

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JANJA KOTNIK

**DOLOČANJE STABILNOSTI MAGISTRALNO  
IZDELANIH SIRUPOV S KLOKSACILINOM IN  
KLINDAMICINOM ZA OTROKE**

MAGISTRSKA NALOGA

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO



JANJA KOTNIK

**DOLOČANJE STABILNOSTI MAGISTRALNO IZDELANIH  
SIRUPOV S KLOKSACILINOM IN KLINDAMICINOM ZA  
OTROKE**

**DETERMINING THE STABILITY OF  
EXTEMPORANEOUSLY PREPARED SYRUPS WITH  
CLOXACILLIN AND CLINDAMYCIN FOR CHILDREN**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2016

Eksperimentalni del magistrske naloge sem opravljala na Katedri za farmacevtsko tehnologijo Fakultete za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin in somentorstvom Simone Mitrovič, mag. farm., spec. Vsi sirupi, ki smo jih analizirali, so bili pripravljani v Lekarni UKC Ljubljana.

## **Zahvala**

*Iskreno se zahvaljujem mentorici prof. dr. Mirjani Gašperlin in somentorici Simoni Mitrovič, mag. farm., spec., za vso pomoč, potrpežljivost, strokovne nasvete in usmeritve tekom izdelave in pisanja magistrske naloge.*

*Največja zahvala gre mojim staršem in vsem domačim za vso nesebično podporo, spodbudne besede, razumevanje in potrpežljivost v času celotnega študija. Hvala tudi prijateljem za vse prijetne in zabavne trenutke.*

## **Izjava**

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin in somentorstvom Simone Mitrovič, mag. farm., spec.

Janja Kotnik

Ljubljana, marec 2016

Predsednik komisije: prof. dr. Aleš Mrhar

Član komisije: asist. dr. Stane Pajk

# KAZALO VSEBINE

<b>POVZETEK</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>viii</b>
<b>SEZNAM OKRAJŠAV</b> .....	<b>x</b>
<b>1 UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 NAČRTOVANJE USTREZNEGA ODMERKA UČINKOVINE PRI OTROCIH...</b>	<b>1</b>
1.1.1 Smernice odmerjanja zdravil pri otrocih .....	2
1.1.1.1 DOLOČITEV ODMERKA UČINKOVINE GLEDE NA STAROST .....	3
1.1.1.2 DOLOČITEV ODMERKA UČINKOVINE GLEDE NA TELESNO MASO .....	3
1.1.1.3 DOLOČITEV ODMERKA UČINKOVINE GLEDE NA TELESNO POVRŠINO .....	4
1.1.1.4 ALOMETRIČNO SKALIRANJE .....	4
1.1.1.5 TEHNIKE MODELIRANJA IN SIMULACIJE V PEDIATRIJI .....	5
1.1.2 Farmakokinetika pri otrocih .....	5
1.1.2.1 ABSORPCIJA .....	5
1.1.2.2 DISTRIBUCIJA .....	7
1.1.2.3 METABOLIZEM .....	8
1.1.2.4 ELIMINACIJA .....	9
1.1.3 Farmakodinamika pri otrocih .....	10
<b>1.2 NAČRTOVANJE IN OBLIKOVANJE USTREZNE FARMACEVTSKE OBLIKE ZA OTROKE</b> .....	<b>10</b>
1.2.1 Tekoče farmacevtske oblike .....	11
1.2.1.1 SIRUPI .....	12
1.2.2 Trenutna praksa izdelave tekočih magistralnih pripravkov .....	12
1.2.3 Tveganja pri izdelavi magistralnih pripravkov .....	13
1.2.3.1 ZAGOTAVLJANJE STABILNOSTI .....	13
1.2.3.2 SKRB ZA VARNOST PRI UPORABI POMOŽNIH SNOVI .....	15
<b>2 NAMEN DELA</b> .....	<b>16</b>
<b>3 EKSPERIMENTALNO DELO</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1 MATERIALI</b> .....	<b>17</b>
3.1.1 Uporabljene sestavine za pripravo sirupov .....	17
3.1.1.1 KLOKSACILIN .....	17
3.1.1.2 KLINDAMICIN .....	18
3.1.1.3 Ora-Sweet® in Ora-Plus® .....	18
3.1.2 Uporabljeni reagenti in topila .....	19
3.1.3 Uporabljene aparature in pribor .....	19
<b>3.2 METODE</b> .....	<b>20</b>
3.2.1 Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC) .....	20

3.2.2	Priprava analiznih metod.....	21
3.2.2.1	<i>PRIPRAVA ANALIZNE METODE ZA SIRUPE S KLOKSACILINOM</i> .....	21
3.2.2.2	<i>PRIPRAVA ANALIZNE METODE ZA SIRUPE S KLINDAMICINOM</i> .....	23
3.2.3	Merjenje pH vrednosti.....	24
3.2.4	Določanje reoloških lastnosti .....	24
3.2.5	Obdelava podatkov.....	26
<b>3.3</b>	<b>PRIPRAVA SIRUPOV V LEKARNI UKC LJUBLJANA.....</b>	<b>27</b>
3.3.1	Priprava sirupov s kloksacilinom .....	27
3.3.2	Priprava sirupov s klindamicinom.....	28
<b>3.4</b>	<b>PRIPRAVA VZORCEV ZA ANALIZO S HPLC METODO.....</b>	<b>29</b>
3.4.1	Priprava vzorcev s kloksacilinom.....	29
3.4.2	Priprava vzorcev s klindamicinom .....	30
<b>4</b>	<b><i>REZULTATI IN RAZPRAVA</i> .....</b>	<b>32</b>
<b>4.1</b>	<b>SIRUPI S KLOKSACILINOM .....</b>	<b>32</b>
4.1.1	Razvoj analizne metode .....	32
4.1.2	Stabilnost magistralno izdelanih sirupov s kloksacilinom .....	33
4.1.2.1	<i>DOLOČITEV KINETIKE RAZPADA KLOKSACILINA PRI SOBNI TEMPERATURI</i> ....	35
4.1.2.2	<i>DOLOČITEV KINETIKE RAZPADA KLOKSACILINA V HLADILNIKU</i> .....	38
4.1.3	Spremembe v kemijskih, fizikalnih in organoleptičnih lastnostih .....	38
4.1.3.1	<i>SPREMLJANJE pH VREDNOSTI</i> .....	38
4.1.3.2	<i>SPREMLJANJE REOLOŠKIH LASTNOSTI</i> .....	40
4.1.3.3	<i>SPREMLJANJE ORGANOLEPTIČNIH LASTNOSTI</i> .....	45
<b>4.2</b>	<b>SIRUPI S KLINDAMICINOM .....</b>	<b>46</b>
4.2.1	Razvoj analizne metode .....	46
4.2.2	Stabilnost magistralno izdelanih sirupov s klindamicinom.....	47
4.2.2.1	<i>DOLOČITEV KINETIKE RAZPADA KLINDAMICINA</i> .....	49
4.2.3	Spremembe v kemijskih, fizikalnih in organoleptičnih lastnostih .....	49
4.2.3.1	<i>SPREMLJANJE pH VREDNOSTI</i> .....	49
4.2.3.2	<i>SPREMLJANJE REOLOŠKIH LASTNOSTI</i> .....	51
4.2.3.3	<i>SPREMLJANJE ORGANOLEPTIČNIH LASTNOSTI</i> .....	56
<b>5</b>	<b><i>SKLEP</i>.....</b>	<b>57</b>
<b>5.1</b>	<b>SIRUPI S KLOKSACILINOM .....</b>	<b>57</b>
<b>5.2</b>	<b>SIRUPI S KLINDAMICINOM .....</b>	<b>58</b>
<b>6</b>	<b><i>LITERATURA</i>.....</b>	<b>59</b>
<b>7</b>	<b><i>PRILOGE</i> .....</b>	<b>62</b>

## KAZALO SLIK

<i>Slika 1: Strukturna formula kloksacilina v obliki natrijevega monohidrata (40).....</i>	17
<i>Slika 2: Strukturna formula klindamicina v obliki kloridne soli (41).....</i>	18
<i>Slika 3: HPLC sistem Agilent 1100 .....</i>	20
<i>Slika 4: pH meter Mettler Toledo, Seven Compact.....</i>	24
<i>Slika 5: Reometer Physica MCR 301.....</i>	25
<i>Slika 6: Senzorski sistem stožca in plošče (42).....</i>	25
<i>Slika 7: (a) Viskoznostne krivulje in (b) reogrami za newtonske (1) in ne-newtonske tekočine: pseudoplastične (2) in dilatantne (3) (43).....</i>	26
<i>Slika 8: Pripravljen sirup s kloksacilinom tik pred polnitvijo v vsebnike.....</i>	28
<i>Slika 9: Pripravljen sirup s kloksacilinom polnjen v temne plastične vsebnike z ustrezno signaturo .....</i>	28
<i>Slika 10: Pripravljen sirup s klindamicinom tik pred polnitvijo v vsebnike .....</i>	29
<i>Slika 11: Pripravljen sirup s klindamicinom polnjen v temne plastične vsebnike z ustrezno signaturo .....</i>	29
<i>Slika 12: Skupna umeritvena premica za obe testni raztopini s kloksacilinom .....</i>	32
<i>Slika 13: Upad povprečne koncentracije kloksacilina v sirupih med staranjem pri različnih pogojih shranjevanja.....</i>	34
<i>Slika 14: Umeritvena premica 0. reda reakcije razpada kloksacilina pri sobni T .....</i>	36
<i>Slika 15: Umeritvena premica 1. reda reakcije razpada kloksacilina pri sobni T .....</i>	37
<i>Slika 16: Spreminjanje povprečnih pH vrednosti sirupov s kloksacilinom med staranjem pri različnih pogojih shranjevanja.....</i>	39
<i>Slika 17: Viskoznostne krivulje povprečnih vrednosti viskoznosti sirupov s kloksacilinom pri sobni T v posamezni časovno določeni meritveni točki .....</i>	40
<i>Slika 18: Reogrami povprečnih vrednosti strižnih napetosti sirupov s kloksacilinom pri sobni T v posamezni časovno določeni meritveni točki .....</i>	41
<i>Slika 19: Viskoznostne krivulje povprečnih vrednosti viskoznosti sirupov s kloksacilinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki .....</i>	42
<i>Slika 20: Reogrami povprečnih vrednosti strižnih napetosti sirupov s kloksacilinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki .....</i>	43
<i>Slika 21: Skupna umeritvena premica za obe testni raztopini s klindamicinom.....</i>	46
<i>Slika 22: Spreminjanje povprečne koncentracije klindamicina v sirupih med staranjem pri različnih pogojih shranjevanja.....</i>	48
<i>Slika 23: Spreminjanje povprečnih pH vrednosti sirupov s klindamicinom med staranjem pri različnih pogojih shranjevanja.....</i>	50

<i>Slika 24: Viskoznostne krivulje povprečnih vrednosti viskoznosti sirupov s klindamicinom pri sobni T v posamezni časovno določeni meritveni točki .....</i>	51
<i>Slika 25: Reogrami povprečnih vrednosti strižnih napetosti sirupov s klindamicinom pri sobni T v posamezni časovno določeni meritveni točki .....</i>	52
<i>Slika 26: Viskoznostne krivulje povprečnih vrednosti viskoznosti sirupov s klindamicinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki .....</i>	53
<i>Slika 27: Reogrami povprečnih vrednosti strižnih napetosti sirupov s klindamicinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki .....</i>	54

## KAZALO PREGLEDNIC

<i>Preglednica I: Starostna delitev pediatrične populacije glede na razvojna obdobja (7, 8, 9).....</i>	2
<i>Preglednica II: Rezultati obeh testnih in vseh referenčnih raztopin s kloksacilinom po analizi z metodo HPLC.....</i>	32
<i>Preglednica III: Enačbe posameznih umeritvenih premic in njim pripadajoči <math>R^2</math> za testni raztopini s kloksacilinom.....</i>	33
<i>Preglednica IV: Vsebnost kloksacilina v magistralno izdelanih sirupih, ki so bili shranjeni pri sobni T.....</i>	33
<i>Preglednica V: Vsebnost kloksacilina v magistralno izdelanih sirupih, ki so bili shranjeni v hladilniku.....</i>	34
<i>Preglednica VI: Enačbe umeritvenih premic, njim pripadajoči <math>R^2</math> in konstante reakcijske hitrosti razpada kloksacilina po kinetiki 0. reda za posamezen sirup pri sobni T.....</i>	36
<i>Preglednica VII: Enačbe umeritvenih premic, njim pripadajoči <math>R^2</math> in konstante reakcijske hitrosti razpada kloksacilina po kinetiki 1. reda za posamezen sirup pri sobni T.....</i>	37
<i>Preglednica VIII: pH vrednosti magistralno izdelanih sirupov s kloksacilinom pri sobni T.....</i>	38
<i>Preglednica IX: pH vrednosti magistralno izdelanih sirupov s kloksacilinom v hladilniku .....</i>	38
<i>Preglednica X: Enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči <math>R^2</math> za povprečne vrednosti strižnih napetosti sirupov s kloksacilinom pri sobni T v posamezni časovno določeni meritveni točki</i>	41
<i>Preglednica XI: Enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči <math>R^2</math> za povprečne vrednosti strižnih napetosti sirupov s kloksacilinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki .....</i>	43
<i>Preglednica XII: Rezultati obeh testnih in vseh referenčnih raztopin s klindamicinom po analizi z metodo HPLC.....</i>	46
<i>Preglednica XIII: Enačbe posameznih umeritvenih premic in njim pripadajoči <math>R^2</math> za testni raztopini s klindamicinom .....</i>	47

<b>Preglednica XIV:</b> Vsebnost klindamicina v magistralno izdelanih sirupih, ki so bili shranjeni pri sobni <i>T</i> .....	47
<b>Preglednica XV:</b> Vsebnost klindamicina v magistralno izdelanih sirupih, ki so bili shranjeni v hladilniku.....	48
<b>Preglednica XVI:</b> pH vrednosti magistralno izdelanih sirupov s klindamicinom pri sobni <i>T</i> .....	50
<b>Preglednica XVII:</b> pH vrednosti magistralno izdelanih sirupov s klindamicinom v hladilniku.....	50
<b>Preglednica XVIII:</b> Enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči $R^2$ za povprečne vrednosti strižne napetosti sirupov s klindamicinom pri sobni <i>T</i> v posamezni časovno določeni meritveni točki.....	52
<b>Preglednica XIX:</b> Enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči $R^2$ za povprečne vrednosti strižne napetosti sirupov s klindamicinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki.....	54



## POVZETEK

Še vedno je prisoten problem zagotavljanja primerne farmacevtske oblike z ustrezno učinkovino in ustreznim odmerkom ter z upoštevanjem vseh fizioloških, farmakokinetičnih in farmakodinamičnih sprememb, ki se pri otrocih zgodijo med razvojem. Pri reševanju tega problema ima pomembno vlogo priprava in uporaba magistralnih zdravil. Protimikrobne učinkovine so ene izmed najpogosteje uporabljenih zdravil pri otrocih. Mednje sodita tudi kloksacilin in klindamicin, ki se magistralno pripravljata v obliki praškov, saj v literaturi ni na voljo ustreznih stabilnostnih študij, ki bi omogočale izdelavo pripravkov v obliki sirupov. Zaradi številnih prednosti, ki jih omogočajo tekoče farmacevtske oblike, je tako potrebna optimizacija trenutne priprave kloksacilina in klindamicina in posledično pridobitev ustreznih informacij o stabilnosti magistralno izdelanih sirupov, saj le tako lahko zagotavljamo varno, učinkovito in kakovostno zdravilo.

Temeljni cilj našega dela je bilo vrednotenje stabilnosti magistralno izdelane suspenzije s kloksacilinom in raztopine s klindamicinom. Kot vehikel pri izdelavi sirupa v obliki raztopine smo uporabili Ora-Sweet<sup>®</sup>. Pri pripravi sirupa v obliki suspenzije pa smo ga kombinirali z Ora-Plus<sup>®</sup> v razmerju 50/50. Za spremljanje stabilnosti magistralno izdelanih sirupov smo s HPLC metodo najprej razvili analizno metodo za posamezno učinkovino. Analizni metodi smo ovrednotili in dokazali, da sta primerni za spremljanje koncentracije posamezne učinkovine po vnaprej določenem časovnem razporedu pri dveh različnih pogojih shranjevanja (pri sobni temperaturi in v hladilniku). Vzorcem smo v enakem časovnem razporedu spremljali tudi pH vrednosti, spremembe v reoloških lastnostih ter spremembe v vonju in videzu. Tako smo še dodatno ovrednotili kemijsko, fizikalno in organoleptično stabilnost sirupov.

Na podlagi rezultatov smo ugotovili, da je sirup s kloksacilinom, ki smo ga shranjevali v hladilniku, kemijsko, fizikalno in mikrobiološko stabilen en mesec, medtem ko je sirup s kloksacilinom, ki smo ga shranjevali pri sobni temperaturi, popolnoma nestabilen. Njegova koncentracija je namreč že tretji dan meritev padla pod zahtevan kriterij stabilnosti. Pri magistralno izdelanem sirupu s klindamicinom pa smo ugotovili ustrezno stabilnost skozi celoten čas staranja. Potrdili smo, da so sirupi s klindamicinom kemijsko, fizikalno in mikrobiološko stabilni dva meseca, tako tisti, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, kot tisti, ki smo jih shranjevali v hladilniku.

**Ključne besede:** otroci, sirup, kloksacilin, klindamicin, stabilnost

## **ABSTRACT**

The problem of providing adequate pharmaceutical form with an appropriate substance and an adequate dose and with taking into account all physiological, pharmacokinetic and pharmacodynamic changes which occur during child's development is still present. Preparation and use of extemporaneously prepared medicines play an important role in the solution to this problem. Antimicrobial substances are one of the most frequently used medicinal products for children. These may include cloxacillin and clindamycin which are extemporaneously prepared in a form of powder, since relevant stability studies that would enable the preparation of formulations in the form of syrup is not available in literature. Because of many advantages provided by liquid dosage forms, it is necessary to optimize the current preparation of cloxacillin and clindamycin and consequently obtain the relevant information about the stability of the extemporaneously prepared syrups, so that we can provide safe, effective and quality medicines.

The essential objective of our work was to evaluate the stability of extemporaneously prepared suspension with cloxacillin and solution with clindamycin. We used Ora-Sweet<sup>®</sup> as an agent in the preparation of syrup in the form of solution. And in the preparation of syrup in the form of suspension it was combined with Ora-Plus<sup>®</sup> on a precise 50/50 basis. At first with the help of HPLC method we developed analytical method for individual substance to monitor the stability of extemporaneously prepared syrups. We evaluated the two analytical methods and demonstrated that they are appropriate for monitoring the concentration of individual substance according to pre-established schedule under two different storage conditions (at room temperature and in a refrigerator). During the same timetable we monitored pH-value of samples, changes in rheological properties and changes in appearance and odor. In this way we additionally evaluated chemical, physical and organoleptic stability of syrups.

Based on the results we determined that syrup with cloxacillin which was stored in a refrigerator is chemically, physically and microbiologically stable for one month, while syrup with cloxacillin which was stored at room temperature was completely unstable. Namely, already on the third day the concentration of that syrup has fallen below the required criteria. But with extemporaneously prepared syrup with clindamycin appropriate stability throughout the period of aging was determined. It was proved that syrups with clindamycin

are chemically, physically and microbiologically stable for two months, both those that were stored at room temperature and also those that were stored in a refrigerator.

**Key words:** children, syrup, cloxacillin, clindamycin, stability

## SEZNAM OKRAJŠAV

A	površina pod kromatografskim vrhom
$\alpha$	kot stožca senzorskega sistema
BU	biološka uporabnost
C	koncentracija
$C_{\max}$	najvišja plazemska koncentracija zdravilne učinkovine
CMC	karboksimetil celuloza
CYP450	encimski sistem citokrom P450
CŽS	centralno-živčni sistem
ECT	ekstracelularna tekočina
FD	farmakodinamika
FK	farmakokinetika
FO	farmacevtska oblika
$\dot{\gamma}$	strižna hitrost
GFR	hitrost glomerulne filtracije
GIT	gastrointestinalni trakt
$\eta$	viskoznost
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
KMP	krvno-možganska pregrada
pH	merilo za koncentracijo oksonijevih ionov v raztopini
$R_o$	polmer stožca senzorskega sistema
$R^2$	determinacijski koeficient
RSD	relativni standardni odmik

T	temperatura
$\tau$	strižna napetost
$t_{90\%}$	čas 10% razpada učinkovine
$t_{\max}$	čas, v katerem je dosežen vrh koncentracije zdravilne učinkovine v plazmi
TM	telesna masa
TP	telesna površina
UKC	Univerzitetni klinični center
$V_D$	volumen distribucije
VZ	vzorec

# 1 UVOD

Pomembno je, da vsakemu pacientu zagotovimo varno, učinkovito in kakovostno zdravilo. Vendar zdravniki se pogosto znajdejo v okoliščinah, ko med zdravili z dovoljenjem za promet nimajo na voljo ali ustrezne učinkovine, ki jo potrebujejo za zdravljenje, ali ustreznega odmerka ali pa primerne farmacevtske oblike. V teh primerih bolniku najpogosteje predpišejo magistralni pripravek, za katerega se odločijo na podlagi bolnikove diagnoze, izkušenj in tudi na podlagi predpisov, ki regulirajo to področje. Tako farmacevt na osnovi recepture pripravi omejeno količino zdravila, prilagojenega in namenjenega specifičnemu posamezniku (1, 2). Še posebej problematična in na področju industrijsko pripravljenih zdravil zapostavljena skupina so otroci. Malo izdelkov je namreč oblikovanih in testiranih posebej za pediatrično uporabo (3).

## 1.1 NAČRTOVANJE USTREZNEGA ODMERKA UČINKOVINE PRI OTROCIH

Nenaklonjenost razvoju novih zdravilnih učinkovin in FO za otroke je posledica različnih dejavnikov, kot so: vprašanje etičnosti kliničnih preskušanj pri otrocih; pomanjkanje centrov z usposobljenimi zdravstvenimi delavci za opravljanje kliničnih preskušanj pri otrocih; slaba finančna donosnost naložb, saj otroci predstavljajo majhen delež v populaciji pacientov; izzivi, ki so povezani s fiziološkim razvojem otroka ter izzivi načrtovanja in oblikovanja ustreznih FO, ki bi pripomogle k boljši complianci (4). Kot farmacevti imamo nalogo, da vsakemu pacientu zagotovimo ustrezno učinkovino, ustrezno FO in ustrezen odmerek učinkovine. Večino otrok tako zdravimo z zdravili, ki so namenjena odraslim in so brez ustreznih podatkov o možnostih in načinu uporabe pri otrocih. Gre za »off label« uporabo oz. uporabo, ki je neskladna s temeljnimi značilnostmi zdravila, ki so navedene v dovoljenju za promet z zdravili (3, 5). V pediatrični populaciji je zelo razširjena tudi uporaba magistralno izdelanih zdravil, ki jih pripravimo v lekarni za specifičnega posameznika po natančno predpisani recepturi. Magistralni pripravki imajo torej pomembno mesto med zdravili, pojavljajo pa se potrebe po dodatni dokumentaciji o farmakokinetiki in farmakodinamiki ter predvsem o obstojnosti, ker večinoma ne vsebujejo konzervansov, stabilizatorjev, emulgatorjev in drugih dodatkov (2, 6).

Iz fiziološkega, FK in FD vidika predstavljajo otroci zelo dinamično skupino (4). Glede na glavne spremembe, ki se pojavijo skozi razvoj, jih lahko razdelimo v več starostnih skupin, ki so predstavljene v *Preglednici I*.

***Preglednica I: Starostna delitev pediatrične populacije glede na razvojna obdobja (7, 8, 9)***

<b><i>Razvojno obdobje</i></b>	<b><i>Starostni razpon</i></b>
Nedonošeni novorojenčki	< 37 tednov nosečnosti
Donošeni novorojenčki	od rojstva do 1 meseca
Dojenčki in malčki	od 1 meseca do 2 let
Otroci	od 2 do 12 let
Mladostniki	od 12 do 16-18 let

Spremembe so najhitrejše predvsem v prvih nekaj tednih in mesecih življenja, znatne pa so tudi v kasnejši dobi rasti, kar lahko v precejšnji meri vpliva na obnašanje učinkovine v telesu in posledično pripelje ali do toksičnih ali do subterapevtskih izidov (3, 4). Najbolj pomembna stvar pri načrtovanju in oblikovanju zdravil za otroke je torej zavedanje, da otroci niso le pomanjšani odrasli, da je pediatrična populacija izrazito nehomogena, in da imajo otroci enake pravice kot odrasli do prejemanja varnih in učinkovitih zdravil, to je dobro preizkušenih učinkovin v pravih odmerkih in pravih časovnih obdobjih, v ustreznih FO, s primerno potjo aplikacije, za ustrezno indikacijo in z ustreznim zdravstvenim nadzorom (3, 6).

