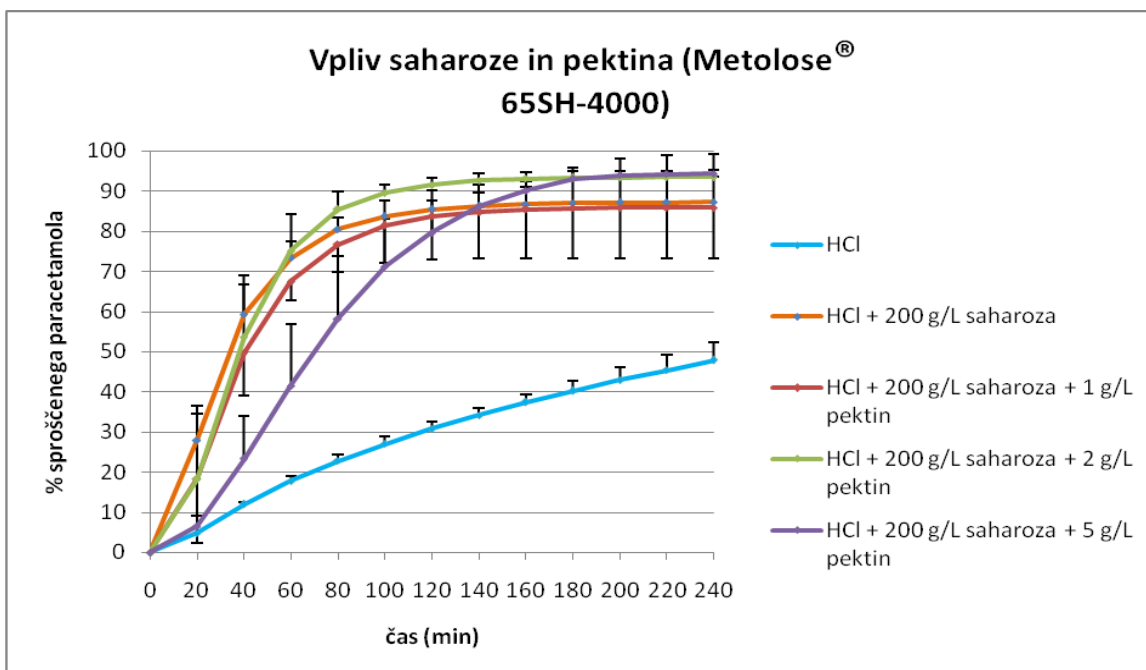
koncentraciji saharoze 300 g/L pa vidimo, da oblika krivulje sproščanja nakazuje zelo hitro sproščanje (slika 12). Oblika krivulje se sklada z opažanji, saj so tablete pri tem poskusu skoraj popolnoma razpadle po približno pol ure, ostali so le majhni gelirani delčki tablete, ki pa so sčasoma popolnoma razpadli.

5.4. Vpliv pektina in saharoze

V tem poglavju so predstavljeni rezultati poskusov, kjer smo poleg saharoze v medije za raztapljanje dodali še različne koncentracije pektina (1, 2 in 5 g/L), da bi preverili njegov vpliv v prisotnosti saharoze.

