

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MAJA FERKOLJ

MAGISTRSKA NALOGA

MAGISTRSKI ŠTUDIJ INDUSTRIJSKA FARMACIJA

Ljubljana, 2018

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MAJA FERKOLJ

**VREDNOTENJE VPLIVA MATERIALNIH LASTNOSTI
HIPROMELOZE NA SPROŠČANJE TEŽKO TOPNE
MODELNE UČINKOVINE**

**EVALUATION OF THE EFFECT OF HYPROMELLOSE
MATERIAL PROPERTIES ON THE RELEASE OF A
POORLY SOLUBLE ACTIVE SUBSTANCE**

MASTER PROGRAMME OF INDUSTRIAL PHARMACY

Ljubljana, 2018

Magistrsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani in na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, Katedri za farmacevtsko kemijo in Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko pod mentorstvom prof. dr. Odon Planinška, mag. farm. in somentorstvom Dejana Lamešića, mag farm.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Odon Planinška, mag. farm. in somentorstvom Dejana Lamešića, mag farm.

Maja Ferkolj

Zahvala

Zahvaljujem se mentorju in somentorju za vodstvo, strokovno podporo in pomoč pri opravljanju magistrskega dela. Hvala izr. prof. dr. Janezu Mravljaku za vso pomoč pri izvedbi spektroskopskih meritev in katedroma za farmacevtsko tehnologijo ter biofarmacijo in farmakokinetiko za možnost uporabe aparatur in asistiranje pri delu. Posebna zahvala gre vsem mojim bližnjim za podporo in potrpežljivost.

Komisija za zagovor

Predsednik: izr. prof. dr. Janez Ilaš

Mentor.: prof. dr. Odon Planinšek

Somentor: asist. Dejan Lamešić

Član: doc. dr. Tomaž Bratkovič

KAZALO VSEBINE

KAZALO VSEBINE	3
KLJUČNE BESEDE.....	5
SEZNAM OKRAJŠAV IN ENOT.....	6
POVZETEK.....	7
ABSTRACT.....	8
1. UVOD	9
1.1. PERORALNE FARMACEVTSKE OBLIKE S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM	9
1.2. PODALJŠANO SPROŠČANJE S HIDROFILNIM OGRODNIM SISTEMOM	10
1.3. MEHANIZEM SPROŠČANJA ZDRAVILNE UČINKOVINE	10
1.3.1. MEJA PENETRACIJE	11
1.3.2. MEJA NABREKANJA	12
1.3.2.1. Proces geliranja	12
1.3.3. MEJA DIFUZIJE	13
1.3.4. MEJA EROZIJE	13
1.4. HIPROMELOZA	13
1.5. VPLIV LASTNOSTI HPMC NA PROFIL SPROŠČANJA UČINKOVINE	15
1.5.1. STOPNJA SUBSTITUCIJE	15
1.5.1.1. Parameter heterogenosti substituentov	16
1.5.2. VISKOZNOSTNI RAZRED HPMC IN DELEŽ V TABLETI.....	17
1.5.3. VELIKOST DELCEV HPMC 2208.....	18
1.5.4. VPLIV OSTALIH POMOŽNIH SNOVI IN ZDRAVILNE UČINKOVINE.....	18
1.6. RAZVOJ Z VGRAJENO KAKOVOSTJO (QBD)	18
2. NAMEN DELA.....	21
3. EKSPERIMENTALNO DELO.....	22
3.1. MATERIALI	22
3.1.1. VZORCI	22
3.1.2. MODELNA ZDRAVILNA UČINKOVINA.....	24
3.1.3. APARATURE	25
3.2. METODE DELA.....	26

3.2.2.	MERITEV TRDNOSTI IN POROZNOSTI TABLET	27
3.2.3.	IZGUBA PRI SUŠENJU (Ph.Eur).....	27
3.2.4.	PRESKUS SPROŠČANJA (Ph.Eur)	28
3.2.4.1.	Preliminarni preizkusi	28
3.2.4.2.	Potek sproščanja	29
3.2.5.	UV-VIS SPEKTROSKOPIJA	30
3.2.6.	IZRAČUN SPROŠČENE UČINKOVINE	30
3.2.7.	JEDRSKA MAGNETNA REZONANCA.....	32
3.2.7.1.	Acetiliranje vzorcev.....	32
3.2.8.	STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV	35
3.2.8.1.	Dejavnik podobnosti f_2	35
3.2.8.2.	Analiza variance (ANOVA)	36
3.2.8.3.	T-test za neodvisne vzorce	36
4.	REZULTATI IN RAZPRAVA	37
4.1.	TRDNOST IN POROZNOST TABLET	37
4.2.	NMR.....	39
4.2.	SPROŠČANJE V ODVISNOSTI OD MATERIALNIH LASTNOSTI VZORCEV	42
4.2.1.	PONOVLJIVOST PROCESA	42
4.2.2.	VPLIV SUBSTITUIRANOSTI NA SPROŠČANJE.....	44
4.2.3.	VPLIV VISKOZNOSTI NA SPROŠČANJE SLABO TOPNE UČINKOVINE	46
4.2.4.	VPLIV VELIKOSTI DELCEV	48
4.2.5.	PRIMERJAVA SPROŠČANJA	50
4.2.6.	ODVISNOST SPROŠČANJA OD IZMERJENIH PARAMETROV	52
5.	SKLEP.....	56
6.	LITERATURA.....	57

KLJUČNE BESEDE

Hidroksipropilmetil celuloza, podaljšano sproščanje, hidrofilno ogrodje, sproščanje.

Hydroxypropylmethyl cellulose, extended release, hydrophilic matrix, dissolution.

SEZNAM OKRAJŠAV IN ENOT

CMA – kritična lastnost materiala (angl. Critical material attribute)

CQA – kritična lastnost kakovosti (angl. Critical quality attribute)

CPP – kritični procesni parametri (angl. Critical process parameters).

DS – stopnja substitucije (angl. Degree of Substitution)

F2 – faktor primerljivosti

FDA – ameriški vladni urad za živila in zdravila (angl. Food and Drug Administration, FDA)

FO – farmacevtska oblika

FRC – s funkcionalnostjo povezane lastnosti pomožnih snovi, (angl. Functionality-related characteristics)

HP – hidroksipropoksi

HPMC – hidroksipropilmetil celuloza, hipromeloza

MeO – metoksi

PAT – procesno analizna tehnologija

Ph.Eur – evropska Farmakopeja 9.0

QBD – razvoj z vgrajeno kakovostjo (angl. Quality by design)

USP – farmakopeja Združenih držav Amerike (angl. U.S. Pharmacopeial Convention)

ZU – zdravilna učinkovina

POVZETEK

V farmacevtskih oblikah za podaljšano sproščanje učinkovin je ena od ključnih komponent ogrodje, za nastanek katerega najpogosteje uporabljamo polimer hipromelozo (hidroksipropilmetil celuloza, HPMC). To omogočata njegovi sposobnosti hitre hidratacije in tvorbe gela ter postopnega raztapljanja v vodi. V kolikšni meri bosta omenjena procesa potekala, je odvisno predvsem od lastnosti polimera, ki so povezane s funkcionalnostjo (angl. Functionality-related characteristics, FCR). V številnih raziskavah podaljšanega sproščanja so ugotovili, da se polimeri HPMC za podaljšano sproščanje istega substitucijskega razreda kljub postavljenim farmakopejskim mejam za FCR med seboj lahko razlikujejo do te mere, da je sproščanje učinkovin signifikantno spremenjeno. V nalogi smo med seboj primerjali 7 različnih tipov vzorcev HPMC substitucijskega razreda 2208, ki smo jih pridobili pri dveh različnih dobaviteljih (Metolose® in Metochel®). Na vzorčnih polimerih smo kot metodo preučevanja uporabili nuklearno magnetno resonanco, s katero smo določili stopnjo substitucije funkcionalnih skupin. Z njimi smo izdelali ogrodne tablete za podaljšano sproščanje težko topne modelne zdravilne učinkovine in izvedli preskus sproščanja. Za statistično primerjavo profilov sproščanja smo uporabili dejavnik podobnosti f_2 , analizo variance in t-test. Pri sproščanju smo ugotovili, da so profili sproščanja težko topne ZU z uporabo polimera obeh proizvajalcev statistično primerljivi pri tipih polimerov z manjšimi delci, z vrednostmi FCR na sredini specifikacij in manjšo viskoznostjo. Polimeri z večjimi delci, večjo viskoznostjo in manjšo substitucijo komaj dosegajo statistično primerljivo sproščanje, medtem ko polimera z večjo substituiranostjo ne dosegata statistične primerljivosti z ostalimi. Z analizo substituiranosti smo potrdili, da se sproščanje upočasnjuje z večjim deležem enega ali obeh substituentov v polimeru. Model linearne korelacije ne more napovedati sproščanja ZU iz hidrofilnih ogrodnih tablet, kar nakazuje, da je sproščanje odvisno od več dejavnikov oziroma lastnosti. Izbira polimera le na osnovi tipa in parametrov v specifikacijah zato ne zagotavlja pričakovanega sproščanja ZU. Za bolj točno napoved bi potrebovali podatke o vplivu ostalih lastnosti, ki jih nismo analizirali ali niso navedene v specifikacijah proizvajalca.

ABSTRACT

The use of hydrophilic matrixes is the most common way to achieve a prolonged drug release from pharmaceutical tablets. In many cases polymer hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC) is chosen for this matter due to quick hydration ability, gelation properties and gradual dissolution in water. The extent of mentioned processes depends on functionality-related characteristics of polymer. Many studies have shown significant differences in dissolution profile of active substance from prolonged drug release tablets where the same substitution-grade polymers were used. The aim of this master's thesis was to study the influence of different functionality-related characteristics of polymers as hydrophilic matrixes on the release of a poorly soluble active substance. The study was carried out by dissolution testing of 7 HPMC types as hydrophilic matrixes. Testing samples were obtained from 2 different companies (Metolose® in Metochel®) and are classified as substitution grade 2208. Further, the degree of substitution for each sample was determined by analytical method proton nuclear magnetic resonance. The results were measured statistically using similarity factor f_2 , variance analysis and t-test. Results of dissolution profile comparing within the same type of polymer and different suppliers show statistically comparable sample polymers in following polymer types: low particle size, standards and low viscosity. Polymer types that contain bigger particles, have higher degree of viscosity and low substitution barely reach statistical comparison. The polymer type with high substitution is not statistically comparable. The NMR analysis confirmed lowering degree of release with growing substitution of samples. Findings suggest that several properties of polymer control release of active substance from hydrophilic matrixes. Applying linear correlation to the results and specification value of polymer did not correctly forecast the release of model active substance. Choosing polymer solely on specification value without additional analyses therefore does not provide expected release profiles. For more accurate release forecast more polymer characteristics should be analysed including the ones that were not analysed in this thesis or are not stated in polymer specification.

1. UVOD

Skoraj tri četrtine vseh zdravil je namenjeno peroralni uporabi. Takoj po zaužitju snovi se v telesu sprožijo procesi prebave, kar s pridom izkoriščamo za absorpcijo in posledično hiter učinek odmerka pri farmacevtskih oblikah (FO) z neprirejenim sproščanjem. Vendar pri nekaterih zdravilnih učinkovinah (ZU) takojšna sprostitev celotnega odmerka ni zaželena. Takrat lahko s prilagoditvijo FO dosežemo prirejeno sproščanje ZU (1).