### **1.1.1 Smernice odmerjanja zdravil pri otrocih**

Najpogosteje uporabljene, enostavne in hitre metode za ocenitev primerne odmerka učinkovine pri otrocih temeljijo na preračunu že uveljavljenih odmerkov za odrasle. Odmerek za otroka tako lahko določimo s pomočjo otrokove starosti, telesne mase, telesne površine ali uporabimo alometrično skaliranje. Vsak od teh pristopov, uporabljen samostojno, ima precej pomanjkljivosti in ni primeren za vse pediatrične starostne skupine (9, 10, 11).

Prilagajanje odmerkov s pomočjo starosti, TM ali TP je pri otrocih lahko neprimerno, saj temeljijo na linearnem skaliranju odmerkov za odrasle in ne upoštevajo celotnega razvoja telesa in funkcij organov. Ta problem je najbolj izrazit pri novorojenčkih in dojenčkih, saj preprosto skaliranje ne upošteva njihove ontogeneze, ki vsekakor ne poteka enakomerno, v korelaciji s starostjo (9, 12, 13). Ustrezne odmerke za otroke, ki bi bili po učinkovitosti in

varnosti primerljivi z odmerki za odrasle, bi torej lahko pridobili z upoštevanjem fiziološkega razvoja ter vseh razvojnih sprememb v FK in FD, kar bi bilo še posebej primerno pri dolgotrajnih terapijah. Zavedati pa se je treba, da so lahko razlike med otroki in odraslimi tudi v etiologiji in poteku same bolezni, kar bi tudi bilo potrebno upoštevati pri oblikovanju režima odmerjanja pri otrocih (11, 12).

Zgoraj navedene ugotovitve jasno nakazujejo potrebo po optimizaciji razvoja zdravil v pediatrične namene in zahtevo po posebnih tehnikah, s katerimi bi lahko natančno opredelili FK in FD ter s tem varnost in učinkovitost posameznega zdravila pri otrocih. Tehnike modeliranja in simulacije predstavljajo uporabno orodje za optimizacijo oblikovanja zdravil in pridobivanje znanja iz pediatričnih raziskav. Nepoznavanje teh modelov, razdeljena mnenja o njihovi ustreznosti opisovanja fizioloških sistemov ter negotovost v njihovo napovedno moč pa preprečujejo njihovo razširjeno uporabo v praksi (9, 12, 14).

#### *1.1.1.1 DOLOČITEV ODMERKA UČINKOVINE GLEDE NA STAROST*

Starost pacienta je pri določevanju odmerkov za otroke pomembna, saj so med novorojenčki, dojenčki, otroki in mladostniki izrazite razlike v telesni sestavi in razvitosti organov. Prednost tega pristopa je predvsem zelo enostavna uporaba, medtem ko je slabost ta, da predpostavlja dosledno skladnost vsakega razvojnega obdobja z vplivi, ki jih ima razvoj na obnašanje in razpoložljivost učinkovine v telesu. Gre torej za nenatančno odražanje velike FK variabilnosti skozi razvojna obdobja otroka, prav tako pa ne upošteva niti interindividualne variabilnosti TM ali drugih dejavnikov. Danes ta pristop ni v splošni uporabi, saj sama starost ne šteje več kot veljavni kriterij za natančno določanje otrokovega odmerka iz običajnega odmerka za odrasle (8, 10, 11).

#### *1.1.1.2 DOLOČITEV ODMERKA UČINKOVINE GLEDE NA TELESNO MASO*

Ta pristop je eden najpogosteje uporabljenih v klinični praksi in temelji na očitni korelaciji med TM in odmerkom. Tudi njegova velika pomanjkljivost je, da ne upošteva hkratnega nelinearnega spreminjanja FK parametrov in ostalih interindividualnih sprememb. Vendar rezultati raziskav kažejo, da je določitev odmerka glede na TM pri novorojenčkih in dojenčkih izmed vseh najenostavnejših pristopov še najbolj varna in daje najboljše približke ustreznih odmerkov, medtem ko pri mladostnikih in močnejših otrocih tvegamo nastop toksičnih učinkov. Da bi se izognili neželenim učinkom, povezanih s koncentracijami



zdravilne učinkovine izven terapevtskega območja (previsokih ali prenizkih), bi bilo potrebno določiti maksimalno in minimalno TM (10, 11, 12).

#### *1.1.1.3 DOLOČITEV ODMERKA UČINKOVINE GLEDE NA TELESNO POVRŠINO*

Temelj tega pristopa predstavlja korelacija med TP in razvojem fizioloških procesov. Prednost je večja natančnost pri izračunavanju odmerkov in s tem tudi zmanjšano tveganje za predoziranje pri starejših otrocih v primerjavi z režimi odmerjanja, ki temeljijo samo na TM. Glavni pomanjkljivosti te metode pa sta: težaven način izračuna TP zaradi kompleksnosti številnih formul, ki so na voljo, in možnost dosega toksičnih koncentracij učinkovine pri novorojenčkih in dojenčkih. Pri njih je površina kože v primerjavi s TM veliko večja kot pri starejših otrocih in tako lahko odmerki, preračunani glede na TP, precej presegajo ustrezne vrednosti (10, 11, 13, 15).

#### *1.1.1.4 ALOMETRIČNO SKALIRANJE*

Alometrično skaliranje predstavlja enega zanesljivejših načinov določevanja nelinearne povezave med odmerkom in TM. S pomočjo eksponentne enačbe lahko iz vrednosti pri odraslih predvidevamo FK parametre pri otrocih (najpogosteje očišček) in iz teh preračunamo ustrezne odmerke. Za pridobitev pediatričnih vrednosti očiščka učinkovine s pomočjo skaliranja vrednosti pri odraslih je postavljena fiksna vrednost eksponenta. Obstajajo številne kritike, ki pravijo, da uporaba različnih vrednosti eksponenta pri različnih starostnih skupinah pediatrične populacije privede do boljših napovedi. V obeh primerih ostaja razmerje med očiščkom in TM konstantno znotraj skupine posameznikov z enako TM in ne upošteva številnih interindividualnih sprememb. Prav tako sama TM ne upošteva mnogih funkcionalnih in fizioloških sprememb, ki se pojavljajo skozi otrokov razvoj, še posebej pri novorojenčkih in dojenčkih. Ta metoda lahko dobro napoveduje povprečne vrednosti, medtem ko je napovedovanje očiščka ali odmerka za specifičnega posameznika nepredvidljivo. Študije nakazujejo, da je mogoča dobra klinična uporabnost pri starejših otrocih in mladostnikih, pri katerih je telesna sestava in zrelost organov primerljiva z odraslimi. Pri mlajših otrocih in dojenčkih pa ima ta pristop zaradi intenzivnih sprememb v razvoju veliko manjšo vrednost (10, 11, 12, 13, 14).

### 1.1.1.5 TEHNIKE MODELIRANJA IN SIMULACIJE V PEDIATRIJI

Tehnike modeliranja in simulacije postajajo močno orodje pri napovedovanju učinkov zdravil v različnih pogojih, vključno z ekstrapolacijo podatkov *in vitro* v *in vivo*, iz živali na človeka, iz zdravega na bolezensko stanje ter številnih drugih. Uporabljajo se lahko kot orodje za pomoč pri sprejemanju odločitev, kot orodje za optimizacijo raziskav ali kot orodje za analizo podatkov. Predstavljajo dober alternativni pristop pri razvoju pediatričnih zdravil, od utemeljevanja prilagajanja odmerkov do pridobivanja ustreznih informacij o učinkovitosti in varnosti zdravil. Omogočajo individualizacijo zdravljenja pri otrocih in s tem izboljšanje razmerja med učinkovitostjo in tveganjem za nastop toksičnih učinkov (16).

Velika prednost oblikovanja teh modelov v razvoju pediatričnih zdravil je možnost simulacije različnih scenarijev pred vključitvijo otrok v sam postopek kliničnih raziskav in tako izognitev ogrožanju njihovega dobrega počutja. S tehnikami modeliranja in simulacije lahko pridobimo osnovne FK, FD in fiziološke podatke pri otrocih in opredelimo vse dodatne spremenljivke, s katerimi lahko ocenimo in pojasnimo variabilnost. Omogočajo nam preučevanje dogajanja pri okvarjenih organih in ekstrapolacijo ustreznih podatkov pri odraslih in mladostnikih na otroke ter njihovo združevanje s predkliničnimi podatki pri otrocih. Klinične raziskave posledično zahtevajo manjše število vzorcev, izbor priročnih časov vzorčenja in števila bolnikov ter tako zmanjšanje stresa, bolečine in strahu pri pacientih. Kasneje pa lahko s pomočjo teh pristopov vodimo prilagajanje odmerkov ob upoštevanju sprememb pri zdravljenju, oblikovanju zdravil in kombiniranju različnih učinkovin (9, 16, 17, 18, 19).

## 1.1.2 Farmakokinetika pri otrocih

### 1.1.2.1 ABSORPCIJA

Številni faktorji, ki vplivajo na absorpcijo in biološko uporabnost učinkovine pri pediatrični populaciji, so povezani s potjo aplikacije. Najpomembnejše poti absorpcije, kjer se pojavljajo ključne spremembe, ki jih je potrebno upoštevati pri oblikovanju odmerkov za otroke, so peroralna, intramuskularna, rektalna in perkutana pot (11).

#### *Peroralna absorpcija*

Najpomembnejši vpliv na hitrost in obseg peroralne absorpcije imajo fiziološke spremembe v gastrointestinalnem traktu (sekrecija želodčne kisline, motiliteta prebavil, razvoj

presnovnih encimov v črevesni steni), ki potekajo v prvih nekaj tednih življenja (7). Pri donošenih novorojenčkih se pH vrednosti želodčne kisline ob rojstvu gibljejo med 6 in 8 (pri nedonošenih novorojenčkih je obdobje teh vrednosti pH podaljšano), v naslednjih nekaj urah pa padejo na 2–3. Po naslednjih 24 urah življenja začne pH ponovno naraščati do bolj nevtralnih vrednosti (pH znaša 6–7) zaradi nezrelosti parietalnih celic, ki so odgovorne za izločanje želodčne kisline. Pri teh vrednostih ostane okoli 10 dni, nato začne pH postopoma padati. Vrednosti pri odraslih se dosežejo v naslednjih 20–30 mesecih (4, 7, 10). Fizikalno kemijske lastnosti učinkovine so v takšnem okolju torej spremenjene, kar vpliva na obseg absorpcije. Da se učinkovina absorbira, mora biti v neionizirani obliki, kar pomeni, da bo obseg absorpcije bazičnih učinkovin v bolj alkalnem okolju povečan, medtem ko bo pri kislih učinkovinah zmanjšan, kar je ravno nasprotno kot pri mladostnikih in odraslih (7, 10).

Hitrost absorpcije je opredeljena s časom praznjenja želodca in motiliteto črevesja (7). Čas praznjenja želodca je takoj po porodu podaljšan tako pri donošenih kot pri nedonošenih novorojenčkih (vrednostim pri odraslih se približa v prvih 6–8 mesecih življenja), kar vodi v zakasnjeno absorpcijo in s tem v podaljšan in nepredvidljiv čas ( $t_{max}$ ) dosega najvišje koncentracije ( $C_{max}$ ) zdravilne učinkovine v plazmi. Prav tako je pri novorojenčkih podaljšan tudi čas prehoda skozi črevesje zaradi zmanjšane motilitete in peristaltike, ki pa se v obdobju enega leta precej povečata (10, 20). Ostali dejavniki, ki vplivajo na absorpcijo v črevesju in na katerih bi prav tako morale temeljiti načrtovanje in oblikovanje zdravil pri novorojenčkih in dojenčkih, so: nezrelost črevesne sluznice, kar vodi v njeno večjo prepustnost; nezrelost žolčne funkcije, ki se kaže v zmanjšani sposobnosti solubilizacije in absorpcije lipofilnih učinkovin; nezrelost transportnih mehanizmov; zmanjšana količina presnovnih encimov, ki privedejo do višjih frakcij absorpcije nekaterih učinkovin; zmanjšan metabolizem prvega prehoda in nezrela črevesna mikroflora (4, 10). Pomemben vpliv pri dojenčkih ima tudi pogosto hranjenje, zaradi katerega se je težko izogniti interakcijam med hrano in zdravili (11).

### ***Intramuskularna absorpcija***

BU zdravil, apliciranih intramuskularno, je odvisna od mišičnega krvnega pretoka in mišičnih kontrakcij. Intramuskularna absorpcija je pri novorojenčkih počasnejša in nepredvidljiva zaradi zmanjšane skeletne mišične mase, zmanjšanega mišičnega krvnega pretoka, ki v prvih 2–3 tednih življenja precej niha, in neučinkovitih mišičnih kontrakcij (7,

21). Načeloma se tej aplikaciji pri otrocih izogibamo, saj je boleča in stresna, FK je nepredvidljiva, tveganje zapletov pa je povečano (7, 10).

### ***Rektalna absorpcija***

Rektalna absorpcija je lahko pri novorojenčkih upočasnjena in nepredvidljiva, kljub temu pa predstavlja zelo uporabno pot aplikacije, kadar drugi načini niso možni (7). Lokalne vrednosti pH v rektumu so pri odraslih blizu nevtralnih, medtem ko so pri večini otrok bolj alkalne (10). Na BU zdravila pri rektalni aplikaciji lahko vplivata tudi metabolizem prvega prehoda in pogostost defekacije. Pri dojenčkih je število mišičnih kontrakcij v črevesju veliko večje kot pri odraslih, kar lahko pripelje do prekomernega odvajanja učinkovine in s tem zmanjšanja absorpcije (7).

### ***Perkutana absorpcija***

Na perkutano absorpcijo učinkovin vplivajo spremembe v strukturi, perfuziji in hidrataciji kože (7). Pri novorojenčkih (predvsem nedonošenih) in dojenčkih poteka perkutana absorpcija hitreje in v večjem obsegu, saj je njihova poroženela plast povrhnjice kože (stratum corneum) v primerjavi s starejšimi otroki in mladostniki veliko tanjša, bolj prepustna, slabo keratinizirana in veliko bolj hidrirana (7, 10). Perkutana prepustnost naj bi bila pri nedonošenčkih 100–1000x večja kot pri donošenih novorojenčkih in se slednji približa v prvih dveh tednih postnatalnega življenja (11). Pri otrocih je zaradi veliko večjega razmerja med TP in TM v primerjavi z odraslimi bistveno večja tudi sistemska izpostavljenost in lahko vodi do toksičnih učinkov. Pri starejših otrocih lahko significantne spremembe v absorpciji učinkovine pričakujemo le v primerih obsežnih poškodb ali vnetij kože (7).

#### ***1.1.2.2 DISTRIBUCIJA***

Na distribucijo učinkovin pri pediatričnih bolnikih vplivajo različne stopnje dozorelosti organov, krvni pretok, delež ekstracelularne tekočine, delež telesnih maščob, različna stopnja prepustnosti celic v tkivih in različna bolezenska stanja. Deleža intra- in ekstracelularne tekočine sta pri novorojenčkih in dojenčkih v primerjavi z odraslimi veliko večja in z razvojem padata, medtem ko delež telesnih maščob z razvojem narašča (4, 12). Ta pri približno dveh letih zaradi večje fizične aktivnosti pade, poveča pa se mišična masa. Pri nedonošenčkih predstavlja skupna telesna tekočina okoli 85 % celotne TM, pri donošenih novorojenčkih 70–80 %, okoli petega meseca pade na 60 %, pri odraslih pa znaša 50–60 %.

Medtem ECT predstavlja okoli 45 % TM pri novorojenčkih in 20 % pri odraslih. Volumen ECT je še posebej velik pri novorojenčkih z nizko porodno maso. Telesne maščobe pri donošenih novorojenčkih pa predstavljajo 10–15 % celotne TM, medtem ko pri nedonošenčkih le približno 1 % (10, 12, 22, 23). Hidrofilne učinkovine bodo torej zaradi večjega deleža ECT pri novorojenčkih in dojenčkih v primerjavi z malčki, starejšimi otroki in odraslimi imele večji volumen distribucije ( $V_D$ ) na kilogram TM in s tem nižje plazemske koncentracije. Zaradi spremenljivega deleža telesnih maščob bo pri pediatričnih bolnikih variiral tudi  $V_D$  lipofilnih učinkovin (4, 7, 12).

Naslednji pomemben dejavnik, ki vpliva na  $V_D$  učinkovine, je vezavna kapaciteta plazemskih proteinov. Zmanjšane koncentracije in nezrelost plazemskih vezavnih proteinov, kot so albumini in  $\alpha_1$ -kislil glikoproteini, se kaže s povečano koncentracijo proste učinkovine v plazmi (še posebej tiste, ki je visoko vezana na plazemske proteine), kar povzroči povečanje  $V_D$  učinkovine in lahko pripelje do neželenih učinkov pri novorojenčkih in dojenčkih. Hkrati je potrebno upoštevati tudi možnost povečanja očistka in s tem stabilizacijo nevezane učinkovine in zmanjšano tveganje za nastop toksičnih učinkov (4, 10, 12).

Do zmanjšanih koncentracij vezavnih proteinov v plazmi lahko pripeljejo tudi nekatera bolezenska stanja, kot so nefrotski sindrom, podhranjenost in številne jetrne bolezni. Prav tako lahko koncentracija proste učinkovine naraste zaradi povečanih koncentracij bilirubina, ki tekmuje za vezavna mesta in iz njih izpodrine učinkovino (7, 22). Spremembe v  $V_D$  se lahko zaradi nedozorelosti in s tem večje permeabilnosti krvno-možganske pregrade pri novorojenčkih v primerjavi s starejšimi otroki pojavijo tudi v možganih, kar lahko vodi do povečanja učinkov nekaterih učinkovin in tveganja za nastop neželenih učinkov (10).

### 1.1.2.3 METABOLIZEM

Največji del metabolizma izvedejo presnovni encimi v jetrih, v manjšem obsegu so prisotni tudi v steni GIT in ledvicah. Jetra ob rojstvu predstavljajo 5 % TM, medtem ko pri odraslih le 2 % (7, 21). Razlike v presnovi zdravil zaradi razvoja se lahko pojavijo tako pri jetrnih encimih I. faze (oksidacije s CYP450) kot pri encimih II. faze (konjugacije). Presnovni encimi so pri novorojenčkih in dojenčkih lahko povsem odsotni ali pa so prisotni v precej nižjih količinah kot pri starejših otrocih in odraslih, njihova aktivnost pa dosega 20–70 % tiste pri odraslih. Pri nedonošenčkih je lahko razvoj presnovnih encimov zakasnen.

Posledično se torej pri novorojenčkih in dojenčkih večina zdravil izloča počasneje, zato je pomembno, da so na začetku odmerki zdravil zelo majhni. Po prvem letu starosti večina jetrnih encimov dozori in presnova postane v veliki meri konstantna skozi celotno otroštvo. Presnova zdravil je najhitrejša ravno pri šoloobveznih otrocih in mladostnikih, nato pa se s starostjo zmanjšuje (7, 10, 12).

Izrazite spremembe v ekspresiji CYP450 se pojavijo že med nosečnostjo ter nato v prvih nekaj urah, tednih in mesecih po rojstvu (7). Na podlagi *in vitro* in *in vivo* raziskav so bile med razvojem opažene tri vrste sprememb teh encimov: visoka ekspresija encimov med ali kmalu po rojstvu, nato pa v prvih letih življenja znatno zmanjšanje; konstantna raven encimov v času nosečnosti z možnimi spremembami ob rojstvu; ali pa med nosečnostjo encimi niso izraženi in se njihova raven znatno poveča v prvih letih življenja (4). Izoencima CYP3A7 in CYP4A1 sta v jetrih človeškega plodu prisotna v visokih koncentracijah in aktivno presnavljata endogene snovi, medtem ko sta pri odraslih izražena v zelo nizkih ali nezaznavnih koncentracijah. Koncentracije CYP3A7 v prvem tednu po rojstvu hitro upadejo, pride pa do povečanja koncentracij CYP3A4. Najpogostejši izoencim CYP3A pri odraslih (CYP3A4) je torej skoraj nezaznaven pri novorojenčkih. Izoencimi CYP2C, CYP2B, CYP1A2, CYP2D6 in CYP2E1 se ob rojstvu prav tako pojavljajo v nizkih koncentracijah in dosežejo ravnovesje nekje do prvega leta starosti (4, 12). Interindividualne spremembe v razvoju vplivajo tudi na encime II. faze metabolizma, ki pri novorojenčkih in dojenčkih zaradi nezrelosti in zmanjšanih koncentracij prav tako izkazujejo zakasnjeno delovanje. Vrednostim pri odraslih se približajo v prvih 3 do 6 mesecih življenja (12, 22). Ker so torej v prvih nekaj mesecih življenja encimi obeh faz metabolizma še nedozoreli, je pridobivanje odmerkov za otroke s pomočjo skaliranja odmerkov pri odraslih pri učinkovinah, ki se obsežno presnavljajo v jetrih, neprimerno. V teh zgodnjih fazah bi tako bilo dobro začeti zdravljenje z zelo majhnimi odmerki s hkratnim spremljanjem odziva na zdravljenje in očistka učinkovine, katerim bi glede na klinične potrebe sledilo povečanje odmerka (4).

#### 1.1.2.4 ELIMINACIJA

Zorenje ledvične funkcije se začne med organogenezo človeškega plodu in se zaključi v zgodnjem otroštvu (10). Razvojne spremembe v delovanju ledvic, zlasti v glomerulni filtraciji in tubularni sekreciji, pomembno vplivajo na ledvično izločanje številnih zdravil.

Pri določevanju odmerka učinkovine bi med drugim morali upoštevati tudi glavno pot izločanja učinkovine, saj bi v nasprotnem primeru lahko prišlo do akumulacije učinkovine v telesu in posledično do nastopa toksičnih učinkov (4, 7, 8).

Hitrost glomerulne filtracije znaša pri donošenih novorojenčkih okoli 2–4 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, medtem ko pri nedonošenčkih okoli 0.6–0.8 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. Zaradi prilagoditvenih sprememb v ledvičnem krvnem pretoku in v koncentraciji zrelih in delujočih nefronov v prvih 2–3 tednih po rojstvu, ta pri donošenih novorojenčkih hitro naraste na 70 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, pri nedonošenčkih pa na 20 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> (pri teh je pogojena predvsem s hitrostjo razvoja nefronov po rojstvu). Po približno treh mesecih starosti lahko GFR preseže vrednosti pri odraslih in jih ponovno doseže pri dveh letih starosti, ko proces glomerulne filtracije dozori (7, 10).

Ob rojstvu je zmanjšana tudi renalna tubularna sekrecija, ki se v primerjavi z glomerulno filtracijo povečuje počasneje, vendar dozori in doseže vrednosti pri odraslih že pri 8–12 mesecih starosti (7, 10). Medtem izsledki glede tubularne reabsorpcije kažejo, da sta razvoj in zorenje te ledvične funkcije postopna in kontinuirana od rojstva do obdobja adolescence, ključna faza zorenja pa se zgodi okoli tretjega leta starosti (20, 21).

### **1.1.3 Farmakodinamika pri otrocih**

Tako kot v FK se pojavljajo razlike tudi v FD. Te so lahko posledica razvojnih sprememb v koncentraciji receptorjev, njihovi afiniteti, v perfuziji tarčnega tkiva ali v prenosu signalov. V nekaterih primerih so receptorji pri otrocih celo popolnoma odsotni in posledično ni opaziti nobenega farmakološkega odziva. Seveda pa se lahko spremembe v FD pri otrocih pokažejo tudi v obliki neželenih učinkov. Otroci v razvoju so lahko precej bolj občutljivi na toksične učinke zdravil kot kasneje mladostniki in odrasli. Tako lahko torej pride ali do zožitve ali do razširitve terapevtskega okna učinkovine in posledično povečanja ali zmanjšanja verjetnosti za pojav neželenih učinkov v primerjavi z odraslimi (24, 25).