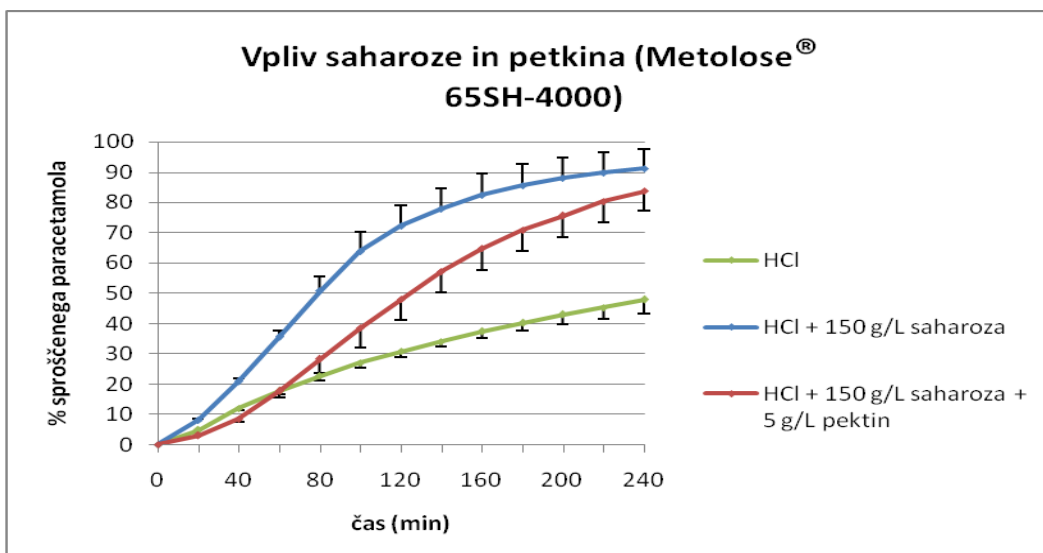
5.4.1. Vpliv pektina v medijih s koncentracijo saharoze 200 g/L

Pri tabletah s HPMC Metolose[®] 65SH-4000 pride v mediju s koncentracijo saharoze 200 g/L do zelo hitrega sproščanja, S_{CRIT} je torej presežena. Po pregledu profilov sproščanja opazimo vpliv pektina, in sicer šele pri koncentraciji pektina 5 g/L (slika 13). Profili sproščanja s koncentracijo pektina 1 g/L in 2 g/L imajo že na prvi pogled zelo podobno obliko, kot profil sproščanja v mediju brez pektina. Tudi čas, v katerem se sprosti 50 % paracetamola, se med temi tremi mediji razlikuje za manj kot 10 minut (slika 13), kar lahko pripišemo variacijam med tabletami, ne pa vplivu pektina. Drugače pa je v mediju, kjer smo imeli poleg koncentracije saharoze 200 g/L še koncentracijo pektina 5 g/L. Krivulja profila sproščanja se že na prvi pogled razlikuje od ostalih treh, sproščanje je bilo počasnejše. Vendar pa je bilo sproščanje še vedno precej hitrejše in bolj nepredvidljivo kot v mediju brez saharoze in pektina (le s HCl) (slika 13), kjer se je 50 % paracetamola povprečno sprostito po 4 h poskusa, v tem mediju (koncentracija saharoze 200 g/L in koncentracija pektina 5 g/L) pa se je enaka količina učinkovine sprostita že po 70 min poskusa, kar pa je približno 30 min kasneje, kot v mediju brez pektina (slika 13).