1.1. PERORALNE FARMACEVTSKE OBLIKE S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM

Prirejeno sproščanje (nadzorovano sproščanje, kontrolirano sproščanje) je definirano kot sprememba kinetike ali mesta sproščanja ZU v primerjavi z neprirejenim sproščanjem (2). Pri prirejenem sproščanju lahko uravnavamo delež, mesto in čas sproščanja ZU (3). Pod izrazom prirejeno sproščanje označujemo FO z zakasnelim sproščanjem (angl. delayed release dosage forms), FO s pulzirajočim sproščanjem (angl. pulsatile release dosage forms) in FO s podaljšanim sproščanjem (angl. prolonged release dosage forms, extended release dosage forms, sustained release dosage forms). Za slednje je značilno, da v primerjavi z ostalimi peroralnimi FO sproščajo zdravilno učinkovino postopoma in tekom gastrointestinalnega trakta (4). Glavna prednost FO s podaljšanim sproščanjem učinkovine je dolgotrajnejše vzdrževanje terapevtske koncentracije zdravila v plazmi in posledično zmanjšana pogostost odmerjanja. Obenem to pomeni, da lahko odmerek ZU v posamezni tableti predstavlja večkratnik količine ZU, ki bi zagotovil ustrezno plazemsko koncentracijo ZU. V primeru neučinkovitosti oz. poškodbe ogrodja v FO tvegamo sprostitev večje količine ZU od pričakovane ali sprostitev celotnega odmerka naenkrat (angl. dose-dumping). Presežena kritična plazemska koncentracija ZU pri pacientu lahko ogrozi njegovo zdravje s pojavom neželenih učinkov. Prirejeno sproščanje dosežemo s posebno sestavo FO ali posebnim postopkom izdelave. Tvorba hidrofilnega ogrodnega sistema z vključitvijo polimerov spada med pogostejše načine za doseg FO s prirejenim sproščanjem. Obstajajo tudi sistemi z netopnim ogrodnim sistemom, sistem membranskega nadzora sproščanja, osmotski sistemi in sistem z zadrževanjem tablete v želodcu (1). Poseben način izdelave z ustrezno sestavo je osmotski sistem. ZU v okolico prehaja zaradi osmotskega tlaka, postopno sproščanje pa omogoča izbirno prepustna membrana. Osmotska tehnologija za nadzor nad sproščanjem

običajno zahteva opremo, ki vključuje stiskanje, oblaganje in izdelavo por v oblogi z laserskim žarkom. Dodatna stopnja izdelave por v oblogi z laserskim žarkom pomeni, da je celoten proizvodni proces v primerjavi z izdelavo sistemov iz polimernega ogrodja stroškovno bolj potraten (1).

1.2. PODALJŠANO SPROŠČANJE S HIDROFILNIM OGRODNIM SISTEMOM

Najpogostejši način za doseg podaljšanega sproščanja je tvorba hidrofilnega ogrodja z vgradnjo polimerov v tableto. Proces izdelave je možen z uveljavljenimi tehnologijami (tabletiranje), uporabimo pa lahko cenovno ugodne in enostavno dobavljive pomožne snovi, ki so pogoste pri izdelavi tablet (polnilo, drsilo in polimer za podaljšano sproščanje) (1). Glavne značilnosti hidrofilnih ogrodij, ki omogočajo postopno sproščanje ZU iz FO, so nabrekanje v vodnem mediju ter postopno razpletanje in raztapljanje polimernih verig. Uveljavljenih je kar nekaj različnih tipov polimerov za izdelavo hidrofilnega ogrodja. Najpogosteje uporabljamo pol-sintezne polimere (metilceluloza, HPMC, polietilenoksidi), poznamo pa tudi naravne polimere (ksantan, karagenan, dekstran, alginat idr.). Najpogosteje uporabljen polimer za izdelavo hidrofilnega ogrodja je HPMC. V uporabi je že več kot 50 let, na njej pa bazirajo mnoga hidrofilna ogrodja, ki so danes prisotna na trgu (5).

1.3. MEHANIZEM SPROŠČANJA ZDRAVILNE UČINKOVINE

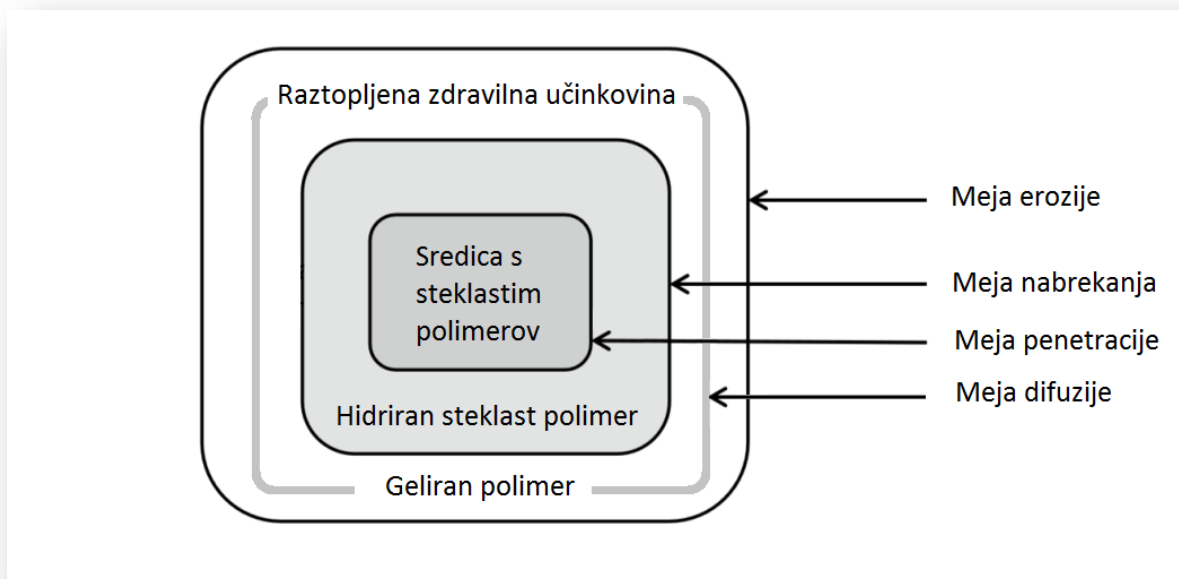
Pri podaljšanem sproščanju tablet s hidrofilnim ogrodjem potekajo številni procesi, ki so v grobem razdeljeni na pet stopenj (5):

1. vstop medija v ogrodje,
2. nabrekanje ogrodja,
3. raztapljanje ZU v mediju,
4. difuzija ZU skozi gel,
5. erozija nabreklih ogrodja.

Proces nabrekanja pri HPMC začne potekati relativno hitro, kar je ena od ključnih lastnosti za pogosto uporabo. Z uporabo magnetno resonančnega slikanja so opredelili tri glavne faze nabrekanja HPMC po omočenju le-tega(1):

- preoblikovanje polimera na površini v plast gela,

- postopno večanje (nabrekanje) polimera in hkratno zmanjševanje neomočenega predela tablete v sredici
- opazno zmanjšanje obsega plasti gela (erozija)



Slika 1: Shematski prerez hidrofilnega ogrodja HPMC. Določene so 4 mejne plasti, ki prikazujejo stopnje potek sprostitve ZU iz hidriranega polimera HPMC (5,6).

Stanje tablete med postopnim sproščanjem ZU si najlažje predstavljamo s shemo prereza tablete skozi ogrodje HPMC, kot je predstavljeno na sliki 1. Opredeljene so tri mejne plasti, ki nastanejo tekom nabrekanja polimera in se s procesom sproščanja pomikajo proti sredici tablete do njegove raztopitve (5). Na podlagi študije o poteku sproščanja iz ogrodnih tablet (6) smo med mejo nabrekanja in mejo erozije umestili tudi četrto mejno plast, t.i. mejo difuzije.

1.3.1. MEJA PENETRACIJE

Meja penetracije medija opisuje točko, do katere medij prodre v ogrodje polimera. Ločuje z medijem neomočen polimer z omočenim, ki še ni prešel iz steklastega stanja v gelirano. V tem področju ZU še ni raztopljena.

1.3.2. MEJA NABREKANJA

Ob prodoru medija v tableto polimer postopoma preide iz steklastega stanja v gel stanje. Neomočen HPMC ima pri sobnih pogojih plastične lastnosti, saj ima temperaturo steklastega prehoda (T_g) nad sobno temperaturo. Ob omočenju HPMC z vodo, ki v tem primeru deluje kot mehčalo, se njegova T_g zniža pod temperaturo sobnih pogojev, zaradi česar prične gelirati. Tvorijo se meja nabrekanja, ki ločuje steklast polimer od nastalega gela.

1.3.2.1. Proces geliranja

Tableta se povečuje na račun sprejete vode in vzpostavljanja novih vodikovih vezi med razvezovanjem in raztegovanjem polimernih verig. Že nekoliko povečana tableta, pri kateri omenjeni procesi potekajo, je prikazana na sliki 2. Pri razširitvi se ustvarijo med seboj povezani prostori, po katerih raztopljena ZU difundira. V začetnih fazah nabrekanja, ko medij vdre v tableto in gel še ni povsem kompakten, je možna sprostitve večje količine ZU skozi nepopoln gel. Po nastanku kompaktnega gela na površini pa ta prepreči nadaljnje prekomerno prodiranje vode v notranjost in sproščanje ZU. Zato je pomembna hitrost tvorbe in čvrstost nastalega gela, kar je odvisno od številnih lastnosti polimera, kot so: kemijska struktura, koncentracija in molska masa (5, 7).



Slika 2: Tableta s hidrofilnim ogrođjem iz polimera HPMC, vgrajena v potapljač. Tableta je slikana peto minuto sproščanja, kjer je zaradi privzema vode in delnega nastanka gelske plasti že nekoliko povečana. Prvotna oblika tablete je prikazana na sliki 10.

1.3.3. MEJA DIFUZIJE

Naslednja opredeljena meja je lahko locirana kjerkoli v gelu in ločuje predel z raztopljeno ZU, ki lahko difundira, od predela z neraztopljeno ZU. Imenuje se meja difuzije in njen položaj je odvisen od deleža ZU v tableti (5).

1.3.4. MEJA EROZIJE

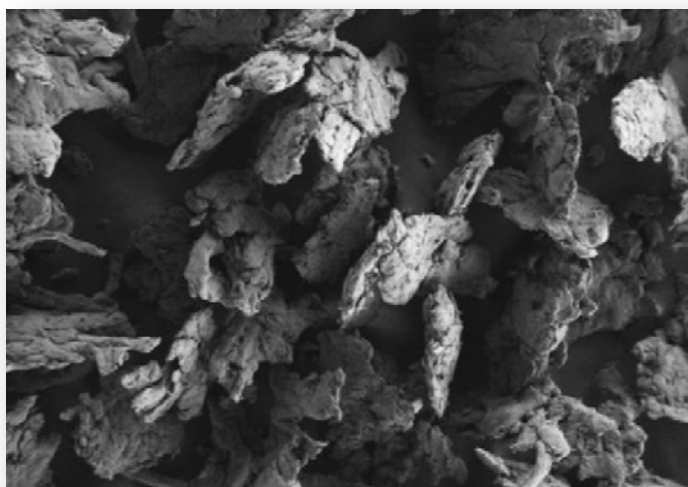
Meja erozije ali meja raztapljanja razdeljuje plast popolnoma hidriranega polimera od okoliškega medija. Pri popolnoma hidriranem polimeru se namreč verige razpletejo, postopno raztopijo in odstranijo od ogrodja – poteče erozija ogrodja (7).

Nekateri avtorji predpostavljajo, da kinetiko sproščanja ZU določa debelina plasti gela med difuzijsko in erozijsko mejno plastjo, saj se z večanjem debeline povečuje razdalja, ki jo mora ZU prepotovati (5). Poleg debeline gelske plasti omejitveni dejavnik sproščanja predstavlja tudi topnost ZU. Pri ZU, ki se v vodi dobro topi in se raztaplja hitreje od ogrodja, ta izhaja skozi gel z difuzijo v raztopljeni obliki. Pri slabo topnih ZU pa se ta raztaplja bistveno počasneje, kot se ustvarjajo možne difuzijske poti. Zato je pri slednjih omejitveni dejavnik sproščanja ZU erozija plasti gela, ki mediju izpostavljajo globlje plasti še neraztopljene ZU. Pri večini ZU poteka kombinacija obeh procesov. Debeline gelske plasti ni odvisna le od lastnosti polimera. Oblikujejo jo še vrsta okoljskih dejavnikov, kot so mehanske oziroma tokovne sile medija, gibanja vode v ogrodju, raztopljenosti pomožnih snovi v tableti, *in vivo* (med potovanjem tablete vzdolž gastrointestinalnega trakta) pa je izpostavljena različnim strižnim silam, okoljskim pH-jem in kemijskem okolju. Vsi ti dejavniki pripomorejo k dodatni eroziji in raztapljanju polimera (5, 7).