## **1.2 NAČRTOVANJE IN OBLIKOVANJE USTREZNE FARMACEVTSKE OBLIKE ZA OTROKE**

Idealna FO za otroke bi vsebovala minimalen odmerek učinkovine, s katerim bi dosegli želeni farmakološki učinek brez tveganja za nastop neželenih učinkov. Poleg tega bi

vsebovala minimalno količino pomožnih snovi, omogočala bi minimalno pogostost odmerjanja in imela minimalen vpliv na življenjski slog. Ustrezala bi vsem starostnim skupinam in zagotavljala priročno, enostavno in zanesljivo odmerjanje in aplikacijo. Prav tako bi bila stabilna, enostavna za proizvodnjo in poceni, a vendar ekonomsko donosna (12, 26).

Ustrezne količine učinkovine za otroke se skozi posamezna razvojna obdobja precej spreminjajo, zato je pomembno, da imamo na voljo FO, ki nam omogoča enostavno in natančno odmerjanje. Pravilno načrtovanje in oblikovanje zahteva upoštevanje fizikalnih, kemijskih in bioloških lastnosti vseh učinkovin in pomožnih snovi, ki sestavljajo določeno FO. Uporabljene sestavine morajo biti med seboj kompatibilne, da dobimo zdravilo, ki je stabilno, učinkovito in enostavno za uporabo. Slaba sprejemljivost zdravila med bolniki vpliva na komplanco, prakso predpisovanja zdravil in posledično tudi na ekonomsko donosnost (26, 27).

Otrokova starost, njegova sposobnost zaužitja trdne FO, jakost zdravila ter tudi okus in vonj imajo pri oblikovanju ustreznega zdravila za otroke zelo pomembno vlogo (28). Novorojenčki, dojenčki in otroci, mlajši od petih let, imajo precej težav s požiranjem trdnih FO (tablet in kapsul), kar pogosto rešimo z lomljenjem oz. rezanjem tablet ali z magistralno pripravo peroralnih tekočih FO (raztopin, suspenzij, sirupov), kjer tablete, kapsule ali uprašeno učinkovino raztopimo ali dispergiramo v ustreznem mediju. Veliko učinkovin namreč ni na voljo v ustreznih FO za otroke (7, 27). Pripravo magistralnih zdravil spremljajo (zaradi pomanjkanja validacije in standardizacije postopkov izdelave ter pomanjkanja informacij o stabilnosti in enakomernosti vsebnosti učinkovine) tudi številni problemi, ki so povezani z natančnostjo odmerjanja, ponovljivostjo izdelave in posledično varnostjo, učinkovitostjo in kakovostjo zdravila (29).

### **1.2.1 Tekoče farmacevtske oblike**

Za večino bolnikov imajo tekoče FO v primerjavi s trdnimi, kot so tablete in kapsule, številne prednosti. Pri bolnikih, ki imajo težave s požiranjem, zagotavljajo večjo komplanco, omogočajo boljši nadzor pri odmerjanju zdravila in tudi pri prilagajanju odmerka v primerjavi s fiksnim odmerkom v tabletah, ne potrebujejo časa za raztapljanje in omogočajo hitro absorpcijo skozi tanko črevo, kar pa je tudi nevarno, saj lahko presežejo predvideno  $C_{max}$ . Odvisno od topnosti in stabilnosti zdravilne učinkovine in lastnosti vehikla (površinska



napetost, viskoznost) so lahko tekoče FO oblikovane kot raztopine, suspenzije ali emulzije. Pomembno vlogo pri oblikovanju stabilne, učinkovite in tudi okusne tekoče FO imajo različne pomožne snovi, vključno z vehikli, stabilizatorji, solubilizatorji, modifikatorji viskoznosti, konzervansi, sladili, barvili ter korigensi vonja in okusa (30).

### 1.2.1.1 SIRUPI

Sirupi so najbolj znane in najpogosteje uporabljene tekoče FO pri otrocih. Gre za precej viskozne in sladke pripravke, saj jih sestavlja velik delež saharoze ali katerega drugega sladkorja (vsaj 45 % m/m), raztopljenega v vodi. Pri otrocih je to velika prednost, saj lahko z veliko količino sladil in najrazličnejšimi aromami uspešno prekrijemo neprijeten okus ali vonj zdravila in s tem dosežemo boljšo complianco. Nekatere sirupe najdemo na trgu že v končni obliki z vsebovano zdravilno učinkovino, lahko pa jih uporabljamo tudi kot vehikle pri magistralni izdelavi zdravil za otroke. Slednji zdravilne učinkovine ne vsebujejo, imajo pa dodane različne arome (31, 32, 33).

Sirup moramo pred vsako uporabo dobro pretresti, saj se tako izognemo večjim napakam pri odmerjanju. Učinkovina v sirupu namreč pogosto ni topna in se lahko čez čas usede na dno vsebnika. Poleg tega je pomembno, da odmerek sirupa vedno natančno izmerimo, pri čemer si pomagamo s priloženo 5 mL odmerni žličko ali kapalko. Po vsaki uporabi moramo vsebnik dobro zapreti in s tem preprečiti morebitno kvarjenje zdravila zaradi prisotnosti kisika. Pozorni moramo biti tudi na pogoje shranjevanja (sobna temperatura ali hladilnik) in datum izteka roka uporabnosti po odprtju sirupa, saj lahko ob neupoštevanju vplivamo na učinkovitost zdravila (33).

### 1.2.2 Trenutna praksa izdelave tekočih magistralnih pripravkov

Magistralno izdelavo tekočih FO za otroke navadno pričnemo z upraševanjem tablet ali praznjenjem vsebine kapsul v pateno ali terilnico. Prašnim delcem v pateni ali terilnici dodamo majhno količino ustrezno izbranega vehikla (voda, etanol, glicerol, olje) in dobro premešamo, da se oblikuje gladka pasta. Preostalo količino vehikla dodajamo po delih in vseskozi mešamo, dokler ne dobimo končnega produkta. Na koncu magistralni pripravek polnimo v primeren vsebnik in ustrezno označimo (34, 35). Za zaščito vsebine običajno uporabljamo temne stekleničke ali plastenke s kapalko, s katero zmanjšamo možnost kontaminacije pripravka. Zagotavljati moramo tudi pogoje shranjevanja, ki jih magistralni

pripravek zahteva. Če je potrebno hlajenje, zdravilo shranjujemo v hladilniku pri temperaturi med 2 do 8 °C, v nasprotnem primeru pa pri sobni temperaturi med 15 do 25 °C (36).

### 1.2.3 Tveganja pri izdelavi magistralnih pripravkov

**Lomljenje oz. rezanje tablet** za pridobitev nižjih odmerkov predstavlja enostavno rešitev, še posebej, če je tableta oblikovana s tem namenom in ima razdelilno zarezo. Previdnost pa je potrebna pri odmerkih, pridobljenih s tem načinom pri tabletah brez zarez, saj lahko pri teh odmerki variirajo med 50–150 % željene vrednosti, kljub morebitni uporabi naprave za rezanje tablet. Poleg tega ta pristop ni primeren pri FO s prirejenim sproščanjem, saj s tem vplivamo na profil sproščanja učinkovine in posledično na terapevtski učinek. Deljenje tablet ni primerno niti pri učinkovinah z ozkim terapevtskim oknom ali pri citotoksičnih zdravilih (1, 29).

Uporaba **procesa raztapljanja ali dispergiranja** je v primerjavi z lomljenjem oz. rezanjem tablet za osebo, ki oskrbuje otroka, varnejše, saj ni izpostavljena inhalaciji potencialno škodljivih prašnih delcev. Pripravljen odmerek je po raztopitvi ali dispergiranju potrebno takoj zaužiti, saj je dolgotrajna stabilnost vprašljiva. Tudi ta pristop pri FO s prirejenim sproščanjem ni uporaben, saj prav tako vplivamo na profil sproščanja učinkovine. Če potrebujemo nižjo jakost odmerka, tvegamo nenatančno odmerjanje, saj lahko pride do nepopolnega raztapljanja ali do sedimentacije učinkovine, zato je potrebno pripravek pred vsako uporabo dobro pretresti (1, 29).

Pri magistralni izdelavi zdravil se lahko pojavijo tudi problemi, povezani s stabilnostjo učinkovine in inkompatibilnostjo vhodnih sestavin, tako učinkovin kot pomožnih snovi. V splošnem velja, da bolj kot je sestava zdravila kompleksna, večje je tveganje za pojav težav, zato je dobro, da magistralna izdelava ostane čim bolj enostavna (1).

#### 1.2.3.1 ZAGOTAVLJANJE STABILNOSTI

##### **Mikrobiološka kontaminacija**

Rast mikroorganizmov povzroči kvarjenje peroralnih tekočih FO, kar se lahko kaže s spremembo organoleptičnih lastnosti pripravka. Pojavijo se lahko motnost, neprijeten vonj in okus. Visoke koncentracije mikroorganizmov so lahko zdravju zelo nevarne, še posebej pri otrocih in imunsko oslabljenih bolnikih. Prisotnost mikroorganizmov in njihovih metabolitov lahko povzroči spremembo pH pripravka in zmanjša kemijsko stabilnost ali

topnost učinkovine. Uporaba konzervansov postane tako skoraj neizogibna. Sprememba pH pripravka pa lahko vpliva na učinkovitost konzervansov, saj je optimalno delovanje posameznega konzervansa odvisno od specifičnega pH. Učinkovitost antimikrobne aktivnosti lahko zmanjšajo tudi številni drugi dejavniki: slaba topnost konzervansa v vehiklu, uporaba kontaminiranih materialov, nepravilno shranjevanje, nehygienična uporaba končnega produkta in tudi prisotnost drugih sestavin z lastnimi sposobnostmi konzerviranja (sirupi). Pripravke s konzervansi je potrebno hraniti v hladilniku največ 28 dni, pripravke brez konzervansov pa največ 7 dni (1, 27, 29, 30).

### ***Kemijska stabilnost***

Učinkovine v magistralno izdelanih tekočih FO so lahko dovzetne za kemijske reakcije, ki vodijo v razgradnjo. Najpogosteje prihaja do hidroliz, oksidacij in redukcij. Izpostavljenost pripravka svetlobi in kisiku lahko vodi do fotokemične razgradnje ali oksidacije, medtem ko lahko sprememba temperature in pH pomembno vpliva na hitrost hidrolize. Oksidacijo učinkovine lahko katalizirajo tudi prisotne minimalne količine kovin. Da bi se oksidaciji izognili, si lahko pomagamo z antioksidanti. Za preprečitev sprememb pH v času shranjevanja pripravkov pa pogosto uporabljamo puferske raztopine. Dodatno lahko upočasnimo hitrost kemijskih reakcij s shranjevanjem pripravka v hladilniku, vendar pa se lahko pri teh pogojih spremeni gostota vehikla, kar lahko oteži resuspendiranje in odmerjanje pripravka (27, 29).

### ***Fizikalna stabilnost***

Magistralno pripravljene peroralne suspenzije kažejo fizikalno nestabilnost, ki jo lahko izmerimo s hitrostjo sedimentacije trdnih neraztopljenih delcev. Sestava FO mora zagotoviti, da se delci ne posedejo prehitro in da se na dnu med sabo ne zlepijo, ampak se ob stresanju vsebnika takoj razpršijo nazaj v čim bolj homogeno obliko, da lahko zagotovimo ustrezen odmerek. Dodatna kritična parametra, ki lahko vplivata na fizikalno nestabilnost, sta viskoznost in temperatura. Medtem ko hlajenje povečuje kemijsko in mikrobiološko stabilnost, lahko poveča viskoznost suspenzije, kar prav tako oteži resuspendiranje ali povzroči obarjanje zdravilne učinkovine ali konzervansa in tako vodi v nenadzorovano odmerjanje ali vpliva na kvaliteto pripravka. Pomembni aditivi pri pripravi suspenzij so sredstva za suspendiranje: metil celuloza, karboksimetil celuloza, Na CMC, mikrokristalna celuloza, ksantanski gumi ali drugi. Z njimi izboljšamo viskoznost in upočasnimo sedimentacijo delcev ter s tem po stresanju vsebnika dosežemo enakomerno porazdelitev

delcev in posledično natančnejše odmerjanje. Za hitrost sedimentacije je pomembna tudi velikost delcev (večji delci se posedajo hitreje kot manjši), ki lahko naraste zaradi agregacije, rasti kristalov, fluktuacije ali sprememb v polimorfni obliki. Večji delci imajo navadno tudi počasnejšo hitrost raztapljanja in posledično manjšo BU (27, 29, 30, 35).

### *1.2.3.2 SKRB ZA VARNOST PRI UPORABI POMOŽNIH SNOVI*

Čeprav naj bi bile pomožne snovi farmakološko neaktivne, se lahko pri nekaterih bolnikih pojavijo neželeni učinki, kot je na primer alergična reakcija zaradi barvil. Vsa sladila, ki vsebujejo saharozo in fruktozo, lahko vplivajo na krvni sladkor, kar je še posebej pomembno pri sladkornih bolnikih. Laktoze ne smemo uporabljati pri bolnikih, ki imajo laktozno intoleranco. Uporabi etanola kot vehikla se pri otrocih izogibamo, saj obstaja tveganje za spremenjeno učinkovitost zdravila (zdravilo deluje močnejše) in zastrupitve ter neželenih učinkov v centralno-živčnem sistemu zaradi povečane permeabilnosti KMP. Propilen glikol je še posebej uporaben pri solubilizaciji učinkovin z omejeno topnostjo v vodi, vendar pa se lahko pri mlajših otrocih zaradi zmanjšanega metabolizma akumulira v telesu in povzroča depresijo CŽS (27, 29).

## 2 NAMEN DELA

Številna zdravila, ki se pogosto uporabljajo pri novorojenčkih, dojenčkih in mlajših otrocih, niso na voljo v ustreznih FO. Tekoče FO, ki so pri tej populaciji bolnikov najprimernejše, je zato potrebno pripraviti magistralno z uporabo ustreznih pomožnih snovi. Magistralni pripravki imajo torej med zdravili, ki so primerna za pediatrično populacijo, pomembno vlogo, vendar pa njihova izdelava in uporaba velikokrat temelji predvsem na izkušnjah namesto na podlagi podatkov, pridobljenih iz ustreznih raziskav. Posledično se pojavljajo potrebe po dodatnih informacijah, ki največkrat vključujejo vprašanja glede njihove obstojnosti in načina shranjevanja (27, 35).

Protimikrobne učinkovine spadajo med najpogosteje uporabljena zdravila pri novorojenčkih, dojenčkih in mlajših otrocih. Mednje sodita tudi kloksacilin in klindamicin, ki se zaradi odsotnosti primernih FO za otroke in ustreznih raziskav, ki bi omogočale magistralno pripravo učinkovin v obliki sirupov, trenutno pripravljata in uporabljata v obliki praškov. Vendar pa je zaradi enostavnejšega zaužitja učinkovine, lažjega rokovanja in shranjevanja zdravila ter zaradi boljšega nadzora pri odmerjanju zdravila in prilagajanju odmerka učinkovine v tekoči FO potrebna optimizacija trenutne priprave kloksacilina in klindamicina, ki posledično zahteva pridobitev ustreznih informacij o stabilnosti magistralno izdelanih sirupov, saj le tako lahko zagotavljamo varno, učinkovito in kakovostno zdravilo.

Namen našega magistrskega dela bo torej vrednotenje stabilnosti sirupov s spremljanjem koncentracije učinkovine v posameznem sirupu skozi določeno časovno obdobje. Za doseg tega namena bomo izdelali sirupe s kloksacilinom (25 mg/mL) in sirupe s klindamicinom (15 mg/mL). Z namenom zagotavljanja ustrezne kemijske, fizikalne in mikrobiološke stabilnosti sirupov bomo dodatno spremljali tudi pH vrednosti, morebitne spremembe v reoloških lastnostih proučevanih sirupov ter spremembe v vonju in videzu sirupov.

## 3 EKSPERIMENTALNO DELO

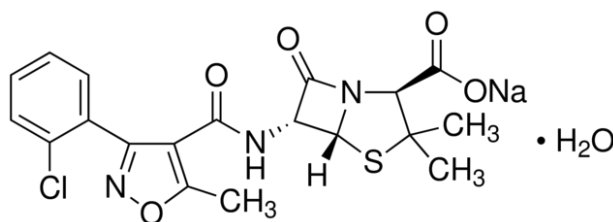
### 3.1 MATERIALI

#### 3.1.1 Uporabljene sestavine za pripravo sirupov

- kloksacilin v obliki natrijeve soli ( $C_{19}H_{17}ClN_3NaO_5S \cdot H_2O$ ), Anaclosil 500mg (trde kapsule), Laboratorio Reig Jofré, Barcelona, Španija
- klindamicinijev klorid ( $C_{18}H_{34}Cl_2N_2O_5S$ ), Kertus<sup>®</sup>, Trikala, Grčija
- Ora-Sweet<sup>®</sup>, Flavored Syrup Vehicle, Perrigo<sup>®</sup>, Minneapolis, Minnesota
- Ora-Plus<sup>®</sup>, Suspending Vehicle, Perrigo<sup>®</sup>, Minneapolis, Minnesota
- bidestilirana voda, pripravljena v Lekarni UKC Ljubljana

##### 3.1.1.1 KLOKSACILIN

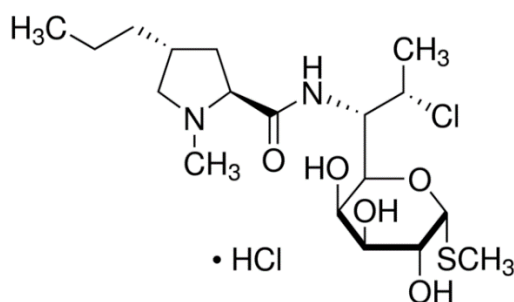
Kloksacilin je polysintezni betalaktamski antibiotik, ki se uporablja pri zdravljenju stafilokoknih okužb (37). Na trgu je na voljo v obliki natrijevega monohidrata. Njegova molekulska formula je  $NaC_{19}H_{17}ClN_3O_5S \cdot H_2O$  (strukturna formula je prikazana na *Sliki 1*), molekulska masa pa znaša 475.88 g/mol. pH raztopine s kloksacilinom se lahko giblje med 4.5 in 7.5. V vodi je zelo dobro topen, prav tako je topen v etanolu in metanolu (38, 39). Betalaktamski obroč in amidna vez sta podvržena hidrolizi, zaradi česar je v vodnem okolju možen nastanek številnih razpadnih produktov. Kloksacilin je stabilen v kislem okolju, zato ga lahko uporabljamo tudi v peroralnih oblikah. V prebavnem traktu se dobro absorbira,  $C_{max}$  se doseže v približno 1 uri. Hrana zmanjša hitrost in obseg absorpcije, zato je najbolj primerno, da se jemlje z vodo 1 uro pred jedjo ali 2 uri po jedi. Metabolizem poteka predvsem v jetrih, izloča se večinoma skozi ledvica z glomerulno filtracijo in s tubularno sekrecijo, delno pa tudi z žolčem. Značilno je dobro prehajanje v vse telesne tekočine in kosti, tudi v oko, prehajanje preko KMP pa je povečano ob vnetju (37).



*Slika 1: Strukturna formula kloksacilina v obliki natrijevega monohidrata (40)*

### 3.1.1.2 KLINDAMICIN

Klindamicin je polsintezni antibiotik, derivat linkomicina. Kemijsko spada med piranozidne antibiotike, njegova strukturna formula je prikazana na *Sliki 2* (37). Na trgu je na voljo v obliki klorida. Njegova molekulska formula je  $C_{18}H_{34}Cl_2N_2O_5S$ , molekulska masa pa znaša 461.44 g/mol. pH raztopine s klindamicinom se lahko giblje med 3.0 in 5.5. V vodi je zelo dobro topen, prav tako je topen v etanolu in metanolu (41). Klindamicin je učinkovit proti aerobnim po Gramu pozitivnim ter anaerobnim po Gram pozitivnim in po Gramu negativnim bakterijam. Absorpcija v prebavnem traktu je dobra,  $C_{max}$  se doseže v 1 do 2 urah. Primerno je, da se zdravilo jemlje z vodo, hrana na absorpcijo ne vpliva. Večina učinkovine se izloči z žolčem, le okoli 10 % pa skozi ledvica v aktivni obliki. Značilno je dobro prehajanje v vsa tkiva, telesne tekočine in tudi v kosti, manjše prehajanje preko KMP pa se lahko pojavi ob vnetju (37).



**Slika 2:** Strukturna formula klindamicina v obliki kloridne soli (41)

### 3.1.1.3 Ora-Sweet<sup>®</sup> in Ora-Plus<sup>®</sup>

Ora-Sweet<sup>®</sup> je sirup, ki se pri magistralni izdelavi peroralnih pripravkov uporablja predvsem kot korigens vonja in okusa. Sestavljajo ga prečiščena voda, velik delež saharoze, glicerol, aroma, pufer, ki ga sestavljata citronska kislina in natrijev fosfat, ter konzervansa metilparaben in kalijev sorbat. Lahko se uporablja samostojno (pri pripravi peroralnih raztopin) ali pa skupaj z Ora-Plus<sup>®</sup>. Ora-Plus<sup>®</sup> je vehikel za suspendiranje, ki lajša postopek magistralne priprave peroralnih suspenzij. Gre za prazen vehikel, katerega osnova je voda. Vsebuje še mikrokristalno celulozo, Na CMC, ksantanski gumi, karagenan, kalcijev sulfat, trinatrijev fosfat, citronsko kislino in natrijev fosfat, sredstvo proti penjenju dimetikon ter konzervansa metilparaben in kalijev sorbat. Ne vsebuje pa sladkorja ter korigensov okusa in vonja. Tako Ora-Sweet<sup>®</sup> kot Ora-Plus<sup>®</sup> torej vsebujeta konzervanse in pufer, ki jima daje

rahlo kisel pH, s katerim se preprečuje razgradnja učinkovine zaradi oksidacije. Za pripravo stabilne suspenzije s prijetnim vonjem in okusom uporabimo kombinacijo Ora-Sweet® in Ora-Plus® v razmerju 50/50 (29, 34).

### 3.1.2 Uporabljeni reagenti in topila

- kalijev dihidrogenfosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )  $M_r$  136.08 g/mol, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- acetonitril ( $\text{CH}_3\text{CN}$ )  $M_r$  41.05 g/mol, HPLC Gradient Grade, Baker HPLC analyzed, Združene države Amerike
- raztopina kalijevega hidroksida, pripravljena na UL-Fakulteti za farmacijo z uporabo kalijevega hidroksida (KOH)  $M_r$  56.11 g/mol, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- raztopina natrijevega hidroksida, pripravljena na UL-Fakulteti za farmacijo z uporabo natrijevega hidroksida (NaOH)  $M_r$  40.0 g/mol, Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija
- bidestilirana voda, pripravljena na UL-Fakulteti za farmacijo

### 3.1.3 Uporabljene aparature in pribor

- analitska tehtnica Mettler Toledo AG245, Schwerzenbach, Švica
- precizna tehtnica Sartorius, Hamburg, Nemčija
- ultrazvočna kopel Sonis 4, Iskra PIO d.o.o., Šentjernej, Slovenija
- magnetno mešalo IKA C-MAG HS 10, Staufen, Nemčija
- magnetno mešalo IKA RTC basic, Staufen, Nemčija
- injekcijske brizge (5 mL) BD Discardit™ II, Becton, Dickinson and Company, Združene države Amerike
- injekcijske igle (0.7 x 50 mm), TIK d.o.o., Proizvodnja medicinskih pripomočkov, Kobarid, Slovenija
- membranski filtri z velikostjo por 0.45  $\mu\text{m}$ , Lab Logistics Group GmbH, Meckenheim, Nemčija
- hladilnik Gorenje, Velenje, Slovenija
- pH meter Mettler Toledo, Seven Compact, Schwerzenbach, Švica; pH elektroda Mettler Toledo InLab® Expert Pro-ISM
- HPLC sistem Agilent 1100, Agilent Technologies, Dunaj, Avstrija



- reometer Physica MCR 301, Anton Paar, Graz, Avstrija; senzorski sistem stožca in plošče CP50-2, Anton Paar
- ostali laboratorijski pribor: viala, steklene bučke, steklene čaše, steklene pipete, merilni valji, parafilm, patena, pestilo

## 3.2 METODE

### 3.2.1 Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC)

HPLC sistem smo najprej uporabili za razvoj analiznih metod, ki smo ju potrebovali za določanje vsebnosti kloksacilina in klindamicina v naših vzorcih ter za preverjanje ustreznosti kromatografskega sistema. Za posamezno proučevano učinkovino smo si pripravili umeritveno premico, s pomočjo katere smo vrednostim površin pod kromatografskimi vrhovi, ki smo jih pridobili z analizo vzorcev v vsaki vnaprej časovno določeni meritveni točki, pripisali ustrezne koncentracije kloksacilina in klindamicina. Meritve smo izvajali z reverznofazno tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti na sistemu Agilent 1100 (Agilent Technologies) (Slika 3).