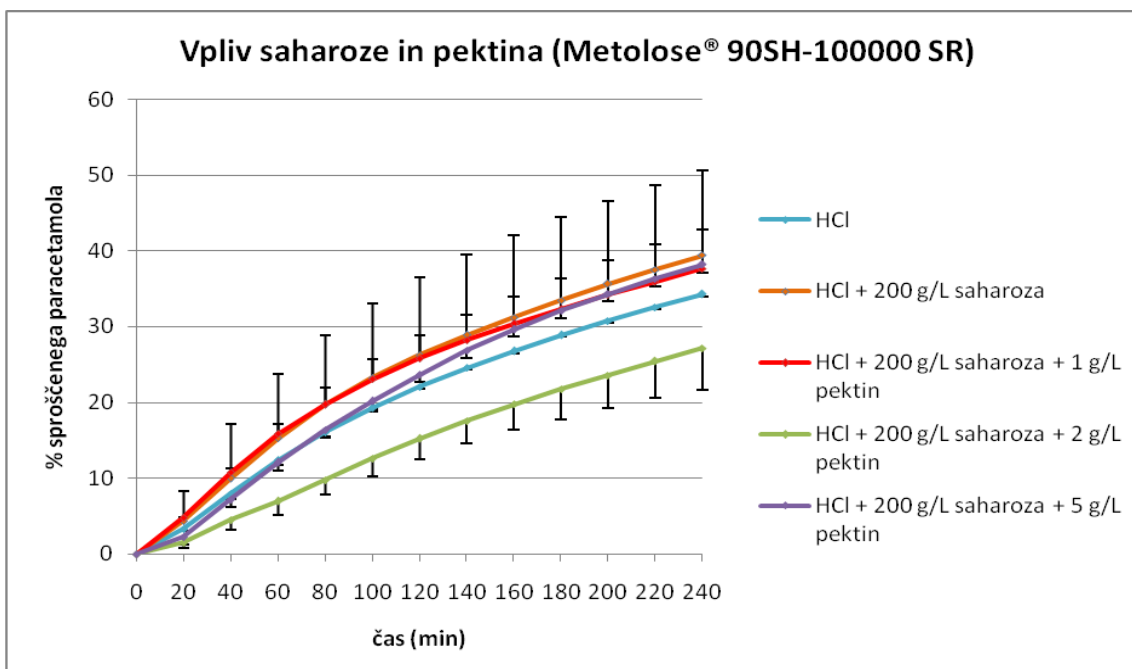
Slika 13: Vpliv različnih koncentracij pektina na sproščanje paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo saharoze 200g/L. Uporabljena HPMC: Metolose® 65SH-4000.

Ker smo želeli ugotoviti, kako pektin vpliva na sproščanje, kadar tableta še ne izkazuje hitrega sproščanja, smo za to vrsto HPMC naredili tudi poskus v mediju s koncentracijo saharoze 150 g/L in koncentracijo pektina 5 g/L. V tem mediju je dobro viden vpliv pektina, sproščanje učinkovine je, glede na medij s koncentracijo saharoze 150 g/L in brez pektina, upočasnjeno. Polovica paracetamola se v tem mediju (s koncentracijo 150 g/L saharoze in 5 g/L pektina) v povprečju sprosti v približno 130 min, medtem ko se v mediju brez dodanega pektina (le s koncentracijo saharoze 150 g/L) polovica učinkovine sprosti že po približno 80 min (slika 14).



Slika 14: Vpliv pektina na sproščanje paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo saharoze 150 g/L. Uporabljena HPMC: Metolose® 65SH-4000.

Pri drugi vrsti HPMC pa vpliv pektina pri koncentraciji saharoze 200 g/L ni viden. Rezultati ne kažejo nobenega trenda, oziroma so v nasprotju s pričakovanji. Najpočasnejše sproščanje se kaže v mediju s koncentracijo pektina 2 g/L, medtem ko v mediju s koncentracijo pektina 5 g/L ni opazne nobene večje spremembe v profilu sproščanja glede na medij brez dodatka pektina in medijem s koncentracijo pektina 1 g/L (slika 15).