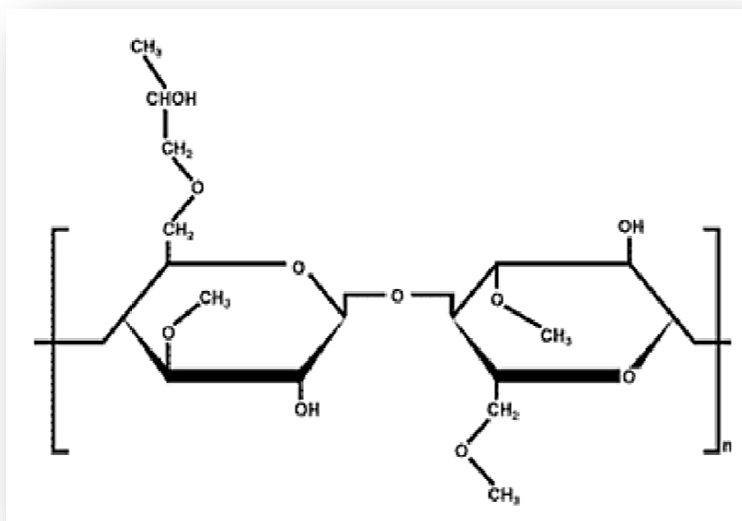
1.4. HIPROMELOZA

HPMC (Sliki 3 in 4) spada med najpogostejše uporabljene pomožne snovi v farmaciji (7). V ameriški farmakopeji (angl. United States Pharmacopeia, USP) je definirana kot zmes O-metilnih in O-(2-hidroksipropilnih) celuloznih etrov. Njeno monografijo najdemo v vseh svetovnih farmakopejah (8). HPMC pridobivajo z obdelavo celulozne pulpe lesa ali bombaža. Pri obdelavi celuloznih vlaken z alkalno raztopino porušijo vodikove vezi, nato pa na hidroksilne skupine uvedejo hidrofobnejše hidroksipropil in metoksi skupine. S pogoji

kemijske obdelave in uvedbo skupin lahko spreminjamo stopnjo substitucije in do neke mere njihovo razporeditev po verigi. Slednje je navadno zelo težko nadzorovati, kar se odraža v heterogeni vezavi uvedenih skupin na enotah polimera, vzdolž polimerne verige ali med posameznimi serijami (9). K široki razširjenosti HPMC dodatno pripomore cenovna ugodnost, razgradljivost, dobra stisljivost, neionogenost, encimska in kemijska stabilnost pri pH med 3,0 in 11,0 in varnost. Hipromeloza spada v skupino snovi s statusom GRAS (angl. Generally Recognized as Safe) (5).



Slika 3: Hidroksipropilmetil celuloza z velikostjo delcev med 100 in 125 μm pod vrstičnim elektronskim mikroskopom (10).



Slika 4: Ena od možnih struktur dveh monomerov HPMC (11).

1.5. VPLIV LASTNOSTI HPMC NA PROFIL SPROŠČANJA UČINKOVINE

Ključni dejavnik pri HPMC za uporabo v vlogi hidrofilnega ogrodja je sposobnost hitre hidratacije in nabrekanja. V kakšni meri bosta omenjena procesa potekala, je v veliki meri odvisno od kemijske sestave HPMC in nekaterih njenih fizikalnih lastnosti. Te tako neposredno vplivajo na kakovost končnega izdelka. Zaradi tega je pri načrtovanju formulacije obvezna dobra preučitev lastnosti, ki so v povezane s funkcionalnostjo (FRC). Te so v evropski farmakopeji (Ph.Eur) navedene v Splošni monografiji 5.15 »S funkcionalnostjo povezane lastnosti pomožnih snovi« kot vodilo. FRC lastnosti hipromeloze, ki so pomembne za njeno uporabo v vlogi tvorilca hidrofilnega ogrodja pri tabletah s podaljšanim sproščanjem ZU, so navidezna viskoznost, stopnja substitucije, porazdelitev molekulskih mas in velikosti delcev ter pretočnost prahov (10).

Proizvajalci z analizami zagotavljajo, da so določeni fizikalno-kemijske lastnosti serij HPMC znotraj farmakopejskih meja. Kljub temu so številne raziskave pokazale prisotnost variabilnosti med posameznimi serijami (12, 13). Nadzor nad FCR je tako pomemben dejavnik za doseg primerljivih in konsistentnih serij HPMC in posledično profilov sproščanja ZU. Ostali dejavniki, ki jih pri načrtovanju formulacije lahko prilagodimo in tako vplivamo na profil sproščanja, so vsebnost polimera, izbira pomožnih snovi in procesni parametri pri proizvodnji (14).

1.5.1. STOPNJA SUBSTITUCIJE

Osnovna veriga HPMC je celuloza, ki je zaradi kristalne strukture v vodi netopna. Z uvedbo substituentov se ta poruši, kar vodi v vodotopnost verige. Ker sta substituenta hidrofobnejša od hidroksilne skupine, se z večanjem njunih deležev hidrofilnost polimerne verige zmanjšuje. Substituiranost polimerne verige predstavlja stopnja substitucije (angl. Degree of Substitution, DS), ki pove povprečno število substituentov na monomerno enoto polimera in je v Ph.Eur navedena kot FCR. Vrednost stopnje substitucije je lahko med 0 in 3, saj so na posamezni enoti glukoze, ki predstavlja monomer, lahko prisotne največ 3 enote hidroksilnih skupin, ki so na voljo za vezavo substituentov. V farmakopejah so predstavljeni 4 tipi HPMC (Preglednica I), ki so ločeni glede na substituiranost polimerne verige. Označeni so s štirimestno številko, v kateri prvi dve številki označujeta povprečen delež metoksi skupin (MeO), drugi dve pa delež hidroksipropoksi skupin (HP) (8).

Preglednica I: Farmakopejske meje substituiranosti za HPMC v vlogi hidrofilnega ogrodja za prirejeno sproščanje (8). Prikazane so najmanjše in največje dovoljene vrednosti deležev posameznega substituenta za vsak substitucijski razred HPMC.

Substitucijski razred	Metoksi skupina (%)	Hidropropoksi skupina (%)
1828	16,5 – 20,0	23,0 – 32,0
2208	19,0 – 24,0	4,0 – 12,0
2906	27,0 – 30,0	4,0 – 7,5
2910	28,0 – 30,0	7,0 – 12,0

Lastnosti gela in posledično sproščanje ZU so zaradi vpliva substituentov odvisne od DS, razmerja in razporeditve substituentov vzdolž polimerne verige. S spreminjanjem omenjenih lastnosti lahko nadzorujemo hitrost sproščanja (5).

1.5.1.1. Parameter heterogenosti substituentov

V literaturi zasledimo razlikovanje profilov sproščanja tablet s polimeri istega substitucijskega razreda (7, 11-14). Študija, v kateri so preučevali sproščanje ZU v odvisnosti od heterogenosti substituentov HPMC razreda 2208 treh proizvajalcev, je pokazala, da med serijami HPMC obstajajo velike razlike v heterogenosti substituentov, ki neposredno vplivajo na sproščanje ZU. Formulacije z bolj heterogeno substituiranim polimerom izkazujejo bistveno počasnejšo sproščanje, saj počasneje erodirajo in nabrekajo v večji meri kot manj substituirani polimeri. V primeru težko topne ZU so se razlike v sproščanju kazale v večji meri kot pri dobro topni učinkovini. Rezultate razlagajo s tvorjenjem dodatnih hidrofobnih interakcij med substituenti, ki prispevajo k odpornosti gela. Glede na dobljene rezultate s parametroma stopnja substitucije in viskoznost niso uspeli napovedati razlik med proizvajalci niti znotraj istega proizvajalca (15). Podobno hipotezo so predstavili v drugi raziskavi, kjer so vzorcem HPMC s 7,4-odstotno vsebnostjo HP izmerili dvakrat daljše sproščanje ZU kot pri HPMC s 6,6-odstotno HP in primerljivo vsebnostjo MeO. Oba vzorca sta bila substitucijskega razreda 2208. Prav tako počasnejšo erozijo vzorcev pojasnjujejo z bolj pogostimi nesubstituiranimi področji polimerne verige, ki so različno topni. Zaradi tega se tvorijo dodatne povezave med deli polimerne verige, ki učvrstijo gelske plasti in zmanjšajo kritično koncentracijo polimera (13). Kljub temu da imajo polimeri HPMC različnih serij in dobaviteljev podobne specifikacijske vrednosti in so znotraj farmakopejskih meja, v formulaciji s podaljšanim sproščanjem ne zagotavlja vedno enakega delovanja. Menjava proizvajalca ali uporabo druge serije tako lahko privede do neskladij profilov sproščanja (16).

1.5.2. VIZKOZNOSTNI RAZRED HPMC IN DELEŽ V TABLETI

Ena bolj proučevanih FRC-lastnosti HPMC je molekulska masa polimera, ki jo pogosto merijo kot viskoznost 2-odstotne vodne raztopine. V ogrodnih tabletah je molekulska masa neposredno povezana z močjo nastalega gela in odločilna za prehod vode v ogrodno tableto med nabrekanjem polimernega ogrodja. V splošnem velja, da HPMC z večjo viskoznostjo hitreje nabreka, tvori se močnejši gel, ki je bolj odporen proti eroziji in posledično se sproščanje ZU iz hidrofilnega ogrodja upočasni. Običajno polimer z večjo viskoznostjo ($\eta \geq 4000$ mPas) zaradi močnejše in debelejše plasti gela, skozi katero prehaja raztopljena ZU, pogosteje uporabljamo v kombinaciji z vodotopno ZU. Pri težko vodotopnih ZU, kjer je primarni mehanizem sproščanja erozija in je hitrost sproščanja pogojena z razpadom gelske plasti, pogosteje uporabljamo HPMC z nižjo molsko maso (nominalna viskoznost η 100 mPas) (5). Pri vrednotenju molekulske mase polimera moramo biti pozorni na prisotno variabilnost med dolžinami polimernih verig in njihovim številom. Polimer s krajšimi verigami se bo kljub enakemu številu molekulskih enot raztapljal hitreje od polimera z daljšimi verigami, kar povzroči razlike v sproščanju ZU. Parameter porazdelitve velikosti molekulskih mas je polidisperzni indeks, ki nam pove razmerje med utežno molekulkso maso in številčno molekulkso maso. Polidisperzni indeks, ki je enak 1, pomeni enako razmerje med obema molekulskima masama. Večja vrednost polidisperznega indeksa od 1, predstavlja širšo porazdelitev mase in večje razlikovanje med utežno in številčno molekulkso maso (17).

Da je oblikovanje plasti gela mogoče, mora biti koncentracija polimera dovolj velika, da pride do fizikalnih povezav sistema, ki kljubujejo strižnim silam okolice. To je kritična koncentracija polimera. Le-ta ni vedno konstantna, ampak se lahko spreminja. HPMC z višjo molekulkso maso doseže višjo viskoznost raztopine pri nižji kritični koncentraciji kot HPMC z manjšo molekulkso maso (18). Pri 30 in 40-odstotnim deležem polimera v tableti so dokazali, da ne glede na viskoznost manjši delež HPMC povzroči hitrejše sproščanje ZU in obratno (18). Pri analizi polimerov HPMC dobavitelja Shin-Etsu, ki se med seboj razlikujejo v viskoznosti, velikosti delcev in substituiranosti, so ugotovili, da v primeru različnih substitucijskih razredov polimerov samo po viskoznosti ali molekulkski masi polimera ne moremo napovedati profila sproščanja. Za napoved sproščanja učinkovine so po njihovih besedah potrebne dodatne meritve ostalih lastnosti polimera (14).