*Slika 3: HPLC sistem Agilent 1100*

***Parametri kromatografskega sistema za spremljanje vsebnosti kloksacilina v magistralno izdelanih sirupih:***

Kolona: Xterra Columns (4.6 x 250 mm, delci velikosti 5  $\mu$ m)

Mobilna faza: 0.25 volumna predstavlja acetonitril in 0.75 volumna predstavlja raztopina  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  s pH 5.0

Pretok mobilne faze: 1.0 mL/min

Detekcija: pri 225 nm

Volumen injiciranja: 20 µL

Temperatura sistema: 25 °C

Retencijski čas kloksacilina: okoli 12 min

***Parametri kromatografskega sistema za spremljanje vsebnosti klindamicina v magistralno izdelanih sirupih:***

Kolona: Xterra Columns (4.6 x 250 mm, delci velikosti 5 µm)

Mobilna faza: 0.45 volumna predstavlja acetonitril in 0.55 volumna predstavlja raztopina  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  s pH 7.5

Pretok mobilne faze: 1 mL/min

Detekcija: pri 210 nm

Volumen injiciranja: 20 µm

Temperatura sistema: 25 °C

Retencijski čas klindamicina: okoli 6 min

### **3.2.2 Priprava analiznih metod**

#### ***3.2.2.1 PRIPRAVA ANALIZNE METODE ZA SIRUPE S KLOKSACILINOM***

##### ***Priprava mobilne faze***

Za potrebe analize smo pripravili 2 L mobilne faze, katere 25 % delež je predstavljal acetonitril, 75 % delež pa raztopina kalijevega dihidrogenfosfata s koncentracijo 2.7 g/L in pH 5.0. Najprej smo pripravili puferno raztopino. 5.4 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  smo kvantitativno prenesli v 2-litrsko stekleno bučko, ga raztopili v bidestilirani vodi, z njo dopolnili do oznake in dobro premešali. Nato smo z raztopino natrijevega hidroksida po kapljicah umerili pH pufera na 5.0. Pripravljeno mobilno fazo smo uporabljali tudi kot topilo pri pripravi testnih in referenčnih raztopin.

##### ***Priprava testnih in referenčnih raztopin***

Učinkovino kloksacilin smo imeli na voljo v obliki 500 mg trdnih kapsul. Pet polnih kapsul smo vsako posamezno najprej stehtali, jih nato čim bolj kvantitativno spraznili in stehtali še mase praznih kapsul. Z razliko smo določili maso vsebine v posamezni kapsuli ter izračunali še povprečno maso vsebine petih kapsul. S pomočjo povprečne mase smo nato preračunavali

vsebnost učinkovine v natehtani masi vsebine kapsul, ki smo jo potrebovali za pripravo testne raztopine.

Za pripravo testne raztopine smo natehtali približno 20 mg vsebine kapsul, jo kvantitativno prenesli v 100-mililitrsko bučko in dodali magnet. Kot topilo smo uporabili pripravljeno mobilno fazo. Da bi dosegli popolno raztapljanje učinkovine v topilu, smo bučko dobro pretresli, jo za približno 15 minut postavili v ultrazvočno kadičko in nazadnje za približno 10 minut še na magnetno mešalo. Tako pripravljeno testno raztopino smo nato redčili. Pridobili smo referenčne raztopine v določenem koncentracijskem območju, v katerem smo s pomočjo umeritvene premice, pripadajoče enačbe in  $R^2$  preverjali natančnost in zanesljivost naše metode ter kasneje preračunavali vsebnost učinkovine v naših vzorcih. Za spodnjo mejo sprejemljivosti  $R^2$  smo določili 0.9990.

#### Redčenja testne raztopine:

- prva referenčna raztopina: v 10-mililitrsko bučko smo odpipetirali 5 mL testne raztopine, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali;
- druga referenčna raztopina: v 10-mililitrsko bučko smo odpipetirali 1 mL testne raztopine, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali;
- tretja referenčna raztopina: v 50-mililitrsko bučko smo odpipetirali 3 mL testne raztopine, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali;
- četrta referenčna raztopina: v 100-mililitrsko bučko smo odpipetirali 2 mL testne raztopine, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali;
- peta referenčna raztopina: v 100-mililitrsko bučko smo odpipetirali 1 mL testne raztopine, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali.

Testno in referenčne raztopine smo nato iz bučk odmerili s pomočjo 5-mililitrskih injekcijskih brizg, jih prefiltrirali in prenesli v vialo. Sledila je analiza vzorcev z metodo HPLC. Postopek priprave testne in referenčnih raztopin ter analizo vzorcev z metodo HPLC smo ponovili še enkrat. Pri drugi analizi vzorcev smo preverili še ponovljivost kromatografskega sistema, zaradi česar smo analizo prve referenčne raztopine petkrat ponovili. Določena zgornja meja sprejemljivosti RSD je 2.0 %.

### 3.2.2.2 PRIPRAVA ANALIZNE METODE ZA SIRUPE S KLINDAMICINOM

#### **Priprava mobilne faze**

Za potrebe analize smo pripravili 1 L mobilne faze, katere 45 % delež je predstavljal acetonitril, 55 % delež pa raztopina kalijevega dihidrogenfosfata s koncentracijo 6.8 g/L in pH 7.5. Najprej smo pripravili puferno raztopino. 6.8 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  smo kvantitativno prenesli v litrsko stekleno bučko, ga raztopili v bidestilirani vodi, z njo dopolnili do oznake in dobro premešali. Nato smo z raztopino kalijevega hidroksida po kapljicah umerili pH pufera na 7.5. Pripravljeno mobilno fazo smo uporabljali tudi kot topilo pri pripravi testnih in referenčnih raztopin.

#### **Priprava testnih in referenčnih raztopin**

Učinkovino klindamicin smo imeli na voljo v obliki klindamicinijevega klorida. Za pripravo testne raztopine smo natehtali približno 40 mg klindamicinijevega klorida, ga kvantitativno prenesli v 50-mililitrsko bučko in dodali magnet. Kot topilo smo uporabili pripravljeno mobilno fazo. Da bi dosegli popolno raztapljanje učinkovine v topilu, smo bučko dobro pretresli, jo za približno 20 minut postavili v ultrazvočno kadičko in nazadnje za približno 10 minut še na magnetno mešalo. Tako pripravljeno testno raztopino smo nato redčili. Pridobili smo referenčne raztopine v določenem koncentracijskem območju, v katerem smo s pomočjo umeritvene premice, pripadajoče enačbe in  $R^2$  preverjali natančnost in zanesljivost naše metode ter kasneje preračunavali vsebnost učinkovine v naših vzorcih. Za spodnjo mejo sprejemljivosti  $R^2$  smo določili 0.9990.

#### Redčenja testne raztopine:

- prva referenčna raztopina: v 10-mililitrsko bučko smo odpipetirali 5 mL testne raztopine, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali;
- druga referenčna raztopina: v 10-mililitrsko bučko smo odpipetirali 1 mL testne raztopine, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali;
- tretja referenčna raztopina: v 50-mililitrsko bučko smo odpipetirali 3 mL testne raztopine, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali;
- četrta referenčna raztopina: v 100-mililitrsko bučko smo odpipetirali 2 mL testne raztopine, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali;
- peta referenčna raztopina: v 100-mililitrsko bučko smo odpipetirali 1 mL testne raztopine, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali.

Testno in referenčne raztopine smo nato iz bučk odmerili s pomočjo 5-mililitrskih injekcijskih brizg, jih prefiltrirali in prenesli v vialo. Sledila je analiza vzorcev z metodo HPLC. Postopek priprave testne in referenčnih raztopin ter analizo vzorcev z metodo HPLC smo ponovili še enkrat. Pri drugi analizi vzorcev smo preverili še ponovljivost kromatografskega sistema, zaradi česar smo analizo prve referenčne raztopine petkrat ponovili. Določena zgornja meja sprejemljivosti RSD je 1.0 %.

### 3.2.3 Merjenje pH vrednosti

pH vrednosti vzorcev smo določali elektrokemično. Uporabljali smo pH meter Mettler Toledo, Seven Compact (*Slika 4*). Za natančnejše delo smo ga z raztopino standarda pred meritvami umerjali na pH 7.0, poleg tega smo elektrodo pred vsako meritvijo sprali z destilirano vodo. Meritve smo izvajali pri sobni temperaturi. Sirupe, ki smo jih shranjevali v hladilniku, smo eno uro pred vsako meritvijo vzeli iz hladilnika, da so se temperirali na sobno temperaturo. Postopek merjenja pH vrednosti vsakega sirupa posebej smo ponovili v vsaki časovno določeni meritveni točki (ob času 0, 3. dan, 7. dan, 14. dan, 21. dan, 28. dan in po dveh mesecih). Ob času 0 smo izvedli le meritve sirupov, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi. Rezultati so predstavljali povprečje treh meritev.



*Slika 4: pH meter Mettler Toledo, Seven Compact*

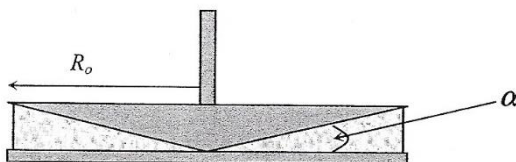
### 3.2.4 Določanje reoloških lastnosti

Reološke lastnosti smo določali z rotacijskim reometrom Physica MCR 301 z nastavljivo strižno hitrostjo (*Slika 5*). Uporabljali smo senzorski sistem stožca in plošče (CP50-2) s

premerom  $2R_o = 49.691$  mm in kotom  $\alpha = 2.001^\circ$  (Slika 6). Vse meritve rotacije smo izvajali pri nadzorovani temperaturi  $25^\circ\text{C}$ .

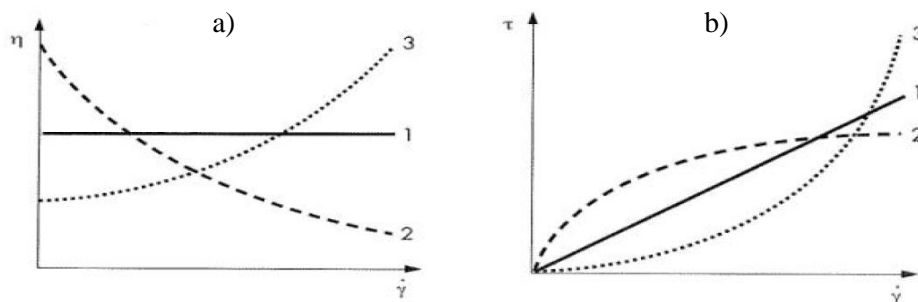


**Slika 5:** Reometer Physica MCR 301



**Slika 6:** Senzorski sistem stožca in plošče (42)

Z rotacijskim reometrom smo spremljali strižno napetost ( $\tau$ ) ter dinamično viskoznost ( $\eta$ ) vzorcev v odvisnosti od strižne hitrosti ( $\dot{\gamma}$ ), ki se je spreminjala od  $1\text{--}100\text{ s}^{-1}$  in od  $100\text{--}1\text{ s}^{-1}$  linearno. Za vsako območje smo določili 20 merilnih točk, ki so se merile na 10 s. Glede na obnašanje krivulj, ki smo jih pridobili z analizo vzorčnih sirupov, smo spremljali spremembe tekom staranja in sisteme opredelili kot newtonske oz. idealne ali ne-newtonske oz. realne (Slika 7).



**Slika 7:** (a) Viskoznostne krivulje in (b) reogrami za newtonske (1) in ne-newtonske tekočine: psevdoplastične (2) in dilatantne (3) (43)

Meritve smo izvajali tako, da smo statično ploščo senzorskega sistema pokrili z vzorcem, nato pa smo z računalniškim programom Reoplus merilni stožec spustili na položaj za merjenje. Razmik med stožcem in ploščo je v tem položaju znašal 0.209 mm. Odvečni vzorec, ki je stekel preko plošče, smo natančno obrisali, saj bi v nasprotnem primeru lahko prišlo do napak pri meritvah. Med vsako meritvijo smo senzorski sistem stožca in plošče očistili z destilirano vodo. Sirupe, ki smo jih shranjevali v hladilniku, smo eno uro pred vsako meritvijo vzeli iz hladilnika, da so se temperirali na sobno temperaturo. Postopek meritve reoloških lastnosti vsakega sirupa posebej smo ponovili v vsaki časovno določeni meritveni točki (ob času 0, 3. dan, 7. dan, 14. dan, 21. dan, 28. dan in po dveh mesecih). Ob času 0 smo izvedli le meritve sirupov, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi. Sprotni izpis meritev v preglednice in izris viskoznostnih krivulj nam je omogočal računalniški program Reoplus.

### 3.2.5 Obdelava podatkov

Rezultate, ki smo jih pridobili z analiznim sistemom HPLC, pH metrom in rotacijskim reometrom, smo obdelali s pomočjo računalniškega programa Excel, ki je eden izmed orodij Microsoft Office 2013. S pomočjo Excela smo oblikovali umeritvene premice, jim določili enačbe in  $R^2$ , izračunali povprečja meritev, standardne odmike in konstante reakcijske hitrosti ter oblikovali grafe.

### 3.3 PRIPRAVA SIRUPOV V LEKARNI UKC LJUBLJANA

#### 3.3.1 Priprava sirupov s kloksacilinom

Pri pripravi sirupa s kloksacilinom smo za vehikel uporabili kombinacijo Ora-Sweet® in Ora-Plus® v razmerju 50/50. Za 300 mL sirupa smo z merilnim valjem odmerili 160 mL Ora-Sweet® in 160 mL Ora-Plus® in ju prelili v čašo. Prebitek obeh vehiklov smo uporabili zaradi možnih vmesnih izgub. Dodali smo magnet, čašo pokrili s parafilmom, da bi preprečili morebitno kontaminacijo, in jo za 10 minut postavili na magnetno mešalo. Za pripravo 300 mL sirupa s koncentracijo kloksacilina 25 mg/mL smo potrebovali petnajst 500 mg trdnih kapsul. Vsebino kapsul smo stresli v pateno in natehtali 8.79 mg. Vse skupaj smo premešali s pestilom, da smo razdrobili večje delce in homogenizirali zmes. Nato smo ob konstantnem mešanju dodali manjšo količino pripravljene mešanice Ora-Sweet® in Ora-Plus® in dobili pasto. Postopoma smo dodajali še preostanek mešanice do zelene končne mase 349.05 g (gostota mešanice Ora-Sweet® in Ora-Plus® je 1.1635 g/mL) in mešali do nastanka suspenzije. Nastali sirup v obliki suspenzije smo prelili v čašo, dodali magnet, pokrili s parafilmom in postavili na magnetno mešalo za približno 10 minut. Sirup je imel rahlo sladek vonj po češnjah, rahlo se je vonjalo tudi žveplo. Po videzu je bil moten in bele barve z rahlim roza odtenkom (*Slika 8*). Sirup smo polnili v šest 50-mililitrskih temnih plastičnih vsebnikov. V vsak vsebnik bi v primeru izdaje zdravila bolniku morali vstaviti vmesnik za odmerjanje z brizgo in dodati brizgo, česar mi zaradi lažjega rokovanja z vzorci tekom analize nismo storili. Plastične vsebnike smo zamašili s pokrovčki in jih ustrezno signirali (*Slika 9*). Tri vzorce smo shranjevali pri sobni temperaturi (15 do 25 °C), tri pa v hladilniku (2 do 8 °C).





*Slika 8: Pripravljen sirup s kloksacilinom tik pred polnitvijo v vsebnike*



*Slika 9: Pripravljen sirup s kloksacilinom polnjen v temne plastične vsebnike z ustrezno signaturo*

### 3.3.2 Priprava sirupov s klindamicinom

Za pripravo 300 mL sirupa s koncentracijo klindamicina 15 mg/mL smo v pateno natehtali 4.884 g klindamicinijevega klorida. Dodali smo približno 5 mL vode oz. po potrebi toliko, da se je učinkovina ob hkratnem mešanju popolnoma raztopila. Nato smo ob konstantnem mešanju postopoma dodajali vehikel Ora-Sweet® do zelene končne mase 383.82 g (gostota Ora-Sweet® je 1.2794 g/mL). Nastali sirup v obliki raztopine smo prelili v čašo, dodali magnet, pokrili s parafilmom in postavili na magnetno mešalo za približno 10 minut. Sirup je imel sladek vonj po češnjah, po videzu pa je bil prozorne, lepo škrlatne barve (*Slika 10*). Sirup smo polnili v šest 50-mililitrskih temnih plastičnih vsebnikov. V vsak vsebnik bi v primeru izdaje zdravila bolniku morali vstaviti vmesnik za odmerjanje z brizgo in dodati

brizgo, česar mi zaradi lažjega rokovanja z vzorci tekom analize nismo storili. Plastične vsebnike smo zamašili s pokrovčki in jih ustrezno signirali (*Slika 11*). Tri vzorce smo shranjevali pri sobni temperaturi (15 do 25 °C), tri pa v hladilniku (2 do 8 °C).



*Slika 10: Pripravljen sirup s klindamicinom tik pred polnitvijo v vsebnike*



*Slika 11: Pripravljen sirup s klindamicinom polnjen v temne plastične vsebnike z ustrezno signaturo*

### 3.4 PRIPRAVA VZORCEV ZA ANALIZO S HPLC METODO

#### 3.4.1 Priprava vzorcev s kloksacilinom

Poleg vzorcev smo v vsaki časovno določeni meritveni točki analizirali tudi delovni standard. Za pripravo delovnega standarda smo natehtali približno 20 mg vsebine kapsul, jo kvantitativno prenesli v 100-mililitrsko bučko, ki smo jo nato s topilom dopolnili do oznake

in dodali magnet. Kot topilo smo tokrat uporabili mešanico acetonitrila in bidestilirane vode v enakem razmerju kot pri pripravi mobilne faze. Pufer smo zamenjali z bidestilirano vodo, da smo se izognili morebitnim nastankom oborin. Da bi dosegli popolno raztapljanje učinkovine v topilu, smo bučko dobro pretresli, jo za približno 15 minut postavili v ultrazvočno kadičko in nazadnje za približno 10 minut še na magnetno mešalo. Pripravljeni delovni standard smo nato redčili. V 10-mililitrsko bučko smo odpipetirali 5 mL delovnega standarda, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali.

Ostale vzorce smo pripravili z redčenjem magistralno pripravljenih sirupov s kloksacilinom. S pomočjo 5-mililitrske brizge smo odmerili po 1 mL sirupa in ga prenesli v 100-mililitrsko bučko. S topilom smo jo dopolnili do oznake in dobro premešali. Nato smo v 10-mililitrsko bučko odpipetirali 3 mL redčenega sirupa, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali. Enak postopek smo izvedli za vseh šest sirupov s kloksacilinom. Vse ustrezno redčene vzorce, vključno s pripravljenim delovnim standardom, smo nato iz bučk odmerili s pomočjo 5-mililitrskih injekcijskih brizg, jih prefiltrirali in prenesli v vialo. Sledila je analiza vzorcev z metodo HPLC. V vsaki časovno določeni meritveni točki (ob času 0, 3. dan, 7. dan, 14. dan, 21. dan, 28. dan in po dveh mesecih) smo postopek ponovili. Ob času 0 smo izvedli le analizo vzorcev pri sobni temperaturi.

### **3.4.2 Priprava vzorcev s klindamicinom**

Za pripravo delovnega standarda smo natehtali približno 40 mg klindamicinijevega klorida, ga kvantitativno prenesli v 50-mililitrsko bučko, jo s topilom dopolnili do oznake in dodali magnet. Kot topilo smo tudi tokrat uporabili mešanico acetonitrila in bidestilirane vode v enakem razmerju kot pri pripravi mobilne faze. Pufer smo zamenjali z bidestilirano vodo, da smo se izognili morebitnim nastankom oborin. Da bi dosegli popolno raztapljanje učinkovine v topilu, smo bučko dobro pretresli, jo za približno 20 minut postavili v ultrazvočno kadičko in nazadnje za približno 10 minut še na magnetno mešalo. Pripravljen delovni standard smo nato redčili. V 10-mililitrsko bučko smo odpipetirali 5 mL delovnega standarda, jo s topilom dopolnili do oznake in dobro premešali.

Ostale vzorce smo pripravili z redčenjem magistralno pripravljenih sirupov s klindamicinom. S pomočjo 5-mililitrske brizge smo odmerili po 2 mL sirupa in ga prenesli v 100-mililitrsko bučko. S topilom smo jo dopolnili do oznake in dobro premešali. Enak postopek smo izvedli za vseh šest sirupov s klindamicinom. Vse ustrezno redčene vzorce,

vključno s pripravljenim delovnim standardom, smo nato iz bučk odmerili s pomočjo 5-mililitrskih injekcijskih brizg, jih prefiltrirali in prenesli v vialo. Sledila je analiza vzorcev z metodo HPLC. V vsaki časovno določeni meritveni točki (ob času 0, 3. dan, 7. dan, 14. dan, 21. dan, 28. dan in po dveh mesecih) smo postopek ponovili. Ob času 0 smo izvedli le analizo vzorcev pri sobni temperaturi.

## 4 REZULTATI IN RAZPRAVA

### 4.1 SIRUPI S KLOKSACILINOM

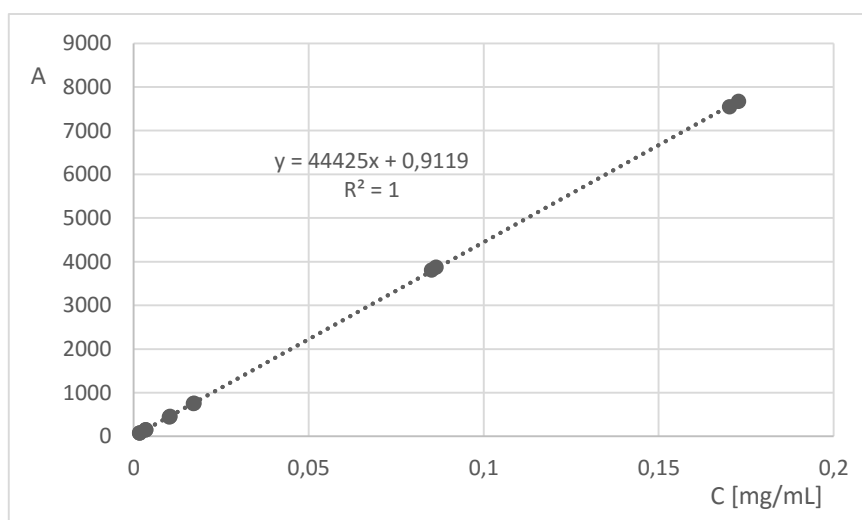
#### 4.1.1 Razvoj analizne metode

Rezultati obeh testnih in vseh referenčnih raztopin s kloksacilinom, ki smo jih pridobili po analizi z metodo HPLC, so predstavljeni v *Preglednici II*.

**Preglednica II:** Rezultati obeh testnih in vseh referenčnih raztopin s kloksacilinom po analizi z metodo HPLC

natehta vsebine kapsul [mg]	1. testna raztopina		2. testna raztopina	
	20.42		20.12	
	C [mg/L]	A	C [mg/L]	A
testna raztopina	172.80	7671.2	170.27	7543.3
1. referenčna raztopina	86.40	3873.4	85.13	3808.3
2. referenčna raztopina	17.28	760.5	17.03	754.1
3. referenčna raztopina	10.37	458	10.22	445.9
4. referenčna raztopina	3.46	151.4	3.41	151.3
5. referenčna raztopina	1.73	74.5	1.70	75.7

Iz pridobljenih vrednosti površin pod kromatografskimi vrhovi smo s pomočjo linearne regresije določili umeritveno premico in determinacijski koeficient za vsako testno raztopino posebej. Skupna umeritvena premica za obe testni raztopini je prikazana na *Sliki 12*, enačbe posameznih umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  pa so predstavljeni v *Preglednici III*.