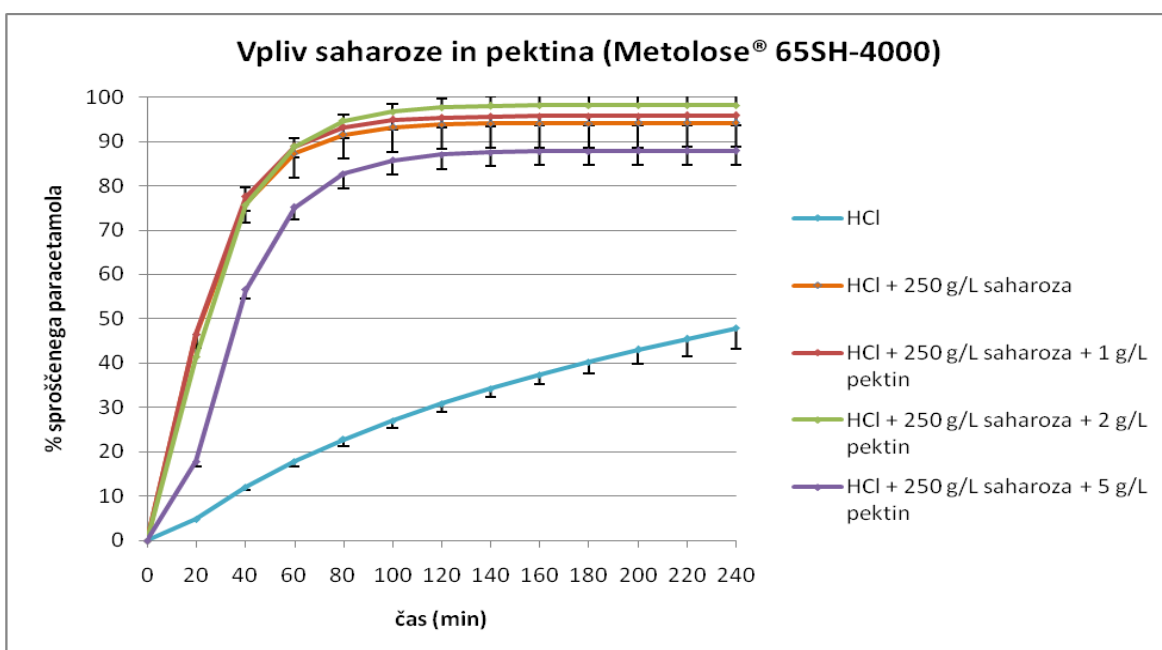


Slika 15: Vpliv koncentracije pektina na sproščanje paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo saharoze 200 g/L. Uporabljena HPMC: Metolose® 90SH-100000 SR.

5.4.2. Vpliv pektina v medijih s koncentracijo saharoze 250 g/L

Tudi pri višji koncentraciji saharoze je vpliv pektina podoben kot pri koncentraciji saharoze 200 g/L. Pri dodatku pektina v koncentraciji 1 in 2 g/L, se oblika profila sproščanja in hitrost sproščanja praktično ne spremeni (slika 16). V mediju s koncentracijo pektina 5 g/L pa vidimo, da je prišlo do nekoliko zakasnjenega zelo hitrega sproščanja glede na ostale tri predstavljene medije, vendar pa HPMC vseeno ni mogla zagotoviti počasnega sproščanja, kot ga vidimo v mediju brez saharoze ali pektina (slika 16).