1.5.3. VELIKOST DELCEV HPMC 2208

Večji delci polimera v primerjavi z manjšimi nabrekajo počasneje, obenem pa so razdalje med njimi večje. Posledično se enotna plast gela lahko tvori počasneje, kar lahko vodi v sprostitve večje količine ZU v začetnem času (angl. burst release). Nasprotno manjši delci hitreje in enotneje tvorijo plast gela, kar je še posebej pomembno pri nižjih odmerkih ZU (5). V Ph.Eur je kot FCR definirana porazdelitev velikosti delcev, ki nam pove razpon velikosti delcev, ki jih vsebuje polimer. V raziskavi dejavnikov, ki vplivajo na sproščanje slabo topne ZU, so ugotovili, da formulacije s HPMC z delci v velikosti 100 – 125 µm izkazujejo hitrejše sproščanje ZU v primerjavi z delci velikostnega ranga 32 – 45 µm. Formulacije s polimeri, ki so vsebovale delce obeh velikostnih razredov, so izkazovale podoben profil sproščanja formulacijam z manjšimi delci. To pojasnjujejo z dejstvom, da se je pri večjih delcih enotna gelska plast oblikovala kasneje kot pri ostalih formulacijah, kar je vodilo v večji začetni delež sproščene ZU. Tekom raziskave so opazili, da serije z bolj homogeno porazdelitvijo velikosti delcev izkazujejo večjo medserijsko podobnost (16). V že omenjeni raziskavi na podlagi velikosti delcev niso uspeli napovedati profila sproščanja. Menijo, da tako kot pri parametru viskoznosti prevladuje vpliv drugih lastnosti polimera (14).

1.5.4. VPLIV OSTALIH POMOŽNIH SNOVI IN ZDRAVILNE UČINKOVINE

Privlak vode v tableto je v največji meri posledica hidrofilnosti ogrodja, vendar ker velik delež tablete predstavljajo ostale komponente, do določene mere vplivajo tudi te. V vodi dobro topne komponente prispevajo k osmotskemu privlaku vode, kar povzroči večje privzemanje vode v hidrofilno ogrodje. Nasprotno, pa v vodi netopne komponente povečajo število hidrofobnih interakcij in zato prispevajo k manjšemu privzemanju vode v ogrodje (5).

1.6. RAZVOJ Z VGRAJENO KAKOVOSTJO (QBD)

Uveljavljen pristop k zagotavljanju kakovosti je sistem testiranja kakovosti (angl. Quality by Testing), kamor spada testiranje in izbira surovin na podlagi kriterijev v farmakopeji, izdelava FO po uveljavljenem rigidnem procesu in analiza končne FO. Pri surovinah sistem določa, da če vstopni material doseže kriterije, določene s strani proizvajalca in odobrene s strani uradnega organa (na primer USP), je ta ustrezen za proizvodnjo FO. Pri tem pristopu glavni vzroki za neustreznost pogosto niso vedno povsem jasni. Posledično proizvajalec ne more

spustiti serij, dokler vzrok za neustreznost ni pojasnjen in odobren s strani vladne agencije za zdravila (19). Ker z ustreznostjo specifikacij in povečevanjem količine testiranj ne dosežemo vedno (večjo) učinkovitost in izboljšanje kakovosti, se je uveljavil drugačen pristop k zagotavljanju kakovosti in sicer razvoj z vgrajeno kakovostjo (angl. Quality by Design, QbD). QbD je sistematični pristop, ki temelji na razumevanju procesa in izdelka ter določa ustrezne strategije nadzora z znanstvenega vidika. Koncept je opisan v smernicah ICH Q8 (R2, »Razvoj produkta«), ki navaja, da za zagotavljanje kakovosti ni dovolj le končno testiranje, temveč je potrebno že v sklopu razvoja FO kakovost načrtovati in vgraditi. Princip QbD je uveden tudi v smernicah ICH Q9 – Q11, ki opisujejo upravljanje s tveganjem za kakovost, farmacevtski sistem kakovosti in razvoj ter proizvodnjo ZU.

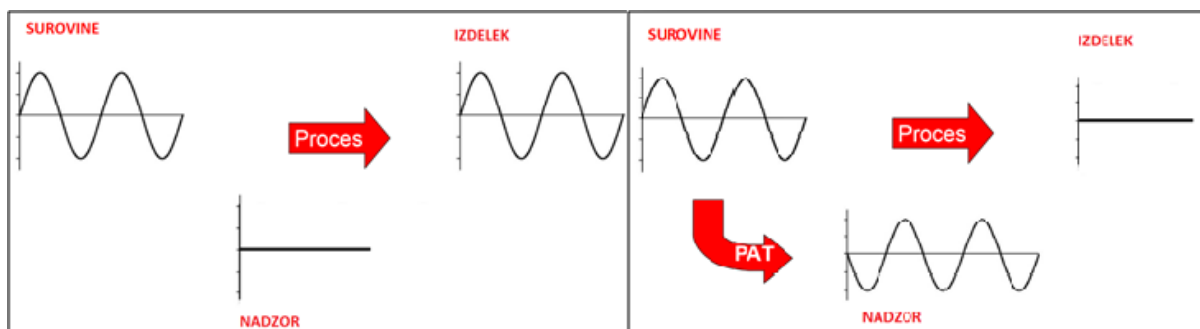
Prednosti razvoja FO s QbD so (20):

- Poznavanje učinkovitih kriterijev oz. parametrov, ki so ključni za dosego želene lastnosti končne farmacevtske oblike v praksi.
- Povečanje zmogljivosti procesa in zmanjšanje variabilnosti FO ter defektov na podlagi razumevanja procesa in produkta ter kontrole.
- Povečanje učinkovitosti proizvodnega in razvojnega procesa.
- Olajša in izboljša analizo vzroka in obvladovanja sprememb po registraciji zdravil.

Ključni elementi QbD raziskave (20):

- Določitev končnega profila kakovosti FO (angl. Quality target product profile).
- Poznavanje kritičnih lastnosti FO (angl. Critical quality attributes, CQA), vstopnih materialov (angl. Critical material attributes, CMA) in procesnih parametrov (angl. Critical process parameters, CPP). Pri tem CMA in CPP lahko določajo CQA. V formulaciji tablet z ogrođjem iz polimera so navadno kritični vidiki vsebnost in topnost ZU, tip in vsebnost polimera ter tip, vsebnost in topnost polnila. Pri tem podjetje Dow kot CMA polimera določa viskoznostni razred, tip substitucije, velikost delcev in vsebnost (21).
- Določitev strategije nadzora, ki vključuje specifikacije za ZU, pomožne snovi, končno FO in za vsak korak proizvodnega procesa.
- Upravljanje in analiza tveganja za kakovost FO (angl. Quality risk management).

S QbD pristopom prepoznamo karakteristike, ki so kritične za kakovost FO s strani pacientov. Na podlagi teh informacij določimo lastnosti, ki so ključne za FO in oblikujemo načrt za doseg take FO. Ključni element načrta je povezava procesnih spremenljivk z delovanjem FO in določitev možnih variabilnosti v procesu, kar lahko uspešno izvedemo z izdelavo prostorskega načrta (angl. Design space), v katerem preučujemo interakcije procesnih spremenljivk in materialnih lastnosti ZU ali pomožnih snovi. Za statistično vrednotenje med drugim uporabljamo statistično načrtovanje eksperimentov (ang. Design of Experiment) in multivariantno analizo (angl. Multivariate Analysis). Na podlagi teh raziskav vzpostavimo robusten proizvodni proces, ki je dovolj fleksibilen za izdelavo FO z želenimi lastnosti skozi ves čas. Nadzor nad proizvodnim procesom izvajamo s časovnimi meritvami CQA ali drugih procesnih spremenljivk, ki zagotavljajo kakovosten FO. Ta način je znan kot procesna analizna tehnologija (angl. Process Analytical Technology, PAT) in je predstavljen na sliki 5. Za razliko od sistema testiranja kakovosti z uvedbo QbD posredno zagotovimo kakovost vsakega izdelanega FO (19).



Slika 5: Shema procesa izdelave FO brez (levo) ali z uporabo PAT (desno). Pri uporabi spremenljivih vhodnih surovin v kombinaciji z rigidnim sistemom nadzora ohrani variabilnost v končnem FO. Uporaba PAT omogoči fleksibilen nadzor, ki pri proizvodnji upošteva variabilnost vhodnih surovin in samega tehnološkega procesa in na ta način omogoči izdelavo konstantnih FO (21).

2. NAMEN DELA

Pri načrtovanju ogrodnih tablet za podaljšano sproščanje je ključna komponenta polimer, ki nadzoruje sproščanje. V številnih raziskavah podaljšanega sproščanja so ugotovili, da so kljub podobnim specifikacijam razlike med polimeri znotraj istega substitucijskega razreda dovolj velike, da signifikantno vplivajo na potek sproščanja učinkovin. V nalogi bomo raziskali vpliv določenih materialnih lastnosti HPMC substitucijskega razreda 2208 na podaljšano sproščanje slabo topne modelne zdravilne učinkovine. Preiskovane lastnosti so ključne za funkcionalnost polimera v vlogi hidrofilnega ogrodja in so navedene v specifikaciji proizvajalca. Namen naloge je ugotoviti, ali lahko predvidimo sproščanje le na podlagi lastnosti, navedenih v specifikacijah, in ali med polimeri dveh proizvajalcev obstajajo razlike, ki signifikantno vplivajo na sproščanje. Uporabili bomo 7 tipov QbD-polimera HPMC podjetja Shin-Etsu in Dow, ki se med seboj razlikujejo v stopnji substitucije, velikosti delcev in viskoznosti 2-% vodne raztopine.

Raziskava bo potekala v 3 fazah.

V prvi fazi bomo izdelali tablete za podaljšano sproščanje s tabletirko na udarec. Pri tem bomo preverjali fizikalne lastnosti tablet, s katerim bomo spremljali ponovljivost postopka.

V naslednji fazi bomo z izdelanimi tabletami izvedli preskus sproščanja po USP-metodi.

V zadnji fazi bomo analizirali še vpliv dveh parametrov, ki ju specifikacije proizvajalcev polimerov ne navajajo. Z nuklearno magnetno resonanco bomo ovrednotili substituiranost vzorčnih polimerov in z izgubo mase pri sušenju določili vsebnost vlage. Pri vrednotenju in primerjavi rezultatov si bomo pomagali s statističnimi metodami; in sicer za primerjavo profilov sproščanja bomo uporabili dejavnik podobnosti f_2 in analizo variance, za primerjavo posameznih vrednosti t-test.

3. EKSPERIMENTALNO DELO

3.1. MATERIALI

3.1.1. VZORCI

V nalogi smo uporabili vzorce polimera HPMC, ki so navedeni v Preglednici II. Vzorce smo pridobili od proizvajalcev The Dow Chemical Company – Colorcon, ZDA (K4M, komercialno ime Methocel®) in Shin-Etsu® Chemical Co., Ltd, Japonska (90SH-4000SR, komercialno ime Metholose®).

Preglednica II: Pregled uporabljenih vzorčnih polimerov, proizvajalcev, substitucijskega tipa in njihovega poimenovanja v nalogi. Vzorci v nalogi, imenovani CC, predstavljajo polimere HPMC s komercialnim imenom Metochel® (K4M), ameriškega podjetja Colorcon-DOW. Vzorci SE predstavljajo polimere HPMC z oznako Metolose® (90SH-4000SR) japonskega podjetja Shin-Etsu.