**Slika 12:** Skupna umeritvena premica za obe testni raztopini s kloksacilinom

**Preglednica III:** Enačbe posameznih umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  za testni raztopini s kloksacilinom

	<i>enačba premice</i>	$R^2$
<i>1. testna raztopina</i>	$y = 44475x + 0.1484$	1
<i>2. testna raztopina</i>	$y = 44373x + 1.7269$	1
<i>skupno</i>	$y = 44425x + 0.9119$	1

Glede na pridobljeni vrednosti  $R^2$ , ki sta bili pri obeh testnih raztopinah večji od določene spodnje meje sprejemljivosti (0.9990), smo lahko potrdili linearnost izbrane metode v območju med 1.7 mg/L in 172.8 mg/L. Prav tako smo lahko na podlagi dobljenih  $R^2$  trdili, da so bile eksperimentalne napake pripravljanja vzorcev ter meritev zelo majhne in so bili pridobljeni rezultati zanesljivi, metoda pa primerna za določanje vsebnosti kloksacilina v sirupih v vsaki časovno določeni meritveni točki. Z izračunom RSD smo potrdili tudi dobro ponovljivost in natančnost kromatografskega sistema. Izračunan RSD je znašal 0.073 % in tako ustrezal zahtevanemu kriteriju (< 2.0 %).

#### 4.1.2 Stabilnost magistralno izdelanih sirupov s kloksacilinom

Spreminjanje vsebnosti kloksacilina v sirupih smo spremljali v naslednjih časovno določenih točkah: ob času 0, 3. dan, 7. dan, 14. dan, 21. dan, 28. dan in po dveh mesecih. V *Preglednici IV* je predstavljena vsebnost kloksacilina v magistralno izdelanih sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi. Vsebnost kloksacilina v sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku, je predstavljena v *Preglednici V*. Vsebnost v posamezni meritveni točki smo prikazali procentualno glede na izmerjeno začetno koncentracijo kloksacilina.

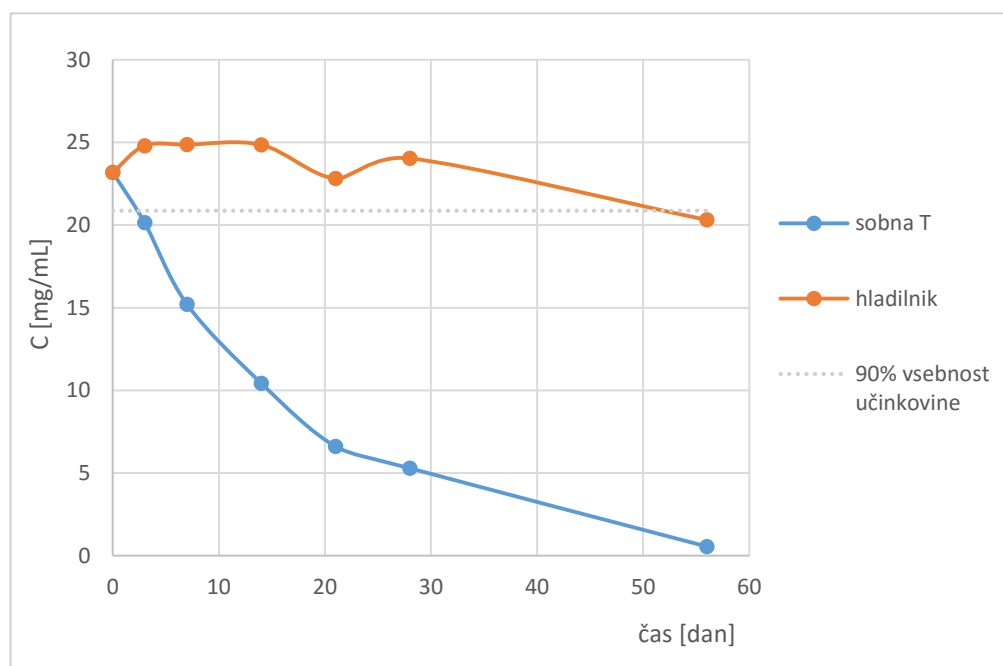
**Preglednica IV:** Vsebnost kloksacilina v magistralno izdelanih sirupih, ki so bili shranjeni pri sobni  $T$ 

<i>sobna T</i>	<i>dan 0</i> [mg/mL]	<i>dan 3</i> [%]	<i>dan 7</i> [%]	<i>dan 14</i> [%]	<i>dan 21</i> [%]	<i>dan 28</i> [%]	<i>po 2</i> <i>mesecih</i> [%]
<i>vz1</i>	22.94	89.01	69.57	47.56	28.99	22.84	2.44
<i>vz2</i>	22.38	87.76	66.53	46.56	29.58	23.55	2.41
<i>vz3</i>	24.24	84.08	60.93	41.05	27.02	22.07	2.27
<i>povprečna vrednost</i>	23.19 ± 0.95	86.95 ± 2.57	65.68 ± 4.38	45.06 ± 3.51	28.53 ± 1.34	22.82 ± 0.74	2.37 ± 0.09

**Preglednica V:** Vsebnost kloksacilina v magistralno izdelanih sirupih, ki so bili shranjeni v hladilniku

hladilnik	dan 0 [mg/mL]	dan 3 [%]	dan 7 [%]	dan 14 [%]	dan 21 [%]	dan 28 [%]	po 2 mesecih [%]
vz1	/	110.11	105.19	112.86	98.91	102.62	88.01
vz2	/	105.23	109.38	108.71	103.31	107.73	93.88
vz3	/	105.57	107.25	100.50	93.44	100.95	81.44
<b>povprečna vrednost</b>	/	106.97 ± 2.73	107.27 ± 2.10	107.36 ± 6.29	98.55 ± 4.94	103.76 ± 3.53	87.78 ± 6.22

Slika 13 prikazuje upad povprečne koncentracije kloksacilina v sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, in upad povprečne koncentracije kloksacilina v sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku, skozi celoten čas staranja.



**Slika 13:** Upad povprečne koncentracije kloksacilina v sirupih med staranjem pri različnih pogojih shranjevanja

Stabilnost je definirana kot sposobnost farmacevtskega izdelka, da v predvidenem časovnem obdobju in pri določenem pogojshranjevanja ohrani svoje lastnosti znotraj predpisanih specifikacij. Pri pripravkih, ki niso vključeni v farmakopejo, moramo upoštevati, da so uporabni, dokler vsebujejo najmanj 90 % začetne vsebnosti učinkovine in dokler tekom staranja ne pride do nastanka za organizem škodljivih snovi (44). Magistralno izdelani sirupi s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, so pokazali popolno

nestabilnost, saj je pri njih vsebnost učinkovine že tretji dan meritev padla pod zahtevan kriterij stabilnosti. Medtem pa so sirupi, ki smo jih shranjevali v hladilniku, pokazali veliko boljšo stabilnost. Stabilni so bili en mesec, po dveh mesecih pa je njihova vsebnost učinkovine prav tako padla pod zahtevan kriterij. Padec vsebnosti kloksacilina pri sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, je bil dobro viden tudi na kromatogramih. Kromatografski vrhovi kloksacilina, ki smo jih pridobili z analizo sirupov po dveh mesecih, so bili v primerjavi z vrhovi, ki smo jih pridobili ob času 0, izrazito nižji (*Priloga II* in *Priloga III*). Na kromatogramu, ki smo ga pridobili z analizo sirupov po dveh mesecih, so dobro opazni tudi porasti kromatografskih vrhov pri nižjih retencijskih časih, ki po vsej verjetnosti pripadajo razpadnim produktom. Tako zelo izrazitih porastov nismo opazili na kromatogramih, ki smo jih pridobili z analizo sirupov, ki smo jih shranjevali v hladilniku.

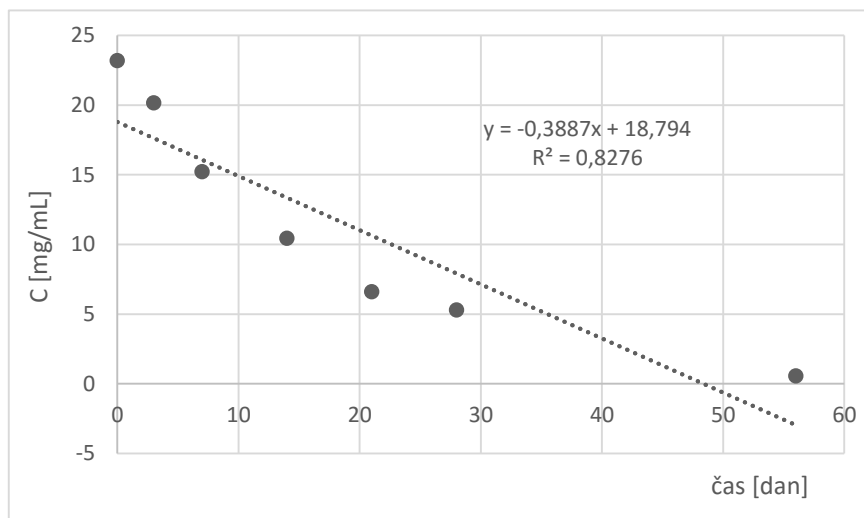
Pri sirupih, ki so bili shranjeni v hladilniku, smo opazili, da vsebnost učinkovine s staranjem ni konstantno padala, ampak so se pojavila manjša nihanja. Vzroki tega nihanja so verjetno bile spremembe v delovnih pogojih, odstopanja pri doseganju ponovljive priprave vzorcev in manjše napake samega analiznega postopka. Pomemben vpliv na rezultate je imelo tudi rokovanje s sirupi ob vsaki pripravi vzorcev. Sirupi s kloksacilinom so se namreč nahajali v obliki suspenzije in jih je bilo potrebno pred vsako uporabo dobro pretresti, pri čemer je prav tako prišlo do manjših odstopanj.

#### *4.1.2.1 DOLOČITEV KINETIKE RAZPADA KLOKSACILINA PRI SOBNI TEMPERATURI*

Kemijska kinetika je enostaven in uporaben način uprizoritve stabilnosti. Z določitvijo ustreznega reda reakcije pridobimo konstanto reakcijske hitrosti, ki nam omogoča kvantitativno vrednotenje stabilnosti. Glede na obliko krivulje padca vsebnosti kloksacilina v sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, in glede na to, da je v reakcijo vstopal le en reaktant, smo predvidevali, da je kinetika razpada kloksacilina potekala po 0. ali 1. redu. Z izračunom enačb umeritvenih premic za 0. in 1. red reakcije in iz pripadajočih  $R^2$  smo tako najprej določili, kateri red bolje opisuje kinetiko razpada učinkovine, nato pa smo s pomočjo konstante reakcijske hitrosti izračunali še čas 10% razpada in ga primerjali s časom, ki smo ga pridobili na podlagi spremljanja vsebnosti učinkovine s HPLC metodo.



Na Sliki 14 je prikazana umeritvena premica in izračun konstante reakcijske hitrosti 0. reda za povprečne vrednosti koncentracij kloksacilina v sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi.



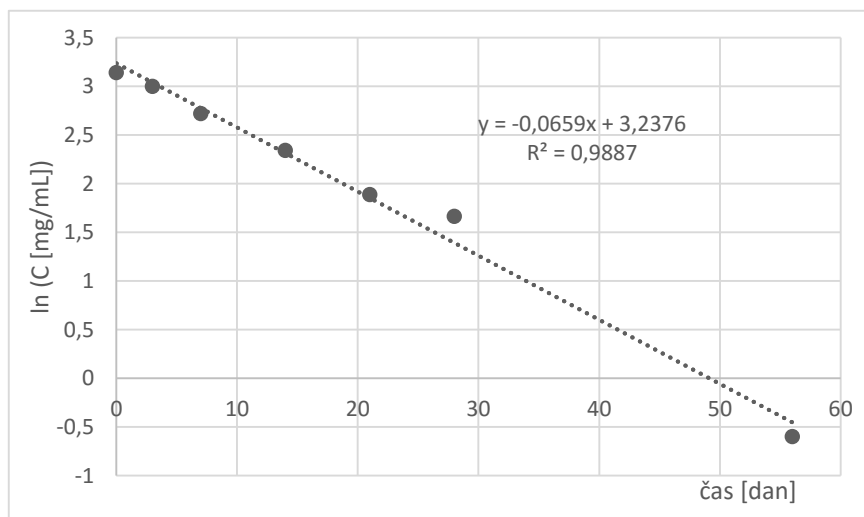
**Slika 14:** Umeritvena premica 0. reda reakcije razpada kloksacilina pri sobni T

Enačbe umeritvenih premic, njim pripadajoči  $R^2$  in izračunane konstante reakcijske hitrosti razpada kloksacilina po kinetiki 0. reda za posamezen sirup, ki je bil shranjen pri sobni temperaturi, so predstavljene v Preglednici VI.

**Preglednica VI:** Enačbe umeritvenih premic, njim pripadajoči  $R^2$  in konstante reakcijske hitrosti razpada kloksacilina po kinetiki 0. reda za posamezen sirup pri sobni T

	<i>enačba premice</i>	$R^2$	<i>konstanta reakcijske hitrosti [dan<sup>-1</sup>]</i>
<b>vz1</b>	$y = -0.3934x + 19.06$	0.8396	0.3934
<b>vz2</b>	$y = -0.3772x + 18.345$	0.8378	0.3772
<b>vz3</b>	$y = -0.3956x + 18.975$	0.8029	0.3956
<b>skupno</b>	$y = -0.3887x + 18.794$	0.8276	0.3887

Na Sliki 15 je prikazana umeritvena premica in izračun konstante reakcijske hitrosti 1. reda za povprečne vrednosti koncentracij kloksacilina v sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi.



**Slika 15:** Umeritvena premica 1. reda reakcije razpada kloksacilina pri sobni T

Enačbe umeritvenih premic, njim pripadajoči  $R^2$  in izračunane konstante reakcijske hitrosti razpada kloksacilina po kinetiki 1. reda za posamezen sirup, ki je bil shranjen pri sobni temperaturi, so predstavljene v Preglednici VII.

**Preglednica VII:** Enačbe umeritvenih premic, njim pripadajoči  $R^2$  in konstante reakcijske hitrosti razpada kloksacilina po kinetiki 1. reda za posamezen sirup pri sobni T

	enačba premice	$R^2$	konstanta reakcijske hitrosti [ $\text{dan}^{-1}$ ]
vz1	$y = -0.0659x + 3.2554$	0.9896	0.0659
vz2	$y = -0.0656x + 3.2188$	0.9871	0.0656
vz3	$y = -0.066x + 3.2387$	0.9885	0.066
skupno	$y = -0.0659x + 3.2376$	0.9887	0.0659

Na osnovi pridobljenih  $R^2$  za 0. in 1. red reakcije smo za opis reakcijskih hitrosti razpada kloksacilina pri sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, izbrali skupno konstanto reakcijske hitrosti 1. reda ( $0.0659 \text{ dan}^{-1}$ ). Vrednosti  $R^2$  za 1. red reakcije so bile bližje vrednosti 1 in tako bolj skladne in bolj zanesljive v primerjavi s pridobljenimi  $R^2$  za 0. red reakcije.

#### Čas 10 % razpada kloksacilina pri sobni temperaturi

Da so bili magistralno izdelani sirupi s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, povsem nestabilni, smo pokazali tudi z izračunom  $t_{90\%}$  na podlagi pridobljene konstante reakcijske hitrosti 1. reda. Glede na izračun je koncentracija učinkovine v sirupih padla pod zahtevan kriterij stabilnosti že po 1.58 dneva.

#### 4.1.2.2 DOLOČITEV KINETIKE RAZPADA KLOKSACILINA V HLADILNIKU

Na podlagi spremljanja vsebnosti učinkovine s HPLC metodo smo potrdili, da so magistralno izdelani sirupi s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku, izkazovali ustrezno stabilnost en mesec, zaradi česar nismo mogli sklepati o kinetiki razpada učinkovine pri tem pogojshranjevanja. Rezultati so sicer nakazali, da se v drugem mesecu kemijska stabilnost kloksacilina zmanjša, vendar bi za opis kinetike razpada učinkovine potrebovali več meritev v drugem mesecu staranja. Prav tako bi bilo potrebno spremljanje vsebnosti kloksacilina podaljšati na daljše obdobje, s katerim bi lahko še ustrezneje opredelili red kinetike.

#### 4.1.3 Spremembe v kemijskih, fizikalnih in organoleptičnih lastnostih

##### 4.1.3.1 SPREMLJANJE pH VREDNOSTI

V *Preglednici VIII* so predstavljeni rezultati meritev pH vrednosti magistralno izdelanih sirupov s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi. Rezultati meritev pH vrednosti sirupov, ki smo jih shranjevali v hladilniku, so predstavljeni v *Preglednici IX*.

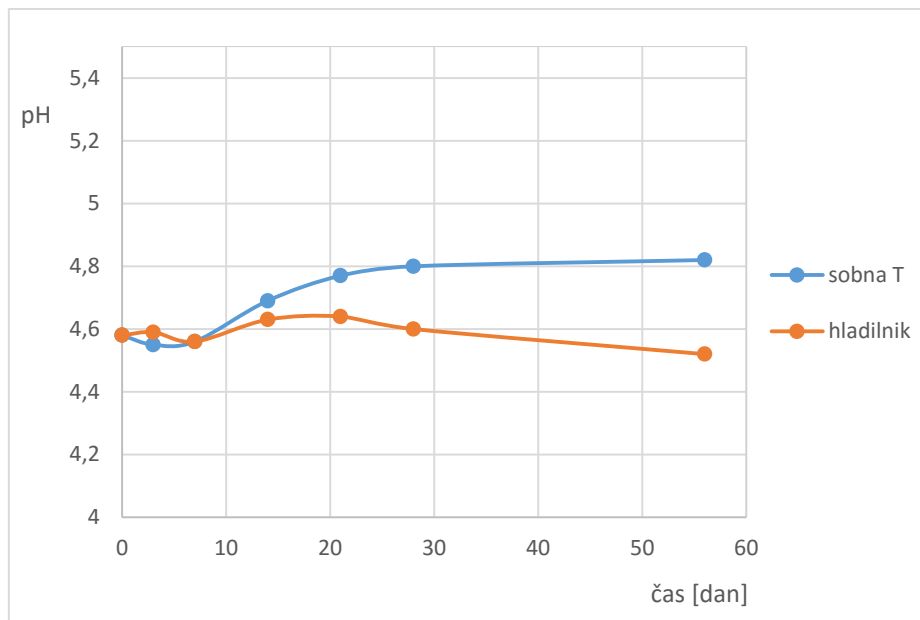
**Preglednica VIII:** pH vrednosti magistralno izdelanih sirupov s kloksacilinom pri sobni T

<i>sobna T</i>	<i>dan 0</i>	<i>dan 3</i>	<i>dan 7</i>	<i>dan 14</i>	<i>dan 21</i>	<i>dan 28</i>	<i>po 2 mesecih</i>
<i>vz1</i>	4.56	4.54	4.52	4.66	4.74	4.81	4.82
<i>vz2</i>	4.59	4.56	4.58	4.69	4.77	4.82	4.81
<i>vz3</i>	4.60	4.54	4.57	4.72	4.80	4.79	4.84
<i>povprečna vrednost</i>	4.58 ± 0.021	4.55 ± 0.013	4.56 ± 0.030	4.69 ± 0.027	4.77 ± 0.033	4.80 ± 0.015	4.82 ± 0.012

**Preglednica IX:** pH vrednosti magistralno izdelanih sirupov s kloksacilinom v hladilniku

<i>hladilnik</i>	<i>dan 0</i>	<i>dan 3</i>	<i>dan 7</i>	<i>dan 14</i>	<i>dan 21</i>	<i>dan 28</i>	<i>po 2 mesecih</i>
<i>vz1</i>	/	4.57	4.56	4.67	4.64	4.62	4.54
<i>vz2</i>	/	4.59	4.58	4.63	4.62	4.61	4.53
<i>vz3</i>	/	4.60	4.55	4.60	4.66	4.58	4.51
<i>povprečna vrednost</i>	/	4.59 ± 0.014	4.56 ± 0.016	4.63 ± 0.034	4.64 ± 0.017	4.60 ± 0.018	4.52 ± 0.016

Slika 16 prikazuje spreminjanje povprečnih pH vrednosti sirupov s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, in spreminjanje povprečnih pH vrednosti sirupov s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku.

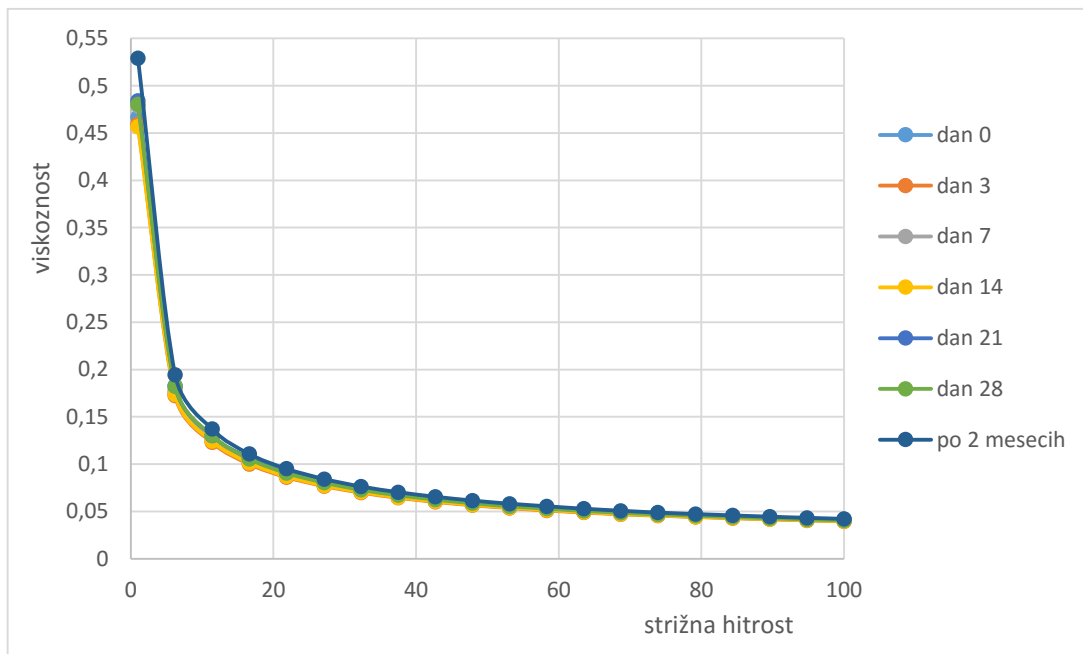


**Slika 16:** Spreminjanje povprečnih pH vrednosti sirupov s kloksacilinom med staranjem pri različnih pogojih shranjevanja

Spremembe v pH vrednostih so lahko pomemben znak morebitne mikrobiološke kontaminacije ali pa so lahko vzrok za kemijsko nestabilnost učinkovine. Rezultati meritev so pokazali, da med staranjem ni prišlo do zaznavnih sprememb med pH vrednostmi pri nobenem od vzorčnih sirupov. pH vrednosti so ostale znotraj meja, ki so značilne za to učinkovino tako pri sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, kot pri sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku. Pri sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku, so bile vrednosti bolj konstantne, medtem ko so se pri sirupih, ki so bili shranjeni pri sobni temperaturi in ki so glede na vsebnost učinkovine popolnoma nestabilni, vrednosti malenkost povišale. Stabilnost in topnost učinkovine pri teh pogojih shranjevanja torej nista bili odvisni od pH vrednosti pripravka, saj ni prišlo do velikih sprememb, kot je npr. za 2 do 3 pH enote. Manjša odstopanja v pH vrednostih med posameznimi sirupi so se verjetno pojavila tudi zaradi odstopanj aparature in našega odčitavanja rezultatov.