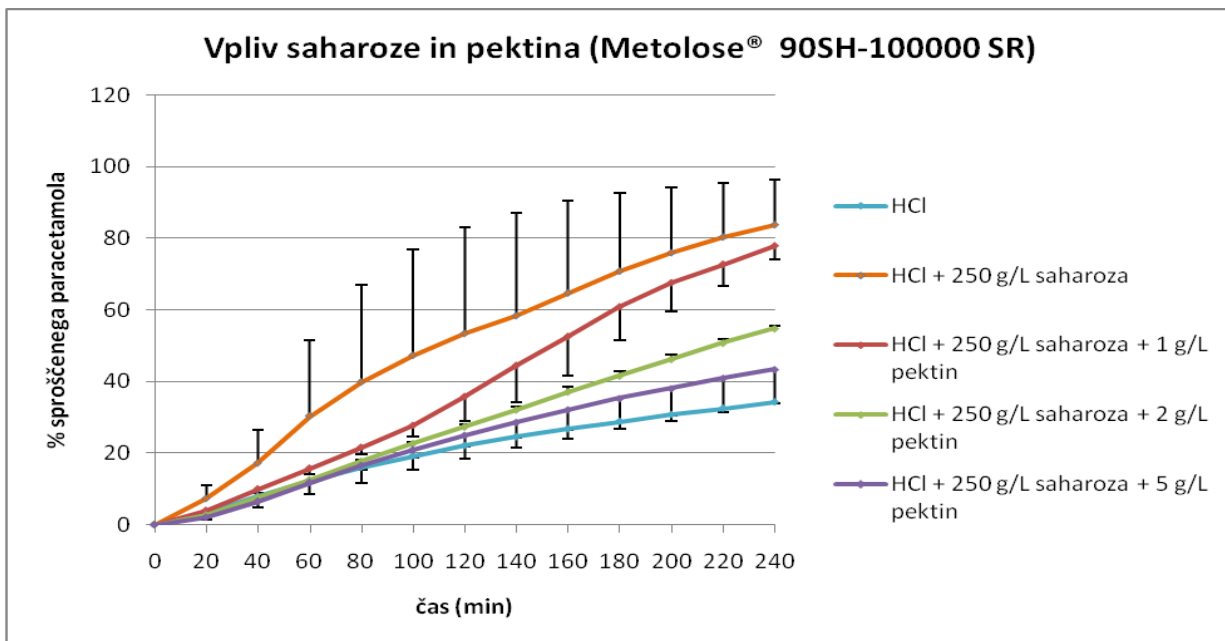
Razlika v sproščanju med mediji je bila vidna tudi na ravni tablet. V prvih treh medijih (koncentracije: 250 g/L saharoze, 250 g/L saharoze in 1 g/L pektina, 250 g/L saharoze in 2 g/L pektina) je prišlo do popolnega razpada tablet že po približno 5 -10 minutah, medtem ko so tablete v mediju s koncentracijo 250 g/L saharoze in 5 g/L pektina popolnoma razpadle po približno 20 min.



Slika 16: Vpliv koncentracije pektina na sproščanje paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo saharoze 250 g/L. Uporabljen HPMC: Metolose® 65SH-4000.

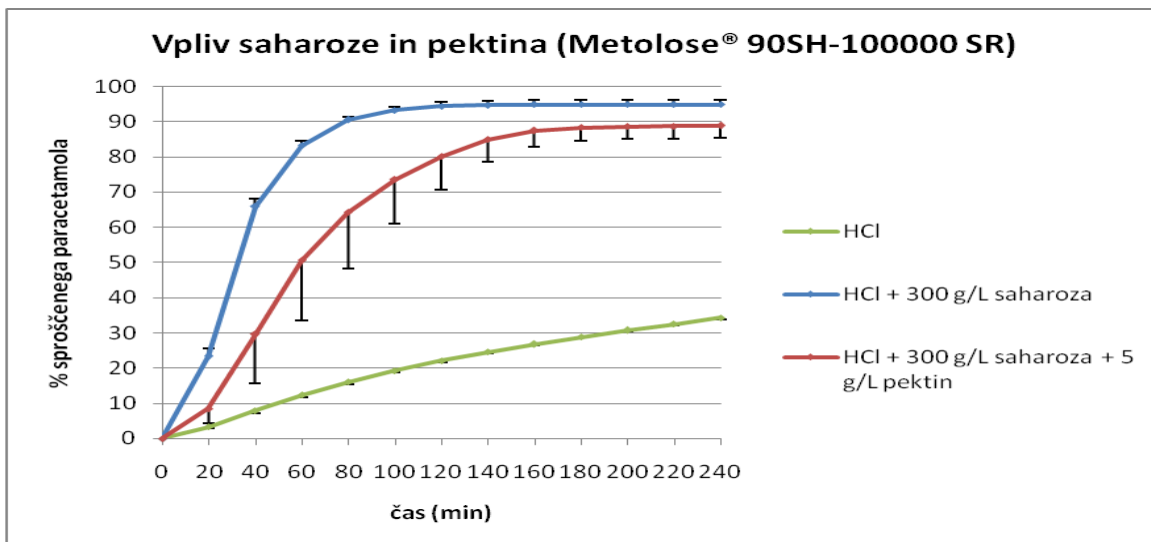
Za razliko od medijev z dodanim pektinom, ker je koncentracija saharoze 200 g/L, se v medijih s koncentracijo saharoze 250 g/L za HPMC vrste Metolose® 90SH-100000 SR vidi vpliv pektina. Že dodatek pektina v koncentraciji 1 g/L se kaže v počasnejšem sproščanju paracetamola, s povečevanjem količine dodatka se hitrost sproščanja zmanjšuje. Zelo se že približa profilu sproščanja v mediju brez saharoze in pektina. Hitrost sproščanja je v prvih 80 minutah za medija z dodatkom pektina v koncentraciji 2 ali 5 g/L in medij