	Proizvajalec	Tip substitucije	Tip polimera	Oznaka
1	Colorcon®	2208	CENTRAL POINT	CC ST
2	Colorcon®	2208	LOW PARTICLE SIZE*	CC LPS
3	Colorcon®	2208	HIGH PARTICLE SIZE**	CC HPS
4	Colorcon®	2208	LOW HIDROXY CONTENT	CC LS
5	Colorcon®	2208	HIGH HIDROXY CONTENT	CC HS
6	Colorcon®	2208	LOW VISCOSITY	CC LV
7	Colorcon®	2208	HIGH VISCOSITY	CC HV
8	Shin-Etsu®	2208	STANDARD	SE ST
9	Shin-Etsu®	2208	COARSE PARTICLE	SE HPS
10	Shin-Etsu®	2208	FINE PARTICLES	SE LPS
11	Shin-Etsu®	2208	LOW SUBSTITUTION	SE LS
12	Shin-Etsu®	2208	HIGH SUBSTITUTION	SE HS
13	Shin-Etsu®	2208	LOW VISCOSITY	SE LV
14	Shin-Etsu®	2208	HIGH VISCOSITY	SE HV

*Vzorec imenovan »High % pass 230 mesh«

** Vzorec imenovan »Low % pass 230 mesh«

Za analizo smo uporabili QbD-vzorce substitucijskega razreda 2208, ki imajo vrednost ene FCR na zgornji ali spodnji specifikacijski meji. Lastnosti, ki so na zgornji ali spodnji meji

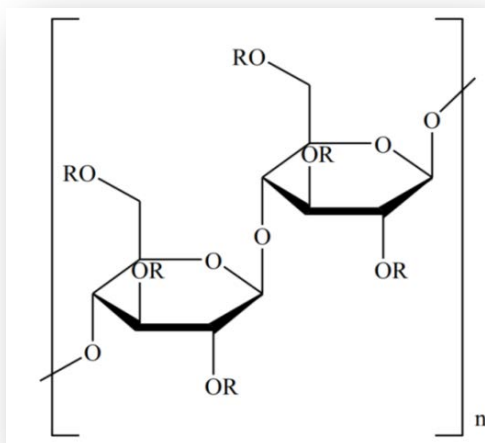
specifikacije, so pri vzorcih viskoznost 2-% vodne raztopine, velikost delcev in stopnja substitucije ter so navedene v Preglednici III.

Preglednica III: Lastnosti vzorcev, ki so navedene v specifikacijah proizvajalca s specifikacijskimi mejami. Obkrožene vrednosti označujejo s funkcionalnostjo povezane lastnosti vzorcev, ki so na zgornji ali spodnji meji specifikacije.

Vzorec	Viskoznost 2%		Velikost delcev	MeO (%)	HP (%)	Izguba pri sušenju (%)
	w/w (mPa*s)					
SE	3000 - 5600		50 – 80 µm	19,0 – 24,0	8,5 - 10,5	5,0
CC	2663 - 4970		50 – 80 % < od 63 µm	/	7,5 – 9,5	/
CC ST	3389		54,9% < od 63 µm	/	8,45	/
SE ST	4100		67,5 µm	23,1	9,4	1,1
CC HPS	3528		36,9 % < od 63 µm	/	8,5	/
SE HPS	3730		83,4 µm	23,2	9,3	1,4
CC LPS	3300		60,1 % < od 63 µm	/	8,8	/
SE LPS	3530		60,2 µm	23,2	9,2	1,2
CC LS	3710		55,8 % < od 63 µm	/	8,0	/
SE LS	3630		70,8 µm	23,5	8,1	1,3
CC HS	3410		50,3 % < od 63 µm	/	10,2	/
SE HS	3970		63,2 µm	22,8	10,7	1,1
CC LV	3233		54,9 % < od 63 µm	/	8,4	/
SE LV	3040		67,5 µm	23,2	9,5	1,3
CC HV	4938		51 % < od 63 µm	/	8,6	/
SE HV	5470		75,1 µm	23,2	9,5	1,1

Kemijsko ime: hidroksipropilmetilceluloza (23).

Kemijska sestava: zmes O-metilnih in O-(2-hidroksipropilnih) celuloznih etrov (Slika 6) (8).

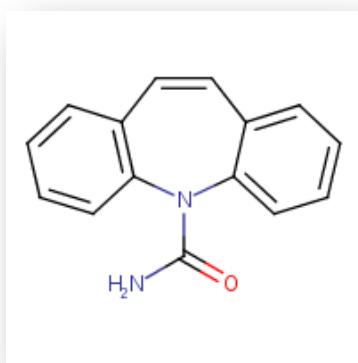


Slika 6: Strukturna formula HPMC (23), kjer je $R = H, CH_3, CH_2CH(OH)CH_3$

Izgled: rumenkasto bel ali sivkasto bel zrnat ali vlaknat, rahlo higroskopen prah brez vonja in okusa (22).

Lastnosti: spojina je higroskopna, pri stiku z vodo sprva nabreka in tvori prozorno ali opalescentno viskozno koloidno raztopino. V mrzli vodi je topna v vseh razmerjih (22, 23).

3.1.2. MODELNA ZDRAVILNA UČINKOVINA



Slika 7: Modelna zdravilna učinkovina karbamazepin (22).

Kot modelno zdravilno učinkovino smo uporabili karbamazepin, podjetja Sigma Aldrich (Slika 7). Spada v skupino antiepileptikov in jo uporabljamo za zdravljenje epilepsije, akutne manije, bolečin živčnega izvora in preprečevanje bipolarnе afektivne motnje (24). Po izgledu

je bel prašek, slabo topen v vodi in dobro topen v acetonu. Porazdelitveni koeficient oktanol/voda je 2.45, zato raztopljen v vodi dobro prehaja membrane. Pri 25 °C je po podatkih najvišja topnost v vodi 18 mg/L (25). Pri izdelavi umeritvene krivulje smo dosegli topnost 15 mg/L. Je termično stabilna molekula in odporna proti hidrolizi. Hranili smo ga v originalni embalaži pri sobnih pogojih in zaščitenega pred sončno svetlobo. Za učinkovino karbamazepin že obstajajo tablete s podaljšanim sproščanjem. Trenutno so na voljo pod imenom Tegretol z odmerkom 100 mg, 200 mg in 400 mg s sistemom sproščanja z osmozo (26), ki smo jo podrobneje predstavili v uvodu. Zaradi stroškovno in tehnično zahtevnega procesa v industriji iščemo alternativne enostavnejše pristope podaljšanega sproščanja karbamazepina (1).

3.1.3. APARATURE

- analizna tehtnica, Mettler Toledo Švica
- precizna tehtnica, Exacta 300EB, Exacta, Slovenija,
- mešalnik Paul Schatz, Inversiana Tumbler Mixer 2L
- magnetno mešalo, Mettler Toledo Švica
- avtomatske pipete, Eppendorf research, Nemčija
- žica iz nerjavečega jekla (tip 316), Quality Lab Accessories
- tabletirka na udarec, IMA Killian SP 300, Killian and Co GmbH, Nemčija
- vlagomerom, TIP LP 16, Mettler Toledo, Švica
- helijev piknometer, AccuPyc 1330, Micromeritics, Norcross, GA, ZDA
- merilnik trdnosti tablet, VanKel 200, Vankel Vanderkamp, ZDA
- digitalno kljunasto merilo
- naprava za sproščanje, VanKel VK 7000 Series, Vankel Technology, ZDA
- 10 µm filtri za sproščanje, Agilent (Full flow filter)
- UV-VIS spektrofotometer, HP 8453, Agilent Technologies, ZDA
- NMR spektrometer, Bruker Avance III 400 MHz

3.2. METODE DELA

3.2.1. PRIPRAVA ZMESI IN TABLETIRANJE

Preglednica IV: Receptura zmesi za tabletiranje.

Snov	Vloga v tableti	Masa	Delež v
Laktoza monohidrat	Polnilo	196 mg	49 %
HPMC	Polimer za podaljšano sproščanje	100 mg	25 %
Karbamazepin	Modelna učinkovina	100 mg	25 %
Magnezijev Stearat	Antiadheziv	4 mg	1 %



Slika 8: Pripravljena zmes za tabletiranje.

Za preskus sproščanja smo izdelali 400-mg tablete s sestavo, prikazano v Preglednici IV. Za posamezno serijo tablet smo pripravili 15 g zmesi za tabletiranje (Slika 8). Vse komponente razen magnezijevega stearata smo natehtali na precizni digitalni tehtnici. Komponente smo dodajali v zaporedju: laktoza, HPMC, ZU, magnezijeve stearat. Prve 3 komponente smo mešali 5 minut v mešalniku Paul Schatz na 60 obratih / min, nato po dodatku magnezijevega stearata, natehtanega na analizni tehtnici, mešali še 1 minuto pri enakih nastavitvah. Za posamezno tableto smo na aluminijasti foliji natehtali zmes in jo ročno prenesli v matrico. Pri tem je natančnost mase znašala $403 \text{ mg} \pm 3 \text{ mg}$. Tablete smo izdelali na tabletirki na udarec z avtomatskim stiskanjem in ročnim polnjenjem matrice. Uporabljena hitrost je bila 25 tablet/minuto, odmik spodnjega pečata 11 mm in zgornjega pečata 9,4 mm. Uporabljeni pečati

so bili okrogli, z ravnim robom, premera 12 mm. Eno šaržo tablet predstavljajo vse tablete, ki so nastale iz iste zmesi za tabletiranje v nekaj dnevnem časovnem intervalu. Med raziskavo smo večkrat ponovili postopek izdelave tablet in tako uporabljali tablete več serij. Tablete smo med seboj primerjali vizualno in med stiskanjem smo spremljali sile na pečatih. Izdelane tablete smo za čas poskusa hranili v plastičnih posodah iz polietilena večje gostote (oznaka HDPE) pri sobnih pogojih.

3.2.2. MERITEV TRDNOSTI IN POROZNOSTI TABLET

Za ugotavljanje primerljivosti tablet in sočasno spremljanje ponovljivosti pogojev tabletiranja smo primerjali trdnost tablet in njihovo poroznost. Za trdnost tablet smo uporabili napravo za merjenje trdnosti tablet in pri rezultatih upoštevali povprečje treh tablet. Tableto smo položili na napravo s ploskim delom navzdol med nepremičen in premičen del. Pri merjenju se premičen del približa nepremičnemu, pri čemer izmeri najmanjšo silo, pri kateri se tableta zlomi. Za določitev poroznosti tablet smo najmanj štirim tabletam izmerili pravo gostoto s helijevim piknometrom, dimenzije (višina in debelina) z digitalnim kljunastim merilom in maso na precizni tehtnici. Kot rezultat smo uporabili povprečja treh meritev poroznosti in povprečje dimenzij ter mase 10 tablet.

$$\varepsilon = 1 - \left(\frac{\delta_b}{\delta_p} \right) \quad (\text{Enačba 1})$$

$$\delta_p = \frac{m}{\pi * r^2 * h} \quad (\text{Enačba 2})$$

kjer je ε – poroznost, δ_b – nasipna gostota (mg/cm^3), δ_p – prava gostota (mg/cm^3), r – polmer zgornje ploskve valjaste tablete (cm) in h – debelina tablete (cm).

3.2.3. IZGUBA PRI SUŠENJU (Ph.Eur)

Metodo smo izvajali po zgledu metode v USP, izguba pri sušenju (8). Prazen vlagomer smo predhodno segrevali na $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ približno 30 sekund oziroma do prenehanja izgubljanja mase tehtiča. Nato smo tehtič pustili nekaj minut v napravi, da se ohladi, in nato nanj enakomerno nanesli približno 1,5 g vzorca. Sušenje vzorca je pri temperaturi $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ trajalo 1 h. Naprava je izgubo vlage izračunala avtomatično po enačbi 3:

$$\% \text{ izgube s sušenjem} = \frac{A}{B} - 100\%$$

(Enačba 3)

kjer je A masa vzorca pred sušenjem in B masa vzorca po sušenju. Izgubljeno maso predstavlja prosta voda, vendar tega nismo preverjali.