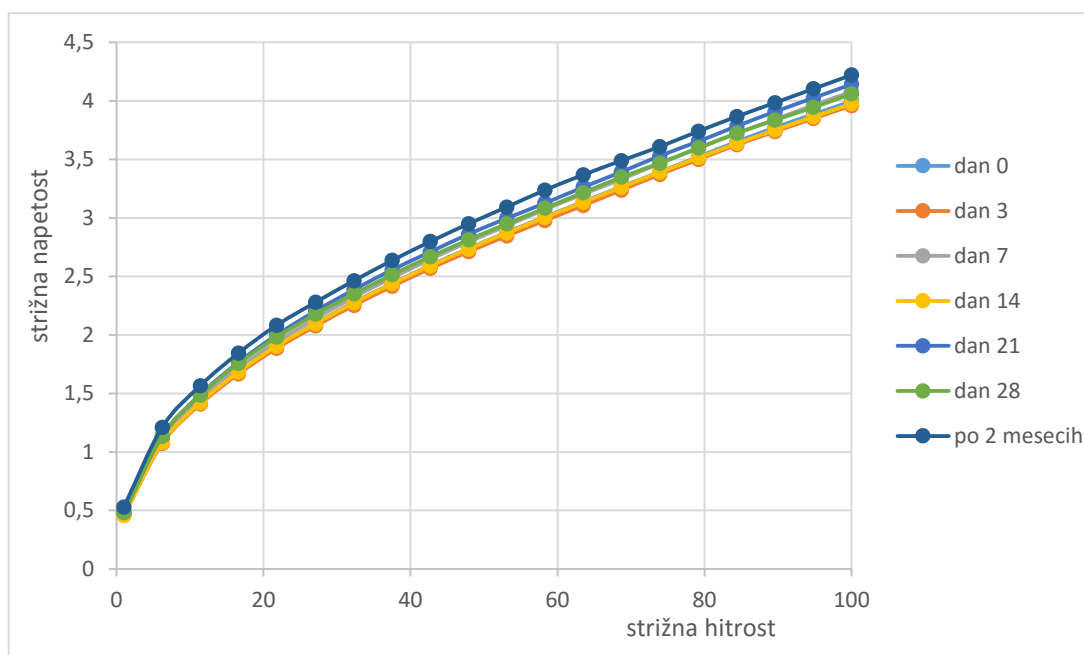
#### 4.1.3.2 SPREMLJANJE REOLOŠKIH LASTNOSTI

Na *Sliki 17* so prikazane viskoznostne krivulje, ki predstavljajo spreminjanje povprečnih vrednosti viskoznosti treh sirupov s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, v odvisnosti od strižne hitrosti v posamezni časovno določeni meritveni točki.



*Slika 17: Viskoznostne krivulje povprečnih vrednosti viskoznosti sirupov s kloksacilinom pri sobni T v posamezni časovno določeni meritveni točki*

Na *Sliki 18* so prikazani reogrami, ki predstavljajo spreminjanje povprečnih vrednosti strižnih napetosti treh sirupov s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, v odvisnosti od strižne hitrosti v posamezni časovno določeni meritveni točki.



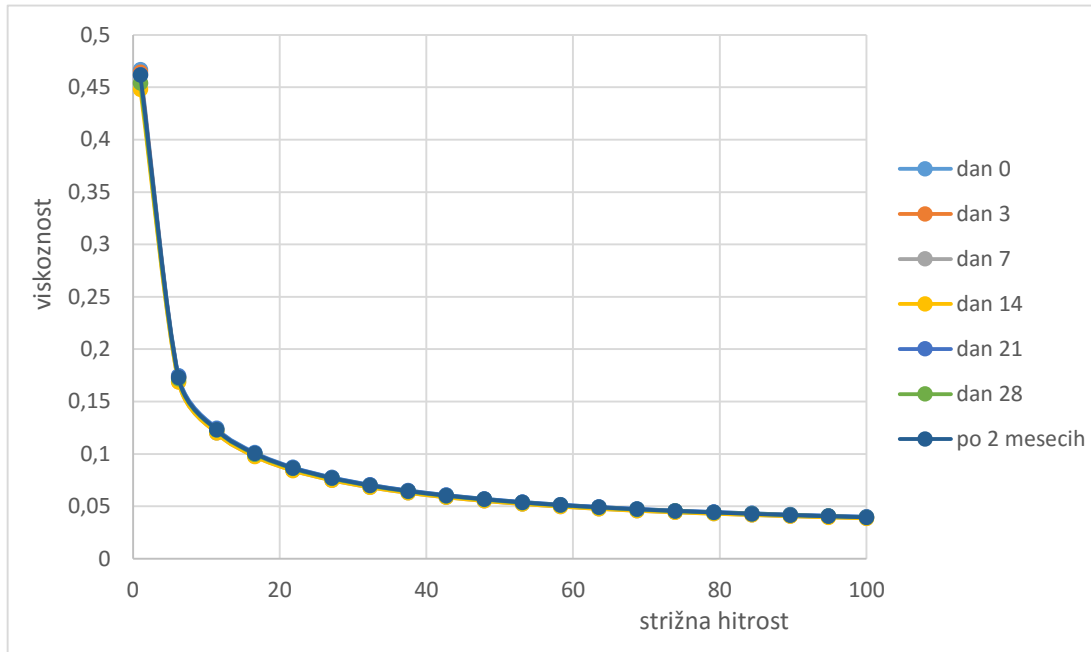
**Slika 18:** Reogrami povprečnih vrednosti strižnih napetosti sirupov s kloksacilinom pri sobni  $T$  v posamezni časovno določeni meritveni točki

V Preglednici X so predstavljene enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  za povprečne vrednosti strižnih napetosti treh sirupov s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, v posamezni časovno določeni meritveni točki.

**Preglednica X:** Enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  za povprečne vrednosti strižnih napetosti sirupov s kloksacilinom pri sobni  $T$  v posamezni časovno določeni meritveni točki

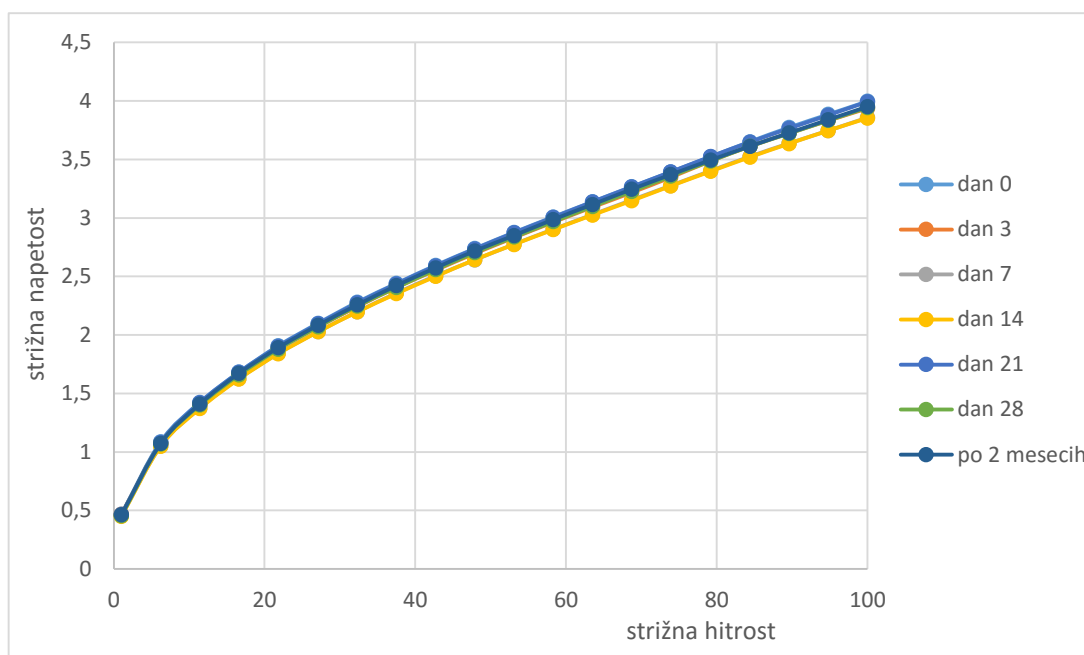
	<i>enačba premice</i>	$R^2$
<i>ob času 0</i>	$y = 0.0313x + 1.0826$	0.9587
<i>3. dan</i>	$y = 0.0311x + 1.0681$	0.9591
<i>7. dan</i>	$y = 0.0319x + 1.1049$	0.9588
<i>14. dan</i>	$y = 0.0311x + 1.0827$	0.9568
<i>21. dan</i>	$y = 0.0322x + 1.1445$	0.9551
<i>28. dan</i>	$y = 0.0314x + 1.1425$	0.9537
<i>po 2 mesecih</i>	$y = 0.0324x + 1.2189$	0.9520

Na *Sliki 19* so prikazane viskoznostne krivulje, ki predstavljajo spreminjanje povprečnih vrednosti viskoznosti treh sirupov s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku, v odvisnosti od strižne hitrosti v posamezni časovno določeni meritveni točki.



*Slika 19: Viskoznostne krivulje povprečnih vrednosti viskoznosti sirupov s kloksacilinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki*

Na *Sliki 20* so prikazani reogrami, ki predstavljajo spreminjanje povprečnih vrednosti strižnih napetosti treh sirupov s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku, v odvisnosti od strižne hitrosti v posamezni časovno določeni meritveni točki.



**Slika 20:** Reogrami povprečnih vrednosti strižnih napetosti sirupov s kloksacilinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki

V Preglednici XI so predstavljene enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  za povprečne vrednosti strižnih napetosti treh sirupov s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku, v posamezni časovno določeni meritveni točki.

**Preglednica XI:** Enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  za povprečne vrednosti strižnih napetosti sirupov s kloksacilinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki

	enačba premice	$R^2$
<b>ob času 0</b>	$y = 0.0313x + 1.0826$	0.9587
<b>3. dan</b>	$y = 0.0309x + 1.0649$	0.9596
<b>7. dan</b>	$y = 0.0301x + 1.047$	0.9587
<b>14. dan</b>	$y = 0.0301x + 1.0437$	0.9585
<b>21. dan</b>	$y = 0.0313x + 1.0782$	0.9586
<b>28. dan</b>	$y = 0.0309x + 1.0635$	0.9587
<b>po 2 mesecih</b>	$y = 0.0309x + 1.0754$	0.9574

Na podlagi rezultatov meritev smo v območju nižjih strižnih hitrosti opazili hiter padec viskoznosti z naraščanjem strižne hitrosti. Pri nadaljnjem naraščanju strižne hitrosti je viskoznost še naprej rahlo padala, vendar zelo počasi. Takšno obnašanje viskoznosti tekočine smo opazili tako pri sirupih s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, kot pri sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku (Slika 17 in Slika 19). Na



podlagi takšnega spreminjanja viskoznosti v odvisnosti od strižne hitrosti smo predvidevali, da gre pri sirupu s kloksacilinom, ki se nahaja v obliki suspenzije, za ne-newtonsko oz. realno tekočino, saj je pri teh sistemih takšno obnašanje značilno in pričakovano. Pri večji strižni hitrosti namreč pride do preurejanja suspendiranih delcev v smeri delovanja strižne sile, zaradi česar se zmanjša upor sistema in posledično tudi viskoznost. Do zaznavnih sprememb v vrednostih viskoznosti ni prišlo niti med različnima pogojevema shranjevanja sirupov niti skozi celoten čas staranja vzorcev (dva meseca). Na *Sliki 17* in *Sliki 19* lahko vidimo, da je viskoznost pri obeh pogojih shranjevanja padala v skoraj enakem območju. Prav tako so se krivulje, ki prikazujejo spreminjanje viskoznosti v odvisnosti od strižne hitrosti v posamezni časovno določeni meritveni točki, pri obeh pogojih shranjevanja skoraj popolnoma prekrivale, le da so bili rezultati pri sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku, skladnejši in je bilo pri njih med staranjem manj nihanj. Tako smo lahko sklenili, da so sirupi s kloksacilinom med staranjem fizikalno stabilni ne glede na pogoj shranjevanja.

Naša predvidevanja o uvrščanju sirupov s kloksacilinom med realne tekočine smo potrdili s prikazom spreminjanja strižne napetosti v odvisnosti od strižne hitrosti. Odziv ni bil linearen (*Preglednica X* in *Preglednica XI*), kar je značilno za ne-newtonske oz. realne tekočine. Tudi pri odzivu strižne napetosti smo opazili enako obnašanje tako pri sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, kot pri sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku (*Slika 18* in *Slika 20*). Razlike v vrednostih strižne napetosti so bile med različnima pogojevema shranjevanja sirupov in skozi celoten čas staranja vzorcev (dva meseca) majhne. Na *Sliki 18* in *Sliki 20* lahko vidimo, da se je strižna napetost pri obeh pogojih shranjevanja spreminjala v skoraj enakem območju, le da so bile vrednosti sirupov, ki smo jih starali v hladilniku, malenkost nižje. Krivulje, ki prikazujejo spreminjanje strižne napetosti v posamezni časovno določeni meritveni točki, so se pri sirupih, ki smo jih starali v hladilniku, skoraj popolnoma prekrivale, le pri višjih strižnih hitrostih je prišlo do manjšega odstopanja oz. so se vrednosti malenkost povišale. Pri sirupih, ki smo jih starali pri sobni temperaturi, je prišlo do večjih razlik, vendar znotraj ozkega območja. Tudi pri tem pogoju shranjevanja smo opazili, da so vrednosti strižne napetosti s staranjem vzorcev rahlo naraščale. Manjše spremembe, ki so se pojavile v izmerjenih vrednostih tako viskoznosti kot strižnih napetosti, so po vsej verjetnosti tudi posledica sprememb našega nanašanja vzorcev na statično ploščo senzorskega sistema ter različnih pogojev okolja, v katerem smo izvajali meritve.

#### 4.1.3.3 SPREMLJANJE ORGANOLEPTIČNIH LASTNOSTI

Pri sirupih s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, pri meritvah ob času 0 ter 3. in 7. dan nismo opazili večjih sprememb v barvi in vonju. Sirupi so bili na videz motni in bele barve z rahlim roza odtenkom. Imeli so rahlo sladke vonj po češnjah, malenkost se je vonjalo tudi žveplo. Pri kasnejših meritvah se je motnost sirupov še povečala, barva je postajala belo rumena, intenzivnost vonja po češnjah je padala, medtem ko je intenzivnost vonja po žveplu naraščala. Pri meritvah po 21. dnevu smo opazili spremembo tudi v konsistenci sirupa, ki je na videz postala bolj tekoča, vonj po češnjah pa je bil komaj še zaznaven. Rasti mikroorganizmov nismo opazili v nobenem vzorčnem sirupu.

Pri sirupih s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku, pri meritvah 3., 7., 14. in 21. dan nismo opazili večjih sprememb v barvi in vonju. Sirupi so bili na videz motni in bele barve z rahlim roza odtenkom. Imeli so rahlo sladke vonj po češnjah, malenkost se je vonjalo tudi žveplo. Pri meritvah, ki so potekale 28. dan, smo opazili, da so sirupi postali na videz malce bolj prozorni, roza odtenek je bil rahlo zaznaven. Po dveh mesecih opazovanj se je motnost suspenzije še malenkost zmanjšala. Sirupi so postali še bolj prozorni in bolj tekoče konsistence. Pojavila se je belo rumena barva, ki je bila manj intenzivna kot pri sirupih, ki so bili shranjeni na sobni temperaturi. Opazili smo tudi drobne mehurčke. Vonj po češnjah je bil še rahlo zaznaven, žveplo se je močneje vonjalo. Rasti mikroorganizmov nismo opazili v nobenem vzorčnem sirupu.

Poleg vonja in videza je zelo pomemben dejavnik, ki pri otrocih vpliva na pravilno jemanje zdravila, okus. Kloksacilin je zelo grenka učinkovina in glede na nekatere raziskave spada med tiste z najmanj prijetnim okusom. Čeprav smo pri pripravi sirupov uporabili vehikel, ki vsebuje večjo količino sladila in še dodatno korigens okusa, se moramo zavedati, da s tem zelo grenek okus učinkovine težko prekrijemo. V nadaljnje bi tako bilo potrebno razmisliti kako še izboljšati korigiranje okusa sirupa s kloksacilinom oz. se poglobiti v razvoj novih FO, ki bi bile za otroke še sprejemljivejše in bi s tem tudi izboljšali complianco pri otrocih.

## 4.2 SIRUPI S KLINDAMICINOM

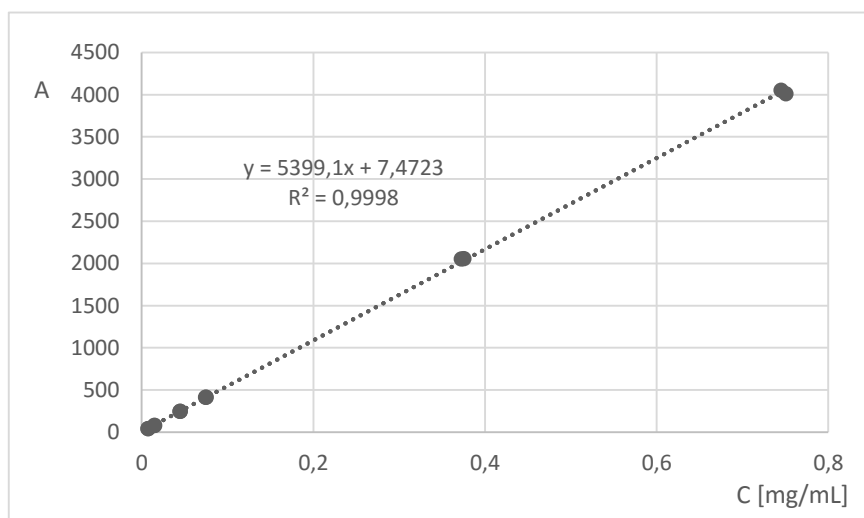
### 4.2.1 Razvoj analizne metode

Rezultati obeh testnih in vseh referenčnih raztopin s klindamicinom, ki smo jih pridobili po analizi z metodo HPLC, so predstavljeni v *Preglednici XII*.

**Preglednica XII:** Rezultati obeh testnih in vseh referenčnih raztopin s klindamicinom po analizi z metodo HPLC

	1. testna raztopina		2. testna raztopina	
natehta klindamicinijevega hidroklorida [mg]	40.45		40.75	
	C [mg/L]	A	C [mg/L]	A
testna raztopina	745.0	4053.1	750.60	4008.5
1. referenčna raztopina	372.50	2053.4	375.30	2056.9
2. referenčna raztopina	74.50	414.5	75.06	412.2
3. referenčna raztopina	44.70	248	45.04	245
4. referenčna raztopina	14.90	81.7	15.01	81.7
5. referenčna raztopina	7.45	40.7	7.51	40.6

Iz pridobljenih vrednosti površin pod kromatografskimi vrhovi smo s pomočjo linearne regresije za vsako testno raztopino posebej določili umeritveno premico in determinacijski koeficient. Skupna umeritvena premica za obe testni raztopini je prikazana na *Sliki 21*, enačbe posameznih umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  pa so predstavljeni v *Preglednici XIII*.



**Slika 21:** Skupna umeritvena premica za obe testni raztopini s klindamicinom

**Preglednica XIII:** Enačbe posameznih umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  za testni raztopini s klindamicinom

	<i>enačba premice</i>	$R^2$
<i>1. testna raztopina</i>	$y = 5445.4x + 5.9025$	1
<i>2. testna raztopina</i>	$y = 5353.7x + 8.9331$	0.9998
<i>skupno</i>	$y = 5399.1x + 7.4723$	0.9998

Glede na pridobljeni vrednosti  $R^2$ , ki sta bili pri obeh testnih raztopinah večji od določene spodnje meje sprejemljivosti (0.9990), smo lahko potrdili linearnost izbrane metode v območju med 7.5 mg/L in 750.6 mg/L. Prav tako smo lahko na podlagi dobljenih  $R^2$  trdili, da so bile eksperimentalne napake pripravljanja vzorcev ter meritev zelo majhne in so bili pridobljeni rezultati zanesljivi, metoda pa primerna za spremljanje koncentracij sirupov s klindamicinom v vsaki časovno določeni meritveni točki. Z izračunom RSD smo potrdili tudi dobro ponovljivost in natančnost kromatografskega sistema. Izračunan RSD je znašal 0.27 % in tako ustrezal zahtevanemu kriteriju (< 1.0 %).

#### 4.2.2 Stabilnost magistralno izdelanih sirupov s klindamicinom

Tudi spreminjanje vsebnosti klindamicina v sirupih smo spremljali v posameznih časovno določenih meritvenih točkah: ob času 0, 3. dan, 7. dan, 14. dan, 21. dan, 28. dan in po dveh mesecih. V *Preglednici XIV* je predstavljena vsebnost klindamicina v magistralno izdelanih sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi. Vsebnost klindamicina v sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku, je predstavljena v *Preglednici XV*. Vsebnost v posamezni meritveni točki smo prikazali procentualno glede na izmerjeno začetno koncentracijo klindamicina.

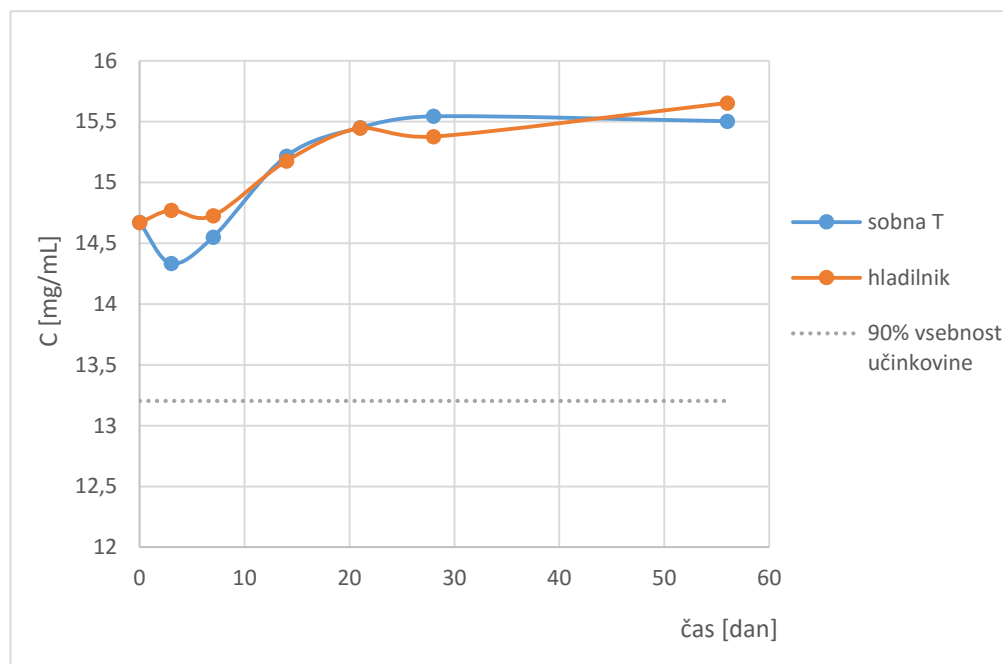
**Preglednica XIV:** Vsebnost klindamicina v magistralno izdelanih sirupih, ki so bili shranjeni pri sobni  $T$ 

<i>sobna T</i>	<i>dan 0</i> [mg/mL]	<i>dan 3</i> [%]	<i>dan 7</i> [%]	<i>dan 14</i> [%]	<i>dan 21</i> [%]	<i>dan 28</i> [%]	<i>po 2</i> <i>meseceh</i> [%]
<i>vz1</i>	14.96	95.05	95.72	103.81	102.94	102.14	101.54
<i>vz2</i>	14.30	101.54	98.67	103.92	107.69	108.67	107.90
<i>vz3</i>	14.75	96.68	103.19	103.46	105.42	107.19	107.73
<i>povprečna</i> <i>vrednost</i>	$14.67 \pm 0.34$	$97.76 \pm 3.37$	$99.19 \pm 3.76$	$103.73 \pm 0.24$	$105.35 \pm 2.38$	$105.0 \pm 3.42$	$105.72 \pm 3.63$

**Preglednica XV:** Vsebnost klindamicina v magistralno izdelanih sirupih, ki so bili shranjeni v hladilniku

hladilnik	dan 0 [mg/mL]	dan 3 [%]	dan 7 [%]	dan 14 [%]	dan 21 [%]	dan 28 [%]	po 2 meseceh [%]
vz1	/	98.06	98.46	99.67	102.54	102.47	104.55
vz2	/	102.45	103.22	105.73	110.63	107.62	109.09
vz3	/	101.63	99.59	105.08	102.92	104.47	106.58
<b>povprečna vrednost</b>	/	100.71 ± 2.33	100.42 ± 2.48	103.49 ± 3.33	105.36 ± 4.57	104.86 ± 2.60	106.74 ± 2.28

Slika 22 prikazuje spreminjanje povprečne koncentracije klindamicina v sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, in spreminjanje povprečne koncentracije klindamicina v sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku, skozi celoten čas staranja.