brez saharoze in pektina praktično enaka, šele kasneje pa se hitrost poveča. Povečanje hitrosti je obratno sorazmerno z naraščanjem koncentracije pektina v mediju (slika 17).



Slika 17: Vpliv koncentracije pektina na sproščanje paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo saharoze 250 g/L. Uporabljena HPMC: Metolose® 90SH-100000 SR

Na sliki 17 je predstavljen vpliv pektina na sproščanje paracetamola iz tablet s HPMC Metolose® 90SH-100000 SR pri koncentraciji saharoze 250 g/L. Ta koncentracija saharoze še ni bila tako visoka, da bi povzročila zelo hitro sproščanje iz teh tablet, zato smo vpliv pektina za to vrsto HPMC preverili tudi v mediju s koncentracijo saharoze 300 g/L (slika 18), saj pri tej koncentraciji tablete izkazujejo zelo hitro sproščanje učinkovine. Osnovni raztopini saharoze (koncentracija saharoze 300 g/L) smo dodali tudi pektin da smo dosegli koncentracijo pektina 5 g/L pektina. Tudi tukaj je opazen vpliv pektina, in tudi tu je imel dodatek pektina za rezultat upočasnjeno sproščanje paracetamola.



Slika 18: Vpliv pektina na sproščanje paracetamola v mediju z 0,002 M HCl in koncentracijo saharoze 300 g/L. Uporabljena HPMC: Metolose® 90SH-100000 SR.

6. Zaključki

V nalogi smo proučili učinke visokih koncentracij saharoze, pektina in nekaterih njenih kombinacij v vodnem mediju z dodatkom HCl na sproščanje paracetamola iz ogrodnih tablet s HPMC. Izdelali smo tablete iz dveh vrst HPMC. Tablete so poleg učinkovine (paracetamola) in HPMC vsebovale tudi mikrokristalno celulozo in magnezijev stearat. Poskuse smo izvajali na pretočnem sistemu s kroglicami. Po pregledu rezultatov smo prišli do naslednjih ugotovitev:

- Vpliv zamenjave vrste saharoze, uporabljene za izvedbo poskusov, na sproščanje iz ogrodnih tablet s HPMC lahko zanemarimo.
- UV-VIS spetkrofotometrija je kot analizna metoda v okviru naših poskusov primerljiva s HPLC.
- Ogrodne tablete iz obeh vrst HPMC v mediju brez saharoze in pektina (koncentracija HCl v mediju 0,002 M) zagotavljajo počasno sproščanje učinkovine čez celoten čas poskusa.
- Koncentracija pektina 5 g/L na profil sproščanja iz tablet s HPMC Metolose[®] 65SH-4000 ne vpliva, sproščanje iz tablet s HPMC Metolose[®] 90SH-100 000 SR pa je hitrejše, vendar pa se oblika krivulje ne spremeni.
- Z višanjem koncentracije saharoze se hitrost sproščanja učinkovine pri obeh vrstah tablet poveča. Pri zelo visokih koncentracijah saharoze tablete izkazujejo zelo hitro sproščanje.
- Pri tabletah s HPMC Metolose[®] 65SH-4000 vidimo takojšnje sproščanje pri koncentraciji saharoze 200 g/L, medtem ko pri tabletah s HPMC Metolose[®] 90SH-100 000 SR takojšnje sproščanje opazimo šele pri koncentraciji saharoze 300 g/L.
- Saharozna in pektin v mediju imata različen vpliv na obe vrsti HPMC. Pektin ima večji vpliv na profil sproščanja iz tablet s HPMC Metolose[®] 90SH-100 000 SR. Saharozna pa ima večji vpliv na sproščanje iz tablet s HPMC Metolose[®] 65SH-4000.
- Koncentracija pektina 5 g/L v medijih s saharozo upočasni sproščanje pri obeh vrstah tablet v primerjavi s sproščanjem v medijih zgolj s saharozo.