3.2.4. PRESKUS SPROŠČANJA (*Ph.Eur*)

3.2.4.1. Preliminarni preizkusi

24-urne preliminarne preizkuse smo izvajali na napravi z vesli (USP II) in košaricami (USP I) pri hitrosti vrtenja vesel 50, 75 in 100 rpm. Najvišje koncentracije ZU in obenem najbolj konsistentno sproščanje smo dosegli na napravi z vesli (USP II) s hitrostjo vrtenja 100 obratov v minuti (rpm). Omejili smo trajanje sproščanja na 16 ur, kjer se je sprostilo približno 80 % učinkovine. Hitrost vrtenja vesel smo potrdili s trikratnim štetjem obratov v 60 sekundah. Med sproščanjem so se tablete zalepile na dno ali pa so plavale na površini. V obeh primerih to spremeni pogoje sproščanja, kar je nesprejemljivo za relevantne rezultate. Zato smo iz žice iz nerjavečega jekla izdelali potapljače, v katere smo previdno vstavili tableto in na ta način preprečili lebdenje tablet ali njihovo lepljenje na dno posode (Slika 9).



Slika 9: Ročno izdelani potapljači.

Oblikovali smo jih v heliks s 6 zavoji, pri tem smo se zgledovali po lastnostih komercialno dobavljivih potapljačev (29). Na podlagi opazovanja tablet med sproščanjem in primerjave sproščene ZU v časovnih točkah smo ocenili, da pri potapljaču ključno vpliva masa, število in razmik med zavoji. Omenjene lastnosti potapljačev so prikazane v Preglednici IV. Pri vstavitvi tablet v potapljače, smo poskušali čim bolje ohraniti razdalje med zavoji (Slika 10, Preglednica V). Tako pripravljene tablete smo po zagnanem programu in ob času 0 ročno spustili v posode.



Slika 10: Primer tablet v potapljačih, pripravljenih za preskus sproščanja.

Preglednica V: Lastnosti izdelanih potapljačev.

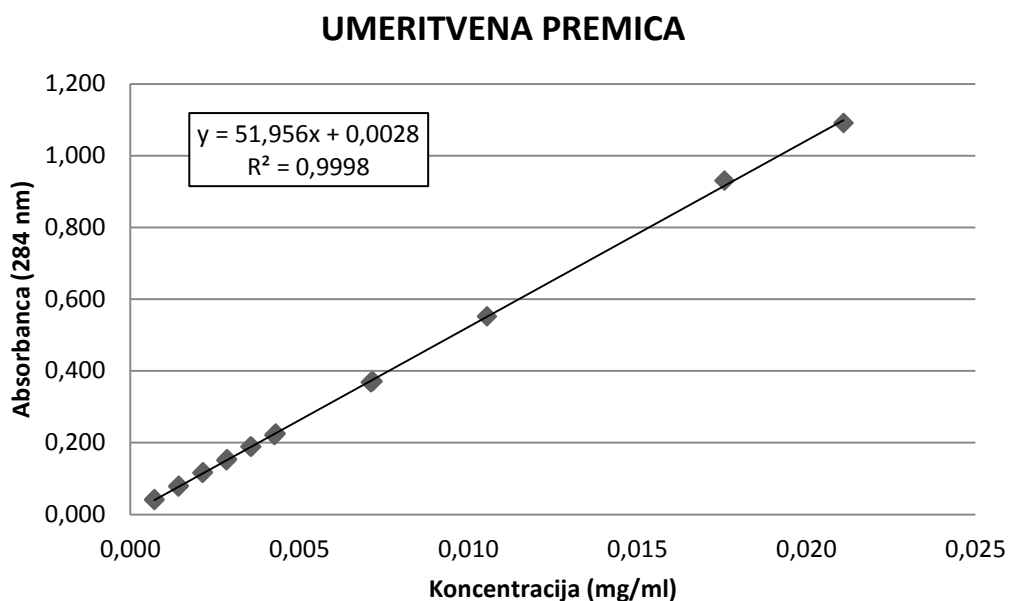
Parameter	1	2	3	4	5	6	7	8
Masa (mg)	892,5	842,4	845,4	856,9	711,6	847,5	861,4	857,5
Število zavojev	7	7	6	6	6	7	7	7

3.2.4.2. Potek sproščanja

Preskus sproščanja je potekal na napravi za sproščanje z avtomatskim vzorčevalnikom in z veslastimi mešali (USP II). Po zgledu farmakopejske metode (8) smo uporabili temperaturo vodne kopeli $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ in predhodno segret medij; 900 ml prečiščene vode. Sproščanje je potekalo v 8 posodah. Vzdrževanje pogojev sproščanja in odvzem 10 ml vzorcev je potekalo po predhodno nastavljenem programu v avtomatskem vzorčevalniku. Odvzem vzorca je potekal v 10 časovnih točkah: 0,5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 14 h in 16 h brez nadomeščanja odvzetega volumna, kar smo upoštevali pri izračunih sproščene koncentracije ZU (Enačba 6). Tekom preskusov smo opazili, da se pri tabletah, ki splavajo iz potapljača, sprosti več učinkovine kot pri navpično postavljenih potapljačih. Zato smo posode, kjer se je to zgodilo, izločili iz skupnih rezultatov. V posodah, kjer pride do splavitve tablet na površje, se namreč spremenijo tokovne sile, ki delujejo na tableto in vplivajo na njen profil sproščanja. Za vsak vzorec HPMC smo izvedli vsaj 8 paralel in upoštevali poizkuse, kjer je sproščanje potekalo pod zastavljenimi pogoji.

3.2.5. UV-VIS SPEKTROSKOPIJA

Koncentracijo sproščene ZU smo detektirali z UV-VIS spektrofotometrom iz odvzetih vzorcev ob posameznih časovnih točkah. Po zgledu farmakopejske metode sproščanja (8) smo raztopljen karbamazepin merili pri valovni dolžini 284 nm in koncentracijo učinkovine v raztopini določili s pomočjo umeritvene premice v linearnem območju (Slika 11), tj. pri absorbanci od 0,08 do 1,09. Pri absorbanci nad 1,09 smo vzorec ustrezno redčili v razmerju vzorec – medij 1:5 ali 1:12,5.



Slika 11: Umeritvena premica karbamazepina v linearnem območju za določanje njegove koncentracije v vzorcih.

3.2.6. IZRAČUN SPROŠČENE UČINKOVINE

Za izračun koncentracije sproščene učinkovine smo uporabili enačbe, predstavljene spodaj. Razlaga oznak je za vse enačbe v tem poglavju predstavljena na koncu poglavja.

Beer Lambertovim zakonom smo uporabili za izračun koncentracije:

$$A = \epsilon bc \quad (\text{enačba 4})$$

S pomočjo umeritvene krivulje absorbance ZU v vodi smo izračunali koncentracijo ZU v času t (enačba 1).

$$c_t = \frac{(A-n)*f}{k} \quad (\text{enačba 5})$$

Celokupno maso sproščene ZU v času t smo izračunali z enačbo 6. Pri tem smo upoštevali odvzet volumen medija in njegovo zmanjšanje v posodi zaradi vzorčenja.

$$m_t = (c_t * V_t) + V_z * \sum_{t=1}^x c_{t(x-1)} \quad (\text{enačba 6})$$

Masni delež sproščene ZU v času t smo izračunali z enačbo 7.

$$d_t = \frac{m_t}{m * d_{zu}} * 100 \quad (\text{enačba 7})$$

Enačbo 8 smo uporabili za izračun povprečne vrednosti masnih deležev sproščene ZU v času t iz posod, kjer so bile tablete teoretično enake (paralele).

$$d_{\bar{t}} = \frac{\sum_{t=1}^x d_t}{x} \quad (\text{enačba 8})$$

Z enačbo 9 smo izračunali standardno deviacijo izmerjenih vrednosti.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{t=1}^x (d_{\bar{t}} - d_t)^2}{x}} \quad (\text{enačba 9})$$

Z enačbo 10 smo izračunali relativno standardno deviacijo masnih deležev sproščene učinkovine v času t.

$$rsd = \frac{\sigma}{d_{\bar{t}}} \quad (\text{enačba 10})$$

Legenda simbolov:

A – absorbanca ZU

b – debelina kivete

c – koncentracija.

c_t – koncentracija ZU v mediju ob času t (mg/ml)

n – presečišče umeritvene premice z ordinatno osjo

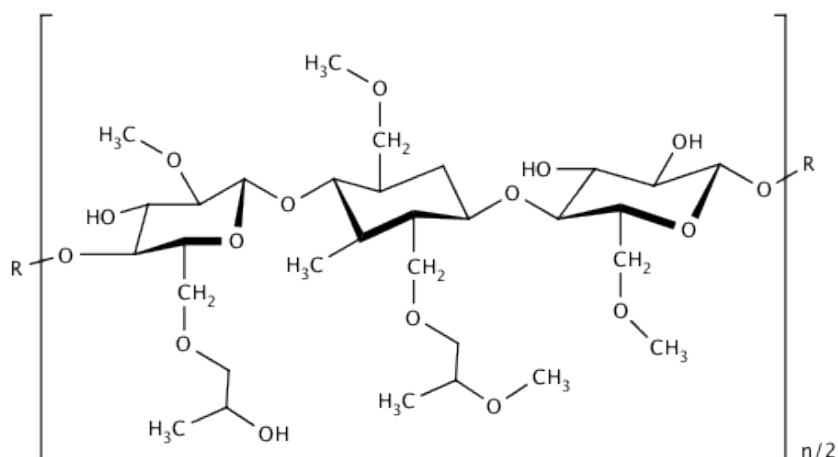
k – naklon umeritvene premice
 f – faktor redčenja
 m_t – celokupna masa ZU do časa t (mg)
 V_t – volumen medija v posodi v času t (ml)
 V_z – volumen vzorčenega medija (ml)
 C_{t-1} – koncentracija ZU v predhodni časovni točki (mg/ml)
 d_t – celokupen masni delež sproščene ZU do časa t (%)
 m – masa tablete (mg)
 d_{zu} – teoretičen masni delež učinkovine v tableti
 x – število izmerjenih členov
 σ – standardna deviacija
 rsd – relativna standardna deviacija

3.2.7. JEDRSKA MAGNETNA RESONANCA

Za določitev substitucije vzorcev smo uporabili jedrsko magnetno resonanco (^1H NMR). ^1H NMR je spektroskopska metoda, kjer z elektromagnetnim sevanjem proučujemo lastnosti snovi. Vzorec obsevamo z radijskimi valovi, ki jih vodikova jedra pri določeni frekvenci absorbirajo in preidejo v vzbujeno stanje. Vodikova jedra imajo v magnetnem polju dve različni energijski stanji, med katerima lahko prehajajo z absorpcijo oziroma z oddajanjem radiofrekvenčnega polja (resonančna ali Larmorjeva frekvenca). Sčasoma se jedro iz vzbujenega stanja vrne v osnovno stanje in pri tem izseva elektromagnetno valovanje, ki ga posredno izmerimo. Z uporabo gradientov magnetnega polja dosežemo, da delujemo na jedra v različnih delih vzorca z različnim magnetnim poljem. S tem dobimo elektromagnetni signal iz posameznega dela vzorca in v našem primeru s tem prostorsko informacijo o substituentih. Za izvedbo postopka smo se zgledovali po že znani metodi (27, 28).