**Slika 22:** Spreminjanje povprečne koncentracije klindamicina v sirupih med staranjem pri različnih pogojih shranjevanja

Rezultati so pokazali, da so magistralno izdelani sirupi s klindamicinom ostali stabilni skozi celoten čas staranja ne glede na pogoj shranjevanja. Njihova vsebnost učinkovine ni padla pod zahtevan kriterij stabilnosti, tj. 90 % začetne vsebnosti učinkovine, niti po dveh mesecih staranja. Prav tako ni bilo pomembnih vidnih razlik niti med posameznimi kromatogrami, ki smo jih pridobili z analizo sirupov. Pojavnost in višine kromatografskih vrhov so ostajale

zelo podobne (*Priloga V*). Z analizo smo tako potrdili, da so imeli magistralno izdelani sirupi s klindamicinom, ki so bili shranjeni pri sobni temperaturi ali v hladilniku, rok uporabe vsaj dva meseca.

Tudi pri sirupih s klindamicinom, tako tistih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, kot tistih, ki smo jih shranjevali v hladilniku, so se med staranjem pojavila manjša nihanja v vsebnosti učinkovine oz. je ta večino časa rahlo naraščala. Vzroki tega nihanja so verjetno bile spremembe v delovnih pogojih, odstopanja pri doseganju ponovljive priprave vzorcev, manjše napake samega analiznega postopka in izhlapevanje topila pri pripravi vzorcev. Ob morebitnem nadaljevanju trenda naraščanja vsebnosti učinkovine s signifikantno velikimi izkoristki, bi bile potrebne še dodatne raziskave, s katerimi bi lahko naraščanje vsebnosti še dodatno utemeljili.

#### 4.2.2.1 DOLOČITEV KINETIKE RAZPADA KLINDAMICINA

Kot smo že ugotovili na podlagi rezultatov spreminjanja vsebnosti učinkovine, ki smo jih pridobili z analizo vzorcev s HPLC metodo med staranjem, so sirupi s klindamicinom stabilni vsaj dva meseca in to ne glede na pogoj shranjevanja. Poleg tega nismo opazili, da bi prišlo do signifikantnega zmanjšanja količine učinkovine niti med območjem, ki smo ga upoštevali kot kriterij stabilnosti. Vsebnost klindamicina je namreč celo rahlo naraščala. Na podlagi že dokazanega torej nismo mogli sklepati o kinetiki razpada klindamicina, saj do tega med dvomesečnim staranjem ni prišlo.

### 4.2.3 Spremembe v kemijskih, fizikalnih in organoleptičnih lastnostih

#### 4.2.3.1 SPREMLJANJE pH VREDNOSTI

V *Preglednici XVI* so predstavljeni rezultati meritev pH vrednosti magistralno izdelanih sirupov s klindamicinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi. Rezultati meritev pH vrednosti sirupov, ki smo jih shranjevali v hladilniku, so predstavljeni v *Preglednici XVII*.

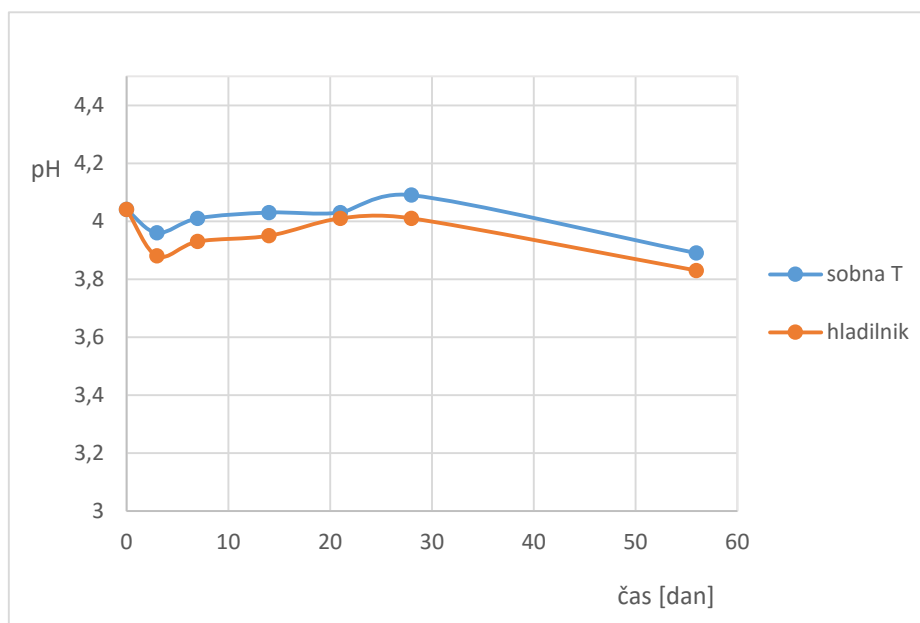
**Preglednica XVI:** pH vrednosti magistralno izdelanih sirupov s klindamicinom pri sobni T

sobna T	dan 0	dan 3	dan 7	dan 14	dan 21	dan 28	po 2 mesecih
vz1	4.05	3.95	4.08	4.02	4.02	4.04	3.87
vz2	4.0	3.92	3.96	3.99	4.05	4.10	3.93
vz3	4.06	4.0	3.99	4.08	4.03	4.12	3.88
<b>povprečna vrednost</b>	4.04 ± 0.029	3.96 ± 0.042	4.01 ± 0.062	4.03 ± 0.047	4.03 ± 0.019	4.09 ± 0.039	3.89 ± 0.036

**Preglednica XVII:** pH vrednosti magistralno izdelanih sirupov s klindamicinom v hladilniku

hladilnik	dan 0	dan 3	dan 7	dan 14	dan 21	dan 28	po 2 mesecih
vz1	/	3.89	3.94	3.96	4.02	4.02	3.86
vz2	/	3.88	3.93	3.95	4.0	4.01	3.82
vz3	/	3.88	3.92	3.95	4.0	4.01	3.82
<b>povprečna vrednost</b>	/	3.88 ± 0.007	3.93 ± 0.011	3.95 ± 0.005	4.01 ± 0.011	4.01 ± 0.006	3.83 ± 0.023

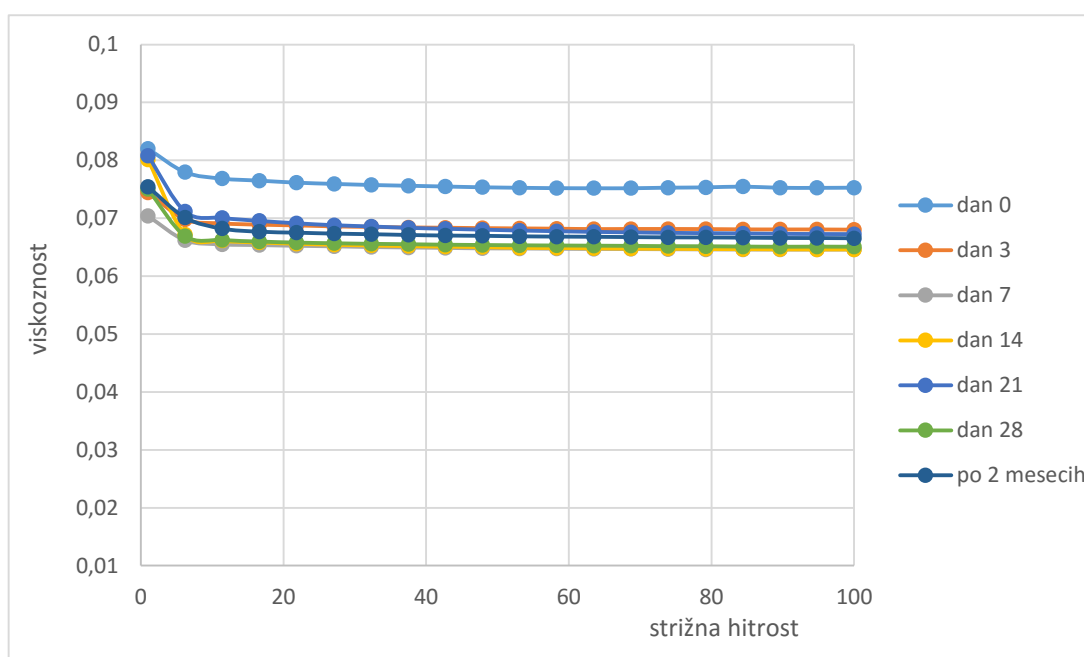
Slika 23 prikazuje spreminjanje povprečnih pH vrednosti sirupov s klindamicinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, in spreminjanje povprečnih pH vrednosti sirupov s klindamicinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku.

**Slika 23:** Spreminjanje povprečnih pH vrednosti sirupov s klindamicinom med staranjem pri različnih pogojih shranjevanja

Rezultati meritev so pokazali, da tudi med staranjem sirupov s klindamicinom ni prišlo do zaznavnih sprememb med pH vrednostmi pri nobenem od vzorčnih sirupov. pH vrednosti so ostale znotraj meja, ki so značilne za to učinkovino, pri obeh pogojih shranjevanja. Pri sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku so bile vrednosti malenkost nižje. Med meritvijo, ki je potekala 28. dan, in meritvijo po dveh mesecih smo opazili rahel padec pH vrednosti, ki pa še vedno ni bil občuten. Kemijska stabilnost in topnost učinkovine pri teh pogojih shranjevanja torej nista bili odvisni od pH vrednosti pripravka, saj tako kot pri sirupih s kloksacilinom, tudi tukaj ni prišlo do velikih sprememb. Manjša odstopanja so se verjetno pojavila zaradi odstopanj aparature in našega odčitavanja rezultatov.

#### 4.2.3.2 SPREMLJANJE REOLOŠKIH LASTNOSTI

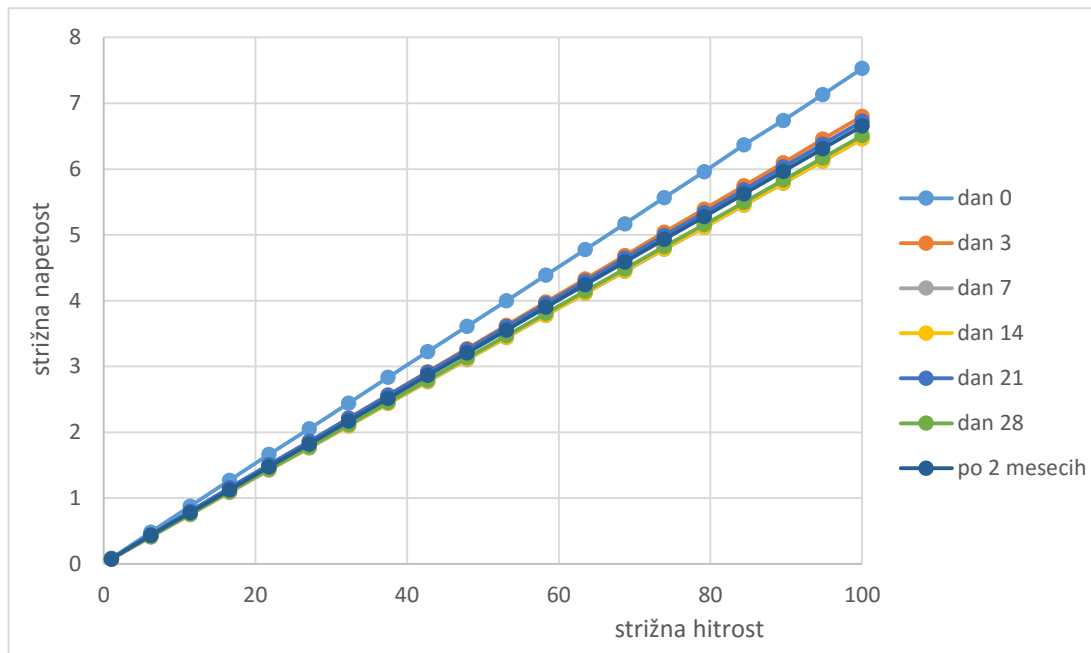
Na *Sliki 24* so prikazane viskoznostne krivulje, ki predstavljajo spreminjanje povprečnih vrednosti viskoznosti treh sirupov s klindamicinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, v odvisnosti od strižne hitrosti v posamezni časovno določeni meritveni točki.



**Slika 24:** Viskoznostne krivulje povprečnih vrednosti viskoznosti sirupov s klindamicinom pri sobni  $T$  v posamezni časovno določeni meritveni točki

Na *Sliki 25* so prikazani reogrami, ki predstavljajo spreminjanje povprečnih vrednosti strižnih napetosti treh sirupov s klindamicinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, v odvisnosti od strižne hitrosti v posamezni časovno določeni meritveni točki.





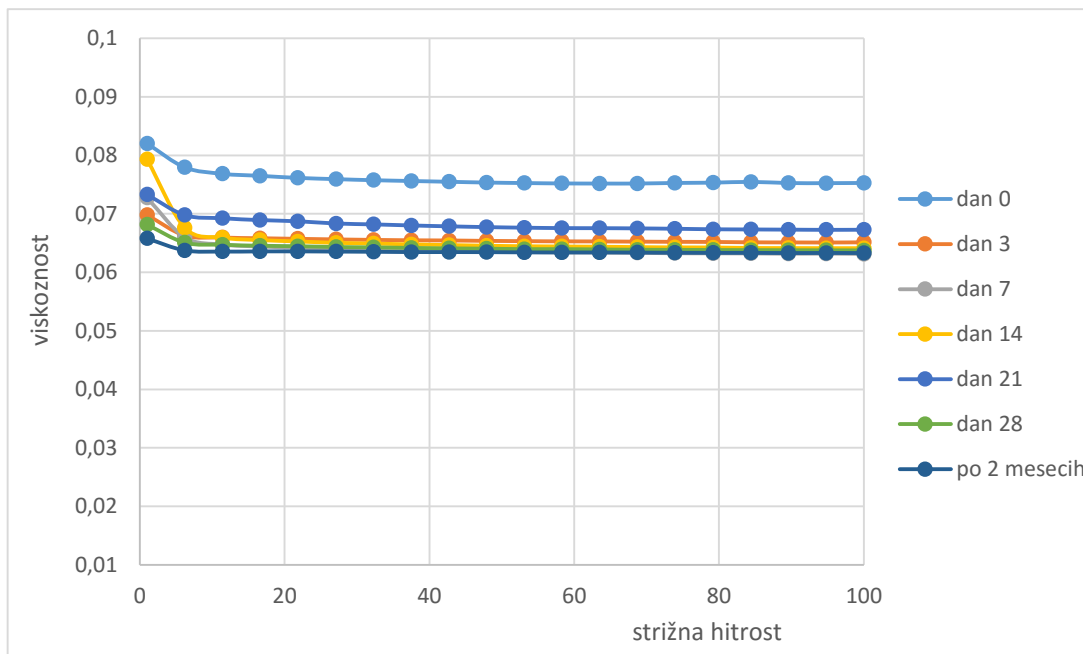
*Slika 25: Reogrami povprečnih vrednosti strižnih napetosti sirupov s klindamicinom pri sobni T v posamezni časovno določeni meritveni točki*

V Preglednici XVIII so predstavljene enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  za povprečne vrednosti strižnih napetosti treh sirupov s klindamicinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, v posamezni časovno določeni meritveni točki.

**Preglednica XVIII:** Enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  za povprečne vrednosti strižne napetosti sirupov s klindamicinom pri sobni T v posamezni časovno določeni meritveni točki

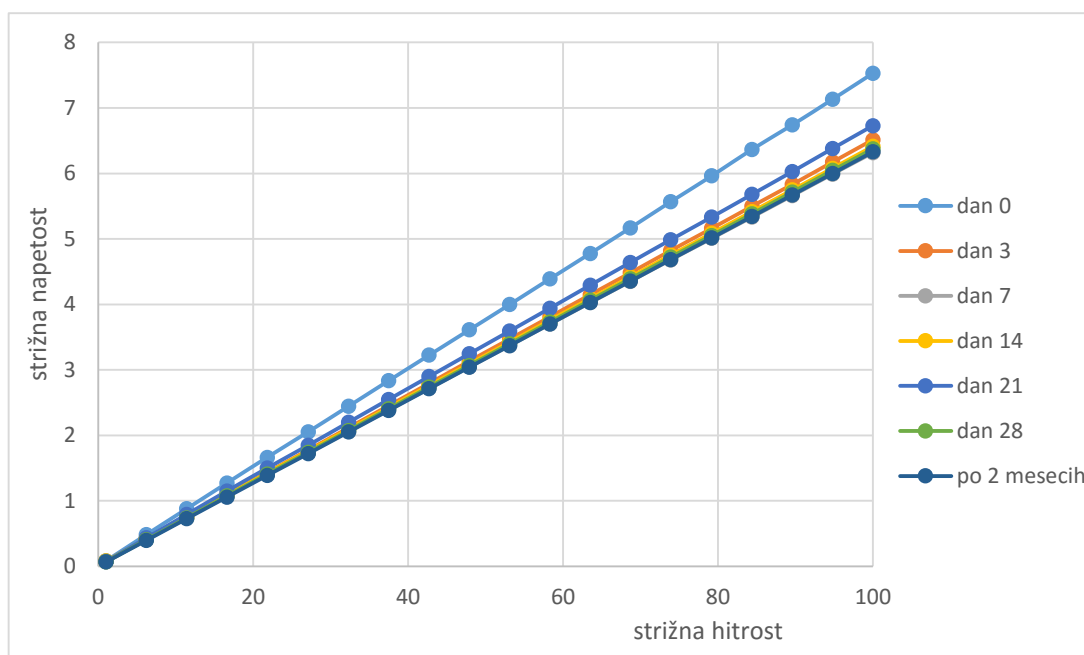
	<i>enačba premice</i>	$R^2$
<b>ob času 0</b>	$y = 0.0751x + 0.0178$	1
<b>3. dan</b>	$y = 0.0679x + 0.017$	1
<b>7. dan</b>	$y = 0.0644x + 0.0149$	1
<b>14. dan</b>	$y = 0.0644x + 0.024$	1
<b>21. dan</b>	$y = 0.0669x + 0.041$	1
<b>28. dan</b>	$y = 0.0649x + 0.0182$	1
<b>po 2 mesecih</b>	$y = 0.0664x + 0.0241$	1

Na *Sliki 26* so prikazane viskoznostne krivulje, ki predstavljajo spreminjanje povprečnih vrednosti viskoznosti treh sirupov s klindamicinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku, v odvisnosti od strižne hitrosti v posamezni časovno določeni meritveni točki.



*Slika 26: Viskoznostne krivulje povprečnih vrednosti viskoznosti sirupov s klindamicinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki*

Na *Sliki 27* so prikazani reogrami, ki predstavljajo spreminjanje povprečnih vrednosti strižnih napetosti treh sirupov s klindamicinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku, v odvisnosti od strižne hitrosti v posamezni časovno določeni meritveni točki.



**Slika 27:** Reogrami povprečnih vrednosti strižnih napetosti sirupov s klindamicinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki

V Preglednici XIX so predstavljene enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  za povprečne vrednosti strižnih napetosti treh sirupov s klindamicinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku, v posamezni časovno določeni meritveni točki.

**Preglednica XIX:** Enačbe umeritvenih premic in njim pripadajoči  $R^2$  za povprečne vrednosti strižne napetosti sirupov s klindamicinom v hladilniku v posamezni časovno določeni meritveni točki

	<i>enačba premice</i>	$R^2$
<b>ob času 0</b>	$y = 0.0751x + 0.0178$	1
<b>3. dan</b>	$y = 0.065x + 0.0136$	1
<b>7. dan</b>	$y = 0.063x + 0.0232$	1
<b>14. dan</b>	$y = 0.0639x + 0.0283$	1
<b>21. dan</b>	$y = 0.067x + 0.0282$	1
<b>28. dan</b>	$y = 0.0636x + 0.0154$	1
<b>po 2 mesecih</b>	$y = 0.0632x + 0.007$	1

Na podlagi rezultatov meritev smo v območju nižjih strižnih hitrosti, med prvo in drugo meritveno točko, opazili manjši padec viskoznosti z naraščanjem strižne hitrosti. Ta padec se je zgodil znotraj zelo ozkega območja viskoznosti. Pri nadaljnjem naraščanju strižne hitrosti pa se viskoznost skoraj ni več spreminjala, kar je nakazovalo na njeno neodvisnost od strižne hitrosti. Enako obnašanje viskoznostnih krivulj smo opazili tako pri sirupih s

klindamicinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, kot pri sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku (*Slika 24* in *Slika 26*). Na podlagi takšnega spreminjanja viskoznosti v odvisnosti od strižne hitrosti smo predvidevali, da gre pri sirupu s klindamicinom, ki se nahaja v obliki raztopine, za newtonsko oz. idealno tekočino, za katero je značilno, da je viskoznost neodvisna od strižne hitrosti. Do manjših razlik, ki pa niso bile občutne, saj so se zgodile v zelo ozkem območju viskoznosti, je prišlo v vrednostih med različnima pogojema shranjevanja sirupov ter skozi celoten čas staranja vzorcev (dva meseca). Na *Sliki 24* in *Sliki 26* lahko vidimo, da se je viskoznost pri obeh pogojih shranjevanja spreminjala v skoraj enakem območju, le pri sirupih, ki smo jih starali v hladilniku, so bile vrednosti malenkost nižje. Pri prekrivanju krivulj, ki prikazujejo spreminjanje viskoznosti v odvisnosti od strižne hitrosti v posamezni časovno določeni meritveni točki, je prav tako prišlo do manjših odstopanj. Pri sirupih, ki smo jih analizirali ob času 0, smo zaznali višje vrednosti pri obeh pogojih shranjevanja, ki so po vsej verjetnosti bile posledica manipulacije pri izdelavi. Meritve ob času 0 smo namreč zaradi lažje izvedbe opravili dan po izdelavi sirupov.

Naša predvidevanja o idealni tekočini smo potrdili s prikazom spreminjanja strižne napetosti v odvisnosti od strižne hitrosti. Strižna napetost je s povečevanjem strižne hitrosti naraščala popolnoma linearno (*Preglednica XVIII* in *Preglednica XIX*), kar je značilno za newtonske oz. idealne tekočine. Tudi pri odzivu strižne napetosti smo opazili enako obnašanje tako pri sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, kot pri sirupih, ki smo jih shranjevali v hladilniku (*Slika 25* in *Slika 27*). Spremembe v vrednostih strižne napetosti so bile med različnima pogojema shranjevanja sirupov in skozi celoten čas staranja vzorcev (dva meseca) zelo majhne, praktično skoraj nezaznavne. Na *Sliki 25* in *Sliki 27* lahko vidimo, da se je strižna napetost pri obeh pogojih shranjevanja tudi pri sirupih s klindamicinom spreminjala v enakem območju, prav tako so se krivulje, ki prikazujejo posamezno časovno določeno meritveno točko, skoraj prekrivale, le pri višjih strižnih hitrosti je prišlo manjših razlik med posameznimi meritvami. Do večjega odstopanja je prišlo samo pri sirupih, ki smo jih analizirali ob času 0, katerih vrednosti so bile ponovno malce višje od ostalih in so po vsej verjetnosti bile posledica sprememb našega nanašanja vzorcev na statično ploščo senzorskega sistema, prav tako pa tudi različnih pogojev okolja, v katerem smo izvajali meritve.

#### 4.2.3.3 SPREMLJANJE ORGANOLEPTIČNIH LASTNOSTI

Pri sirupih s klindamicinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, pri meritvah 0., 3., 7. in 14. dan nismo opazili večjih sprememb v barvi in vonju. Sirupi so bili na videz prozorni in lepe škrlatne barve z intenzivnim sladkim vonjem po česnjah. Videz se ni spremenil niti pri kasnejših meritvah, le vonj po česnjah je postal malo manj intenziven, hkrati pa se je pričelo rahlo vonjati žveplo. Rasti mikroorganizmov nismo opazili v nobenem vzorčnem sirupu.