- Koncentracija pektina 5 g/L v medijih s saharozo vpliva na sproščanje pri vseh koncentracijah saharoze, uporabljenih v naših poskusih.
- Višje koncentracije saharoze ali/in pektina v medijih za sproščanje povzročijo višjo standardno deviacijo profilov sproščanja. Predvidljivost sproščanja iz tablet v teh medijih je manjša, kar lahko pomeni nepredvidljiv odziv tablet s HPMC pri takih koncentracijah saharoze ali/in pektina v želodcu.

7. Literatura

1. Using Dow Excipients for Controlled Release of Drugs in Hydrophilic Matrix Systems. Dow Commercial Information. September 2006.
2. Li CL, Martini LG, Ford JL, Roberts M. The use of hypromellose in oral drug delivery. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2005; 57: 533-546.
3. Williams HD, Ward R, Hardy IJ, Melia CD. The extended release properties of HPMC matrices in the presence of dietary sugars. *Journal of Controlled Release*. 2009; 138: 251-259.
4. Williams HD, Ward R, Hardy IJ, Melia CD. The effect of sucrose and salts in combination on the drug release behaviour of an HPMC matrix. *European Journal of Pharmaceutic and Biopharmaceutic*. 2010; 76: 433-436.
5. Golob T, Bertoneclj J, Korošec M. Pomen prehranske vlaknine v prehrani človeka. *Acta Agriculturae Slovenica*. 2012; 99-2: 201-211.
6. National Research Council. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). The National Academies Press. 2005; 339-421.
7. Buttriss JL, Stokes CS. Dietary fibre and health: an overview. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*. 2008; 33: 186-200.
8. Mohnen D. Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*. 2008; 11: 266-277.
9. Ridley BL, O'Neill MA, Mohnen D. Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*. 2001; 57: 929-967.
10. Sriamornsak P. Chemistry of Pectin and its Pharmaceutical Uses: A Review. *Silpakorn University International Journal*. 2003; 3 (1-2): 206-228.
11. Willats WGT, Knox JP, Mikkelsen JD. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*. 2006; 17: 97-104.
12. Tsoga A, Richardson RK, Morris ER. Role of cosolutes in gelation of high-metoxo pectin. Part 1: Comparison of sugars and polyols. *Food Hydrocolloids*. 2004; 18: 907-919.
13. May CD. Industrial pectins: sources, production and applications. *Carbohydrate Polymers*. 1990; 12: 79-99.

14. Turquois T, Rinaudo M, Taravel FR, Heyraud A. Extrction of highly gelling pectic substances from sugar beet pulp and potato pulp: influence of extrinsic parameters on their gelling properties. *Food Hydrocoloids*. 1999; 13: 255-262.
15. Liu LS, Fishman ML, Kost J, Hicks KB. Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route. *Biomaterials*. 2003; 24: 3333-3343.
16. Maxwell EG, Belshaw NJ, Waldron KW, Morris VJ. Pectin-An emerging new bioactive food polysaccharide. *Trends in Food Science & Technology*. 2012; 24: 64-73.
17. Virant L. Vpliv sladkorjev, pektina in natrijevega klorida na sproščanje paracetamola iz tablet s prirejenim sproščanjem. *Diplomska naloga*. Fakulteta za farmacijo. 2012.
18. <http://www.metolose.jp/e/pharmaceutical/metolose.shtml> (dostopano 15.12.2013)