3.2.7.1. Acetiliranje vzorcev

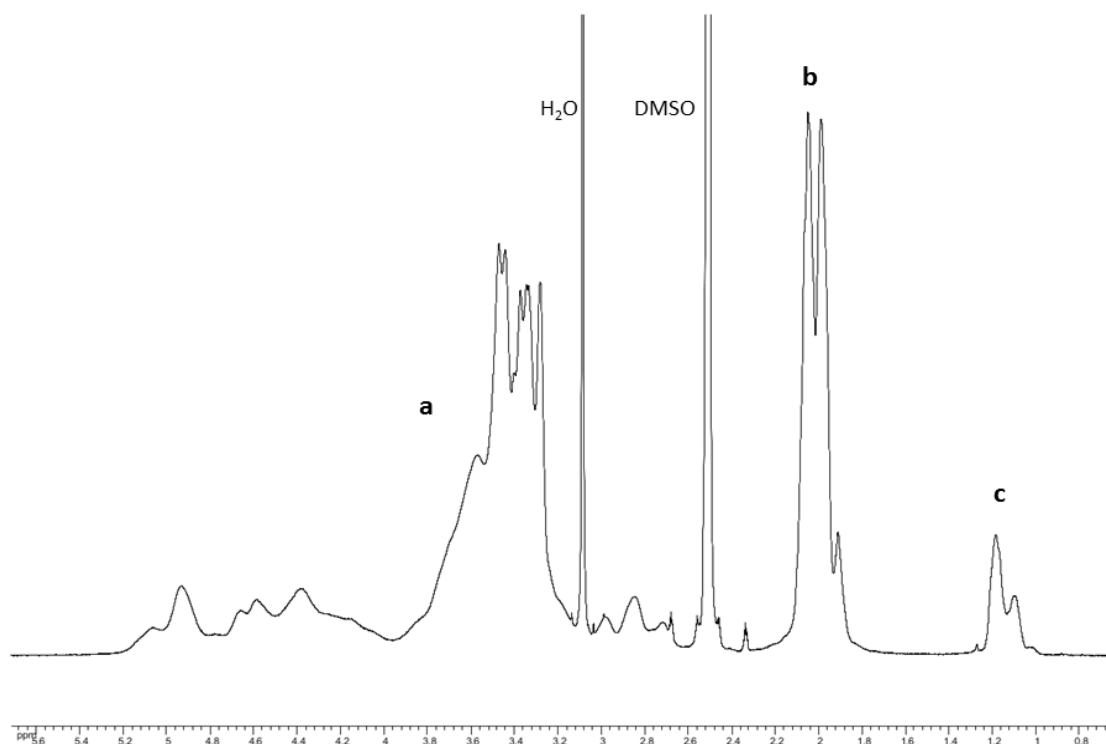
Za izvedbo meritev z nuklearno magnetno resonanco smo vzorce predhodno acetilirali. Na sliki 12 je prikazana ena od možnih struktur acetiliranega polimera HPMC. Z vezavo acetilne skupine na proste hidroksilne skupine v polimeru smo lahko natančno preračunali delež hidroksipropoksi in metoksi skupine na verigi celuloze. Pri izvedbi acetiliranja smo se zgledovali po že uporabljeni metodi (27), ki smo jo nekoliko prilagodili (28).



Slika 12: Struktura acetilirane HPMC.

150 mg vzorca smo raztopili v 2,25 ml anhidrida in 0,75 ml piridina. Zmes smo ob konstantnem mešanju pustili vreti 4 ure v atmosferi argona pri 120 °C. Ohlajeno reakcijsko zmes smo raztopili v 20 ml acetona in jo postopoma vlili v 100 ml hladne vode. Izkristaliziran precipitat smo zbrali s filtracijo in ga sprali z vodo. Ostanek tekočine smo v večjem delu odstranili z vakuumskim filtriranjem in ga nadaljnje sušili najmanj 24 ur pri sobnih pogojih. Osušen acetiliran vzorec smo pri 50 °C raztopili v 1 ml devteriranem topilu dimetilsulfoksid d6 (DMSO-d6) in jih tako prenesli v 5 mm cev za NMR.

^1H NMR spektre z acetiliranimi vzorci, raztopljenimi v topilu DMSO-d6 (kemijski premik 2,50 ppm), smo posneli na NMR-spektrofotometru pri 348 K s funkcijo brez rotacije vzorcev. Na sliki 13 je NMR spekter acetiliranega polimera HPMC.



Slika 13: Spekter ^1H NMR acetiliranega polimera HPMC, posnet v topilu DMSO d_6 . Premik med 2,4 in 2,6 ppm se nanaša na topilo DMSO. Področje spektra, ki ga prikazuje **a** (2,26 and 6,50 ppm) predstavlja signal protonov na celotni molekuli, torej na glukoznem obroču, MeO in HP. Odsek **b** (1,50 in 2,20 ppm) predstavlja signal MeO in HP in **c** (0,70 in 1,50 ppm) proton na metilni skupini substituenta HP.

Iz dobljenih rezultatov smo preračunali delež HP in MeO glede na enoto polimera z enačbami od 11 do 13c. Stopnjo substitucije predstavlja vrednost DS in označuje povprečno število substituiranih mest na enoto. Izračunali smo jo po enačbi 14. Vrednost MS predstavlja povprečno število hidroksipropoksi ($-\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_3$) in metoksi skupin ($-\text{OCH}_3$) na enoto in je izračunana po enačbi 15.

$$((a - c)x - 7) + bx = 9 \quad (\text{Enačba 11})$$

$$x = \frac{16}{a + b + c} \quad (\text{Enačba 12})$$

$$a * x = a' \quad (\text{Enačba 13a})$$

$$b * x = b' \quad (\text{Enačba 13b})$$

$$c * x = c' \quad (\text{Enačba 13c})$$

$$DS = \frac{a - 7 - c}{3} \quad (\text{Enačba 14})$$

$$MS = \frac{c}{3} \quad (\text{Enačba 15})$$

kjer je x – delež protonov, preračunan na monomer, a – protoni na skeletu in na metoksi ter hidroksipropoksi skupini, a' – a , preračunan na monomer, b – proton na acilni skupini, b' – b , preračunan na monomer, c – proton na metilni skupini na hidroksipropoksi skupini, c' – c , preračunan na monomer DS – stopnja substitucije in MS – molekulska substitucija.

3.2.8. STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV

Rezultate sproščanja zdravilne učinkovine smo statistično ovrednotili s pomočjo testa dejavnika podobnosti f_2 , enosmerne analize variance (ANOVA) in t-testa dveh neodvisnih spremenljivk. Naštete metode spadajo pod metode, neodvisne od modela, kjer neposredno primerjamo testne profile sproščanja z referenčnimi in parametrične teste, ki predpostavljajo normalno porazdelitev spremenljivke. Kljub temu da metode lahko prikazujejo enako količino sproščene učinkovine, ne zagotavlja enako obliko profilov sproščanja. Računanje smo izvedli v programu Microsoft Excel 2010.

3.2.8.1. Dejavnik podobnosti f_2

S F-testom smo preizkusili predpostavko o statistični enakosti testnega profila z referenčnim v posamezni točki sproščanja. Ta način temelji na razliki v točkah vzorčenja, ne upošteva variabilnosti rezultatov pri sproščanju in ni vedno merilo bioekvivalenčne enakosti. Pri identičnem vzorcu referenčnemu ni razlik med njima v posameznih točkah sproščanja in f_2 ima vrednost 100. Večje kot so razlike med njima, manjša je vrednost f_2 . Testni in referenčni profil sproščanja je primerljiv, ko je določena vrednost f_2 50 ali več. V raziskavi primerljivosti sproščanja so mejno vrednost 50 povezali z 10 % razliko med profiloma. Pri določanju primerljivosti profilov sproščanja smo se ravnali po poglavju o testiranju sproščanja v smernicah za industrijo ameriškega vladne agencije za hrano in zdravila (angl. Food and Drug Administration, FDA) (30). Dejavnik podobnosti f_2 temelji na logaritemski transformaciji povprečne vsote kvadratne napake dveh profilov sproščanja in ga izračunamo z enačbo 16.

$$f_2 = 50 \cdot \log \left[\frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^{t=n} [R(t) - \bar{T}(t)]^2}{n}}} \right] \quad (\text{enačba 16})$$

Kjer je n število časovnih točk, R_j količina referenčne enote ob času t , T_t je količina testne enote ob enakem času t in n je število točk vzorčenja.

Priporočila FDA navajajo, da naj izračun f_2 obsega 12 točk in enake pogoje sproščanja. Med paralelami posameznega vzorca priporočajo razlikovanje manjše od 20 % v prvi polovici in 10 % v drugi. Nad 85 % sproščene ZU naj bo izmerjena le 1 časovna točka. Pri izračunih smo navedena priporočila FDA upoštevali in pri tem upoštevali točke od 4. do 16. ure (30).

3.2.8.2. Analiza variance (ANOVA)

Ali so spremembe (variacije) določenih parametrov pri posameznih neodvisnih skupinah rezultatov signifikantno pomembne, smo preverili z analizo variance. Spreminjali smo 1 dejavnik (tj. vzorec), zato smo uporabili enosmerno analizo.

3.2.8.3. T-test za neodvisne vzorce

S t-testom smo ugotavljali, ali se dve neodvisni meritvi oziroma povprečni vrednosti meritev med seboj statistično pomembno razlikujeta. Izračunan je v skladu z enačbo 17.

$$t_{\text{exp}} = \frac{\bar{X} - \mu_0}{s/\sqrt{n}} \quad (\text{enačba 17})$$

4. REZULTATI IN RAZPRAVA

Polimeri HPMC različnih proizvajalcev ali proizvedenih serij istega substitucijskega in viskoznostnega razreda imajo lahko različne materialne lastnosti, ki lahko privedejo do nesprejemljivih razlik v kakovosti končne farmacevtske oblike, kar se lahko kaže kot razlika v profilu sproščanja zdravilne učinkovine. V tem primeru bi bilo v skladu s pristopom QbD potrebno prepoznati spremenljivke v polimeru kot vstopnem materialu, določiti njegove fizikalne in kemijske kritične lastnosti, ki odločilno vplivajo na učinkovitost končnega produkta, in za zmanjšanje tveganja uvesti nad njimi ustrezen nadzor. V nadaljevanju se bomo osredotočili na primerjavo profilov sproščanja formulacij z vzorčnimi polimeri. Hkrati bomo primerjali razlike v fizikalnih lastnosti pripravljenih FO in analizirali kritično lastnost stopnje substitucije vsakemu izmed vzorcev. Poskušali bomo ugotoviti, v kakšni meri lahko napovemo sproščanje modelne ZU z dobljenimi rezultati in podatki iz specifikacij proizvajalcev ter katera lastnost najbolj napoveduje sproščanje.

4.1. TRDNOST IN POROZNOST TABLET

Rezultati meritev poroznosti in trdnosti tablet so prikazani v preglednici VI. Tablete smo pripravili s tabletirko na udarec z ročnim polnjenjem. S tem postopkom izdelave so tablete dosegle dobro primerljivosti dimenzij z maso med 399 in 407 mg.

Preglednica VI: Rezultati meritev fizikalnih lastnosti tablet. Prikazana je povprečna masa, trdnost in poroznost tablet. Rezultati so podani s standardno deviacijo.