Pri sirupih s klindamicinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku, nismo opazili večjih sprememb v barvi in vonju skozi celotna dva meseca opazovanj. Sirupi so bili na videz prozorni in lepe škrlatne barve z intenzivnim sladkim vonjem po česnjah. Pri meritvah, ki smo jih izvedli 28. dan in po dveh mesecih, se je pričelo čisto rahlo vonjati žveplo. Rasti mikroorganizmov nismo opazili v nobenem vzorčnem sirupu.

Prav tako kot kloksacilin je tudi klindamicin zelo grenka učinkovina. Po poročanju nekaterih raziskav spada med učinkovine z zelo neprijetnim okusom, poleg tega lahko po daljši terapiji v ustih zaznamo kovinski okus. Tudi pri teh sirupih lahko grenek okus z uporabo vehikla, ki vsebuje sladilo in korigens okusa, prekrijemo le delno, zaradi česar je vprašljivo pravilno jemanje zdravila pri otrocih. Tako so tudi pri pripravi sirupa s klindamicinom potrebni nadaljnji razmisleki o izboljšanju okusa oz. o alternativnih metodah oblikovanja zdravila z neprijetnim okusom.

## 5 SKLEP

Z raziskovalnim delom magistrske naloge smo uspešno pridobili potrebne informacije o stabilnosti magistralno izdelanih sirupov s kloksacilinom in klindamicinom za otroke ter tako optimizirali njihovo nadaljnjo pripravo in uporabo. Sirupe s kloksacilinom in klindamicinom smo izdelali v Lekarni UKC Ljubljana. Za spremljanje koncentracije učinkovine v sirupih med staranjem smo izbrali metodo HPLC zaradi enostavnosti uporabe in priprave vzorcev, dobre selektivnosti in visoke občutljivosti. Najprej smo razvili analizni metodi, ki smo ju potrebovali za izračun koncentracij kloksacilina in klindamicina v naših vzorcih ter za preverjanje ustreznosti kromatografskega sistema. Linearnost analizne metode za sirupe s kloksacilinom smo potrdili v koncentracijskem območju med 1.7 mg/L in 172.8 mg/L z uporabo testne raztopine, ki smo jo pripravili z raztapljanjem učinkovine kloksacilin, katero smo imeli na voljo v obliki 500 mg trdnih kapsul. Vrednotenje te analizne metode bi v prihodnje lahko optimizirali z uporabo standarda. Linearnost analizne metode za sirupe s klindamicinom pa smo potrdili v koncentracijskem območju med 7.5 mg/L in 750.6 mg/L z uporabo testne raztopine, ki smo jo pripravili z raztapljanjem učinkovine klindamicinijev klorid. Pri obeh analiznih metodah smo potrdili tudi zanesljivost rezultatov ter dobro ponovljivost in natančnost kromatografskega sistema.

### 5.1 SIRUPI S KLOKSACILINOM

Potrdili smo ustrezno stabilnost in kakovost magistralno izdelanih sirupov s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali v hladilniku, ter določili rok uporabnosti 1 mesec. Sirupi, ki smo jih shranjevali v hladilniku, so v času enega meseca izkazovali tudi ustrezno fizikalno in mikrobiološko stabilnost. Med staranjem ni prišlo do zaznavnih sprememb v videzu in vonju ter med pH vrednostmi pri nobenem od vzorčnih sirupov. Prav tako ni prišlo do občutnih sprememb niti v vrednostih viskoznosti in strižnih napetosti v odvisnosti od strižne hitrosti. Rezultati so bili skladni, manjša nihanja pa so se pojavila le v zelo ozkih območjih. V prihodnje bi lahko fizikalno stabilnost suspenzije s kloksacilinom še dodatno ovrednotili s spremljanjem hitrosti sedimentacije. Prav tako bi bili potrebni razmisleki o izboljšanju okusa sirupa s kloksacilinom ali o razvoju nove FO za otroke, saj lahko pri obliki, ki smo jo analizirali, pričakujemo slabšo complianco zaradi grenkega okusa učinkovine.

Sirupi s kloksacilinom, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, so tekom staranja prav tako izkazovali dobro fizikalno stabilnost. V primerjavi z vzorčnimi sirupi, ki so bili shranjeni v hladilniku, so se pH vrednosti tekom staranja le malenkost povešale. Prav tako ni prišlo do večjih sprememb v vrednostih viskoznosti in strižnih napetosti v odvisnosti od strižne hitrosti. Opazili pa smo občuten padec v vsebnosti kloksacilina in odstopanja v organoleptičnih lastnostih sirupov. Ugotovili smo, da lahko reakcijsko hitrost razpada kloksacilina v sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, opišemo s 1. redom reakcije in z izračunom  $t_{90\%}$  še dodatno potrdili popolno nestabilnost sirupov. Vsebnost kloksacilina v sirupih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, je namreč padla pod zahtevan kriterij stabilnosti že po 1.58 dneva.

Na podlagi pridobljenih rezultatov smo zaključili, da mora signatura sirupa s kloksacilinom vsebovati vse podatke, ki jih določa pravilnik o označevanju magistralnih pripravkov, z rokom uporabnosti 1 mesec ter dodatnima opozoriloma: »Pred uporabo pretresite!« in »Shranjujte v hladilniku!«.

## 5.2 SIRUPI S KLINDAMICINOM

Potrdili smo ustrezno stabilnost in kakovost magistralno izdelanih sirupov s klindamicinom, tako tistih, ki smo jih shranjevali pri sobni temperaturi, kot tistih, ki smo jih shranjevali v hladilniku, ter določili rok uporabnosti 2 meseca. Opazili smo, da so koncentracije klindamicina v sirupih s staranjem rahlo naraščale. Verjetno so bili vzroki tega naraščanja temperaturne spremembe v delovnem okolju in posledično tudi razlike v izhlapevanju topila pri pripravi vzorcev. Ob morebitnih nadaljevanju naraščanja vsebnosti učinkovine, bi bile potrebne dodatne raziskave. Sirupi so tekom staranja izkazovali tudi ustrezno fizikalno in mikrobiološko stabilnost, saj ni prišlo do zaznavnih sprememb v videzu in vonju ter med pH vrednostmi pri nobenem od vzorčnih sirupov. Prav tako ni prišlo do občutnih sprememb niti v vrednostih viskoznosti in strižnih napetosti v odvisnosti od strižne hitrosti. Manjša nihanja so se pojavila le v zelo ozkih območjih. Razmisleki pa so potrebni glede izboljšanja okusa sirupa ali razvoja nove FO s klindamicinom, saj lahko pri obliki, ki smo jo analizirali, prav tako pričakujemo slabšo complianco zaradi grenkega okusa učinkovine.

Ustrezna signatura sirupa s klindamicinom bi tako morala vsebovati vse podatke, ki jih določa pravilnik o označevanju magistralnih pripravkov, z rokom uporabnosti 2 meseca.

## 6 LITERATURA

- (1) Jackson M, Lowey A: Handbook of Extemporaneous Preparation: A guide to pharmaceutical compounding. Pharmaceutical Press, London, 2010: 3-48.
- (2) <http://spotidoc.com/doc/2709214/magistralni-pripravki> (Dostopano: 26. 11. 2015).
- (3) Florence AT, Moffat AC: Paediatric Drug Handling. Pharmaceutical Press, London, 2007: ix.
- (4) Sage DP, Kulczar C, Roth W, Liu W, Knipp GT: Persistent pharmacokinetic challenges to pediatric drug development. *Frontiers in genetics*, 2014; 281(5): 1-8.
- (5) <http://www.zazdravje.net/aktualno.asp?novica=36> (Dostopano: 6. 8. 2015).
- (6) Kimland E, Odland V: Off-Label Drug Use in Pediatric Patients. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2012; 91(5): 796-801.
- (7) Costello I: Paediatric pharmacokinetics and pharmacodynamics. V: Florence AT, Moffat AC: Paediatric Drug Handling. Pharmaceutical Press, London, 2007: 1-8.
- (8) Ansel HC: Pharmaceutical Calculations. 13th Ed, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2010: 121-24.
- (9) Zisowsky J, Krause A, Dingemans J: Drug Development for Pediatric Populations: Regulatory Aspects. *Pharmaceutics*, 2010; 2(4): 364-388.
- (10) Bartelink IH, Rademaker CM, Schobben AF, van den Anker JN: Guidelines on Paediatric Dosing on the Basis of Developmental Physiology and Pharmacokinetics Considerations. *Clinical Pharmacokinetics*, 2006; 45(11): 1077-1097.
- (11) Springer International Publishing: Paediatric dosing guidelines should integrate the four most important developmental pharmacokinetic processes. *Drugs & Therapy Perspectives*, 2007; 23(9): 23-26.
- (12) Mahmood I: Dosing in Children: A Critical Review of the Pharmacokinetic Allometric Scaling and Modelling Approaches in Paediatric Drug Development and Clinical Settings. *Clinical Pharmacokinetics*, 2014; 53(4): 327-346.
- (13) Johnson TN: The problems in scaling adult drug doses to children. *Archives of Disease in Childhood*, 2008; 93(3): 207-211.
- (14) Cella M, Knibbe CA, Danhof M, Della Pasqua O: General introduction: what is the right dose for children?. V: Cella M: Does size matter? Bridging and dose selection in paediatric trials. Division of Pharmacology, Leiden-Amsterdam Center for Drug Research, The Netherlands, 2011: 16-26.

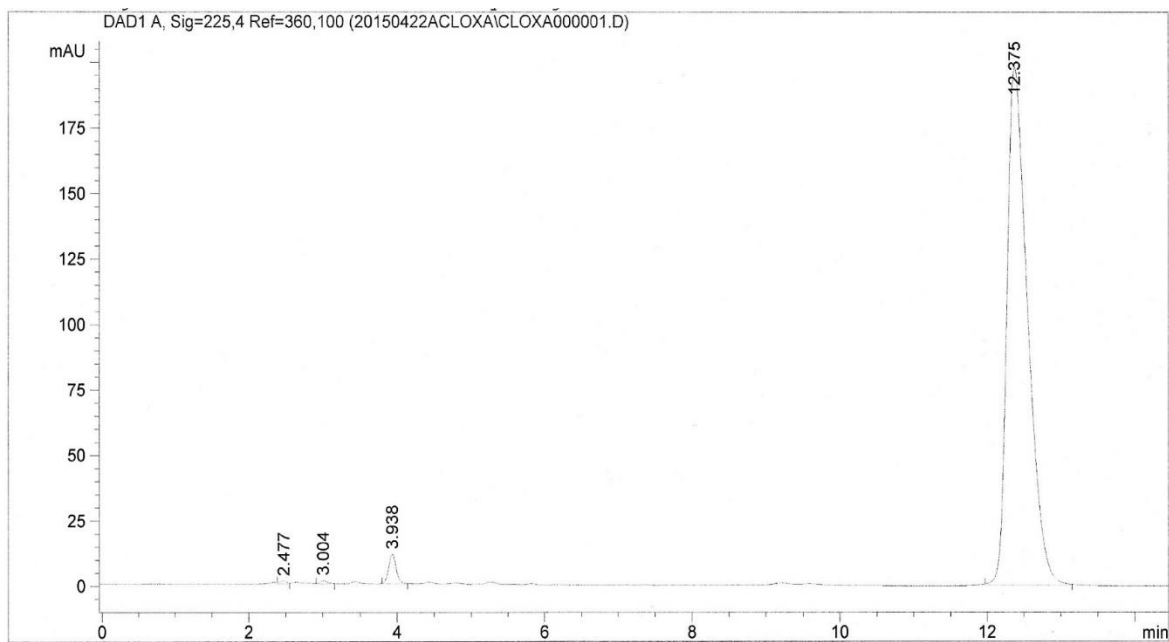


- (15) Lack JA, Stuart-Taylor ME: Calculation of drug dosage and body surface area of children. *British Journal of Anaesthesia*, 1997; 78(5): 601-605.
- (16) Hawcutt DB, Smyth RL: One size does not fit all: getting drug doses right for children. *Archives of disease in childhood*, 2008; 93(3): 190-191.
- (17) Bellanti F, Della Pasqua O: Modelling and simulation as research tools in paediatric drug development. *European journal of clinical pharmacology*, 2011; 67(1): 75-86.
- (18) Meibohm B, Läer S, Panetta JC, Barrett JS: Population Pharmacokinetic Studies in Pediatrics: Issues in Design and Analysis. *The AAPS Journal*, 2005; 7(2): 475-87.
- (19) Zhao W, Leroux S, Jacqz-Aigrain E: Dosage individualization in children: integration of pharmacometrics in clinical practice. *World journal of pediatrics*, 2014; 10(3): 197-203.
- (20) Strolin Benedetti M, Baltes EL: Drug metabolism and disposition in children. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 2003; 17(3): 281-299.
- (21) Fernandez E, Perez R, Hernandez A, Tejada P, Arteta M, Ramos JT: Factors and Mechanisms for Pharmacokinetic Differences between Pediatric Population and Adults. *Pharmaceutics*, 2011; 3(1): 53-72.
- (22) Nwobodo Ndubuisi N, Obu Herbert A: Overview of Clinical Pharmacokinetics in Pediatrics: Possible Implications in Therapy. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 2014; 7(1): 169-174.
- (23) <http://www.goriskalekarna.si/domov/zdravila-in-otroci.html> (Dostopano: 28. 9. 2015).
- (24) Anderson BJ: My child is unique; the pharmacokinetics are universal. *Pediatric Anesthesia*, 2012; 22(6): 530-538.
- (25) Mulla H: Understanding Developmental Pharmacodynamics: Importance for Drug Development and Clinical Practice. *Pediatric Drugs*, 2010; 12(4): 223-233.
- (26) Nunn T, Williams J: Formulation of medicines for children. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2005; 59(6): 674-676.
- (27) Patel VP, Desai TR, Chavda BG, Katira RM: Extemporaneous dosage form for oral liquids. *Pharmacophore*, 2011; 2(2): 86-103.
- (28) Schirm E, Tobi H, de Vries TW, Choonara I, De Jong-van den Berg LT: Lack of appropriate formulations of medicines for children in the community. *Acta Paediatrica*, 2003; 92(12): 1486-1489.

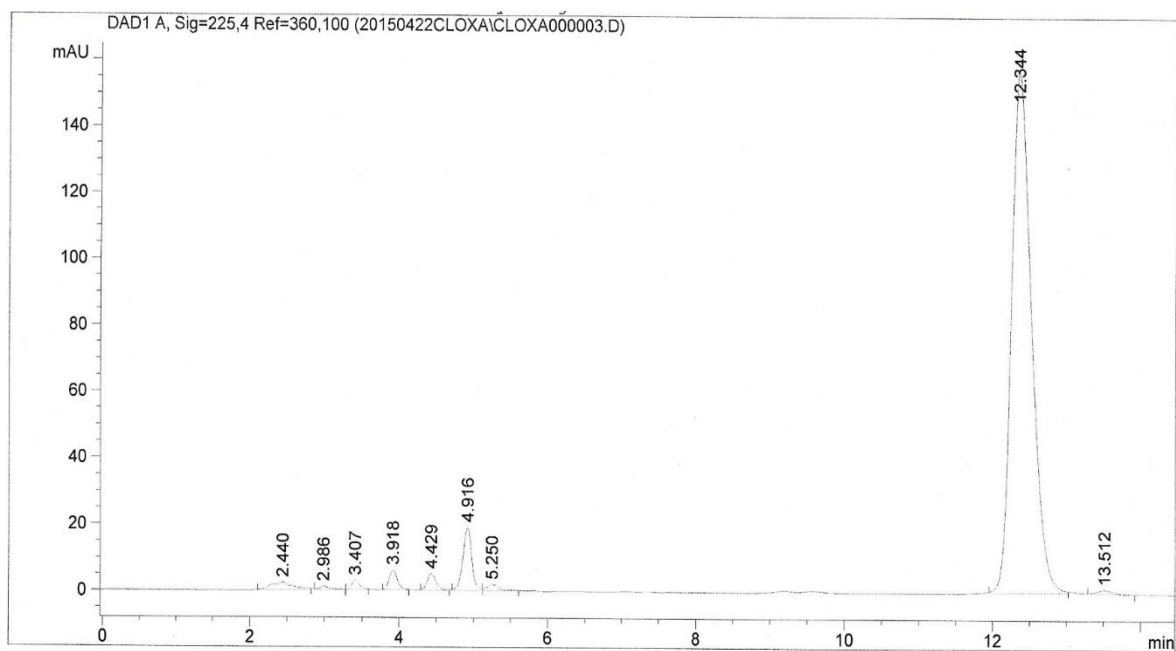
- (29) Tuleu C: Paediatric formulations in practice. V: Florence AT, Moffat AC: Paediatric Drug Handling. Pharmaceutical Press, London, 2007: 47-56.
- (30) Murthy RSR, Kar A: Pharmaceutical Technology Volume I. New Age International Publisher, New Delhi, 2013: 3-13.
- (31) <http://www.pharmainfo.net/satyajeethpandey/blog/liquid-orals-syrups-and-elixirs> (Dostopano: 13. 10. 2015).
- (32) [http://www3.mb-lekarne.si/index.php3?p=izdelki\\_po\\_farm\\_obl](http://www3.mb-lekarne.si/index.php3?p=izdelki_po_farm_obl) (Dostopano: 13. 10. 2015).
- (33) <http://www.gorenjske-lekarne.si/si/svetovanje/farmacevtov-nasvet/farmacevtske-oblike/peroralne-tekocine> (Dostopano: 13. 10. 2015).
- (34) Nahata MC, Allen LV Jr.: Extemporaneous drug formulations. *Clinical Therapeutics*, 2008; 30(11): 2112-9.
- (35) Nahata MC: Lack of Pediatric Drug Formulations. *Pediatrics*, 1999; 104(3): 607-9.
- (36) Jew RK, Soo-Hoo W, Erush SC: Extemporaneous Formulations for Pediatric, Geriatric, and Special Needs Patients. 2nd Ed, American Society of Health-System Pharmacists, Bethesda, 2010: XIII.
- (37) Marolt Gomišček M: Antibiotiki in kemoterapevtiki v vsakdanji praksi. Založba Tangram, Ljubljana, 1992: 19-89.
- (38) <http://www.elephantcare.org/Drugs/cloxacil.htm> (Dostopano: 14. 10. 2015).
- (39) [http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0\\_m19010.html](http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m19010.html) (Dostopano: 14. 10. 2015).
- (40) <http://www.mpbio.com/product.php?pid=02150702&country=190> (Dostopano: 14. 10. 2015).
- (41) <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/c5269?lang=en&region=SI> (Dostopano 14. 10. 2015).
- (42) Zupančič Valant A: Uvod v reologijo. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Ljubljana, 2007: 42.
- (43) Kuhelj V: Proučevanje vpliva vrste hipromeloze na reološke lastnosti izdelanih vodnih disperzij. Magistrska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2011: 4.
- (44) Roškar R: Vaje iz stabilnosti zdravil. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2013: 12.

## 7 PRILOGE

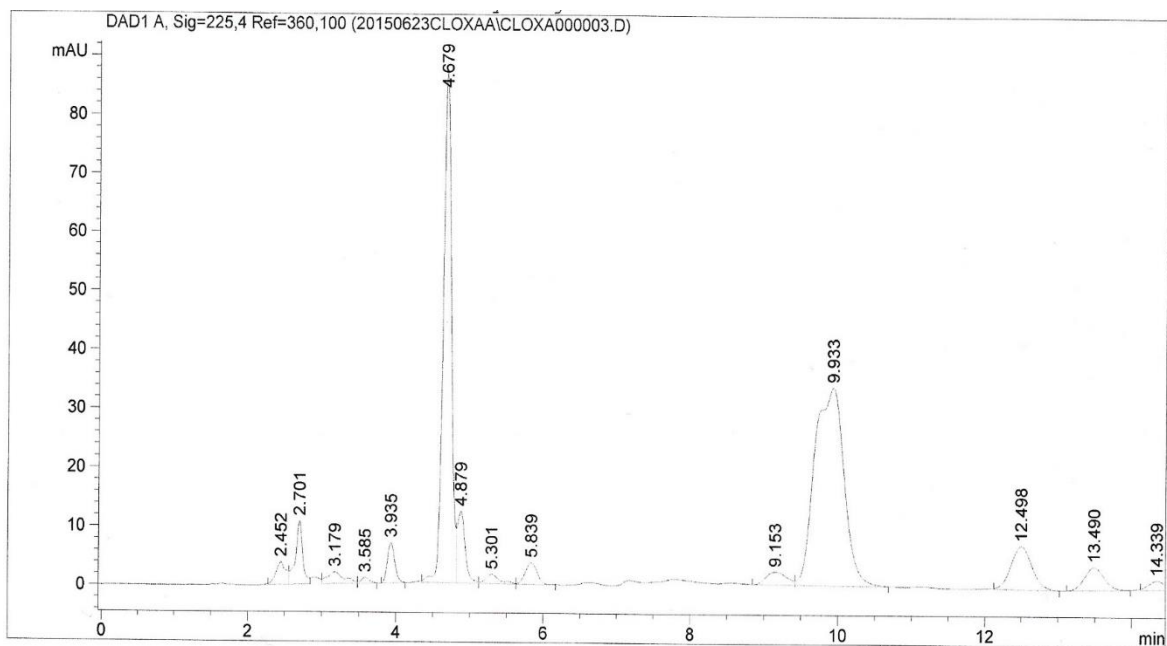
### Priloga I: Kromatogram analize delovnega standarda s kloksacilinom



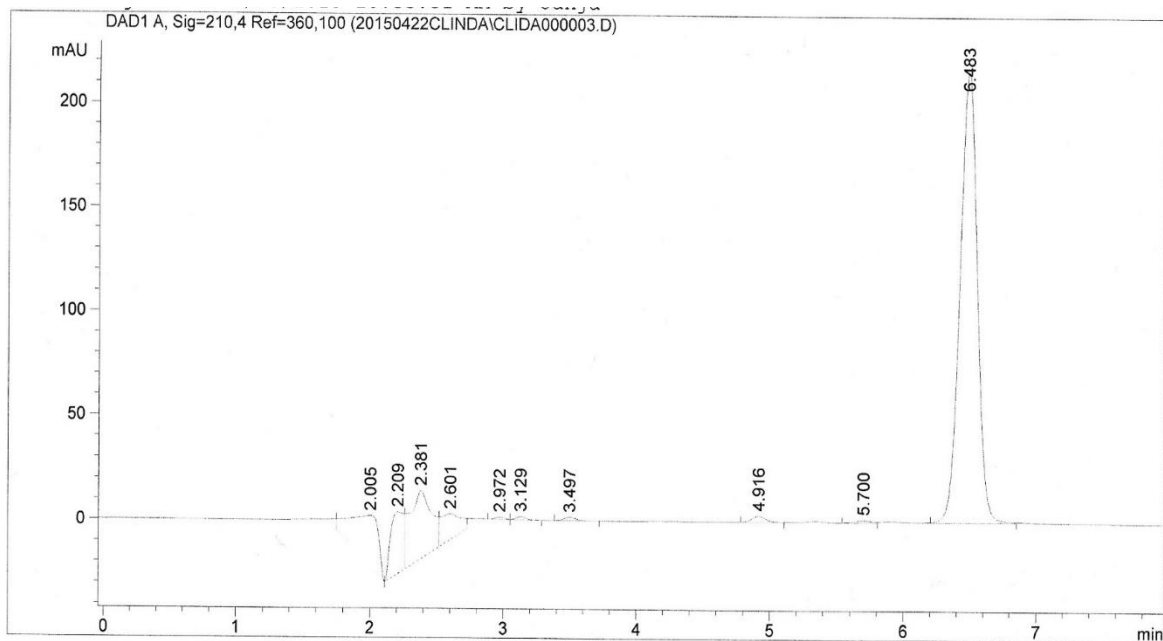
### Priloga II: Kromatogram analize sirupa s kloksacilinom ob času 0



**Priloga III:** Kromatogram analize sirupa s kloksacilinom, ki smo ga shranjevali pri sobni T, po dveh mesecih



**Priloga IV:** Kromatogram analize delovnega standarda s klindamicinom



**Priloga V: Kromatogram analize sirupa s klindamicinom**