Oznaka	Masa $\pm$ SD (mg)	Trdnost $\pm$ SD (N)	Poroznost $\pm$ SD (%)
CC ST	405 $\pm$ 1	54 $\pm$ 4	0,204 $\pm$ 0,006
SE ST	405 $\pm$ 2	45 $\pm$ 6	0,216 $\pm$ 0,005
CC HPS	403*	35 $\pm$ 2	0,220 $\pm$ 0,002
SE HPS	402*	39*	0,224 $\pm$ 0,004
CC LPS	405 $\pm$ 1	57 $\pm$ 1	0,190 $\pm$ 0,004
SE LPS	406 $\pm$ 1	53 $\pm$ 1	0,196 $\pm$ 0,005
CC LS	404 $\pm$ 1	54 $\pm$ 1	0,190 $\pm$ 0,008
SE LS	402 $\pm$ 0	48*	0,220 $\pm$ 0,006
CC HS	405 $\pm$ 1	45 $\pm$ 1	0,199 $\pm$ 0,007
SE HS	4003 $\pm$ 1	34,2 $\pm$ 1	0,227 $\pm$ 0,002
CC LV	405 $\pm$ 0	42,3 $\pm$ 1	0,196 $\pm$ 0,005
SE LV	402 $\pm$ 2	48*	0,224 $\pm$ 0,003
CC HV	405 $\pm$ 1	48 $\pm$ 1	0,197*
SE HV	402 $\pm$ 1	52*	0,214 $\pm$ 0,005

*vrednost 1 tablete

Z obstoječo formulacijo smo dosegli dovolj veliko trdnost tablet, da se med rokovanjem ne lomijo. Standardna deviacija znotraj enakega vzorca je majhna, kar pomeni, da ne prihaja do bistvenih razlik med enakimi vzorci. Največje razlike med polimeroma Metolose in Metochel so se izkazale pri vzorcih s spremenjeno substitucijo (preglednica VI) in sicer LS v poroznosti tablet in HS v trdnosti. Trdnost tablet je posledica stisljivosti in kompaktibilnosti delcev, ki sta pomembno povezani z velikostjo delcev. Ostali dejavniki so še deformacijske lastnosti delcev, vsebnost vlage praška, viskoznost polimera ter sila in hitrost stiskanja (5). V študiji, kjer so med drugim preučevali trdnost tablet s polimerom Metochel v odvisnosti od velikosti delcev, so prikazali, da z večanjem premera delcev polimera v rangi velikosti 45 – 125 μ m trdnost tablet strmo pada, kar je razvidno tudi iz rezultatov v preglednici VI. Glede na profile sproščanja vzorcev, ki so prikazani v poglavju 4.2, predvidevamo, da se v tabletah tvori dovolj stabilen gel, da razlika v poroznosti in trdnosti ne bo imela signifikantnega vpliva na sproščanje (5).

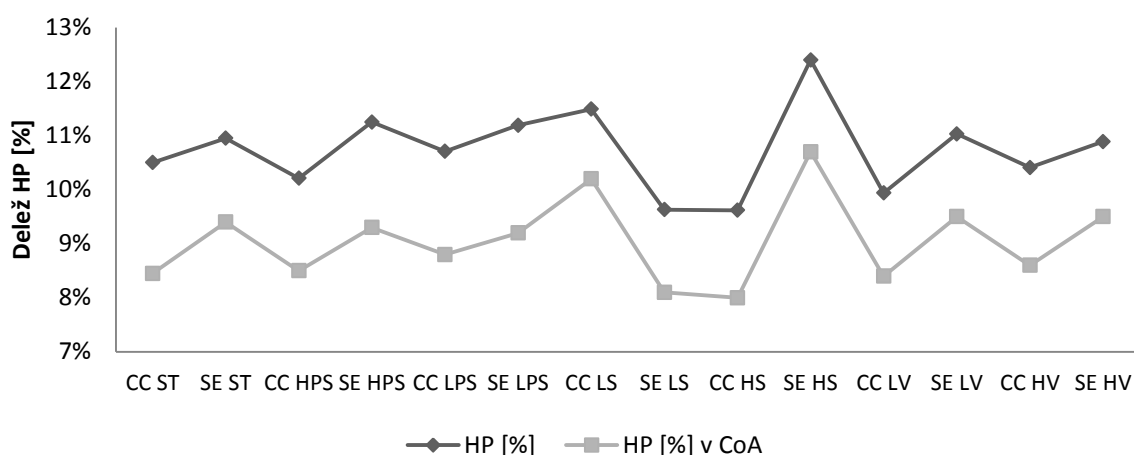
4.2. NMR

Z metodo ^1H NMR smo dobili informacijo o vsebnosti hidroksipropoksi ($-\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_3$) in metoksi skupin ($-\text{OCH}_3$) na monomerno enoto glukoze. Vzorce smo predhodno acetilirali in na ta način izboljšali njihovo topnost v topilu. Z vezano acetilne skupine na proste hidroksilne skupine se je ojačal signal in izognili smo se motenju signala zaradi ostalih interakcij z vodikom. Med seboj smo primerjali povprečni masni delež posameznega substituenta (HP in MeO), razmerje med njima, DS in MS preiskovanega polimera. Rezultati so prikazani v preglednici VII, kjer si vzorci sledijo po vrsti od najmanjše do največje DS.

Preglednica VII: Prikaz substituiranosti vzorcev, pridobljenih z metodo NMR. MS predstavlja molekulsko substitucijo, DS stopnjo substitucije, MeO masni delež metoksi skupine in HP masni delež hidropropoksi skupine (izmerjen in iz specifikacij (oznaka CoA)). V zadnjih dveh stolpcih je navedena skupna substituiranost in razmerje med obema substituentama na monomersko enoto.

Vzorec	HP [%] v CoA	HP [%]	MeO [%]	MS	DS	Skupaj [%]	MeO/HP
CC LS	8	9,62	22,57	0,25	1,43	32,2	2,3
CC ST	8,45	10,50	22,76	0,28	1,46	33,3	2,2
CC HPS	8,5	10,21	23,14	0,27	1,48	33,3	2,3
CC LPS	8,8	10,71	23,09	0,28	1,48	33,8	2,2
SE LPS	9,2	11,19	23,13	0,30	1,49	34,3	2,1
CC HV	8,6	10,41	23,35	0,28	1,50	33,2	2,2
SE LV	9,5	11,03	23,26	0,29	1,50	33,8	2,1
SE LS	8,1	9,63	23,56	0,25	1,50	34,3	2,4
SE HV	9,5	10,89	23,48	0,29	1,52	33,7	2,2
CC LV	8,4	9,94	23,74	0,26	1,52	34,4	2,4
CC HS	10,2	11,49	23,45	0,31	1,52	34,9	2,0
SE HPS	9,3	11,25	23,54	0,30	1,53	34,6	2,1
SE ST	9,4	10,95	23,65	0,29	1,53	34,8	2,2
SE HS	10,7	12,40	23,58	0,34	1,54	36,0	1,9

Glede na farmakopejske zahteve za substitucijski razred 2208 so vsi vzorci znotraj dovoljenih meja. Vsebnost MeO s 23 – 24 % in HP z 10 – 11 % sta za ta razred na zgornji meji specifikacij, pri tem pa so mejne vrednosti HP v specifikacijah pri Shin-Etsu za 1 % višje kot pri Dow (Preglednica I). Opazimo lahko, da so dobljeni rezultati za vsebnost HP nekoliko višji od tistih v specifikacijah proizvajalca, kar je lahko posledica uporabe druge analize metode. Uradna farmakopejska metoda za določitev substituiranosti je plinska kromatografija, mi pa smo rezultate analizirali z NMR (23). Kljub temu pa vrednosti niso sorazmerno večje temveč je razlika med specifikacijami in rezultati v rangi od 1,3 do 2,1 % (Slika 14).



Slika 14: Prikazan je delež HP za vsak vzorec in sicer izmerjene vrednosti (zgornja krivulja HP [%]) in vrednost, navedena v specifikacijah polimerov (HP [%] v CoA).

Stopnja substitucije (DS) označuje povprečno število substituiranih mest na monomerno enoto in je definirana med 0 in 3, saj so na voljo največ 3 proste OH skupine za vezavo substituentov. Če primerjamo povprečno število substituiranih enot, si vzorci sledijo po sledečem vrstnem redu:

CC LS < CC ST < CC HPS < CC LPS < SE LPS < CC HV < SE LV < SE LS < CC HV < CC LV < CC HS < SE HPS < SE ST < SE HS

Glede na literaturo je ena ključnih FCR in v veliki meri določuje hidrofilnost polimera, zato bi pričakovali najhitrejšo sproščanje pri največji DS in obratno. Glede na DS imajo vzorci substituirano vsako 3. ali 4. enoto in substituiranih povprečno polovico prostih hidroksi skupin. Najmanj substituiran in z najmanjšo vsebnostjo HP je CC LS, kar je pričakovano, saj je DS na specifikacijah zavedena na spodnji meji. Iz tega sklepamo, da je CC LS najbolj hidrofilen. Ker se pri DS upoštevata oba substituenta, je SE LS, ki naj bi imel tako kot CC LS substituiranost na spodnji meji, šele na sredini, kot je razvidno iz spodnjega zaporedja. Glede na DS in vsebnost MeO, ki je hidrofobnejša od HP, sklepamo na manjšo hidrofilnost SE LS.

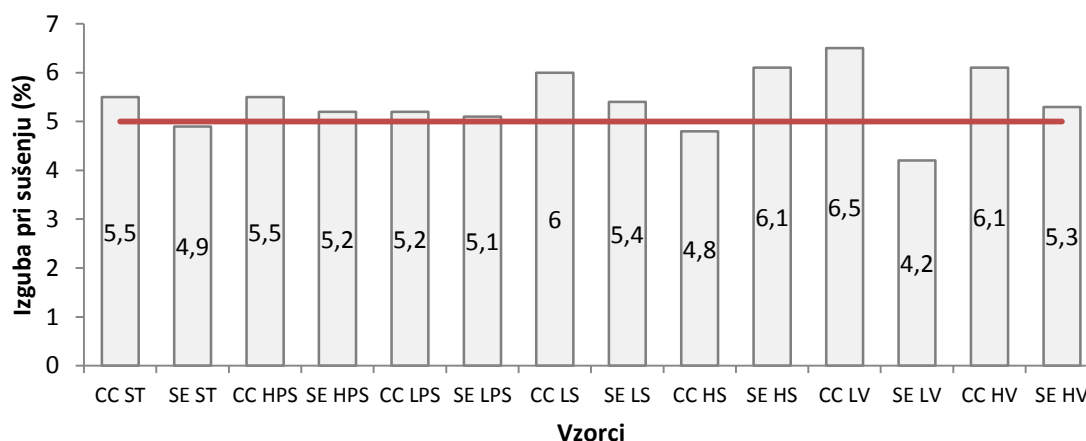
Vrednost molekularne substitucije (MS) predstavlja povprečno število obeh substituentov na enoto. Če primerjamo povprečen masni delež HP in MS, si vzorci sledijo po sledečem vrstnem redu:

CC LS < SE LS < CC LV < CC HPS < CC HV < CC ST < CC LPS < SE HV < SE ST < SE LV < SE LPS < SE HPS < CC HS < SE HS (Specifikacije: CC LS < SE LS < CC LV < CC ST < CC HPS < CC HV < CC LPS < SE LPS < SE HPS < SE ST < SE HV < SE LV < CC HS < SE HS)

Opazimo, da imajo vzorci Metolose v povprečju večji delež HP kot vzorci Metochel in da si vzorci po HP v specifikaciji sledijo v nekoliko drugačnem vrstnem redu kot po HP iz dobljenih rezultatov. V obeh primerih imata vzorca LS in HS pričakovano najmanjši oziroma največji deleže HP.

4.3. IZGUBA PRI SUŠENJU

HPMC je higroskopna snov, zato smo na vseh vzorcih izmerili izgubo pri sušenju. Ameriška in evropska farmakopeja dovoljujeta izgubo pri sušenju največ 5 %, nesušeni vzorci pa navadno vsebujejo okoli 6 % vlage (5). S tem namenom je v farmakopeji naveden postopek sušenja, ki ga lahko izvedemo na vzorcih pred njihovo uporabo.



Slika 15: Prikaz izgube pri sušenju za vsak vzorec.

Rezultati izgube vlage pri sušenju na sliki 15 kažejo, da je vsebnost vlage v 11 vzorcih od 14 presegla dovoljeno vrednost 5 % po farmakopeji, 3 vzorci pa presegajo 6 % vsebnost vlage. Največja razlika v vsebnosti vlage se je pokazala pri polimerih z manjšo viskoznostjo. Ker se v specifikacijah vzorcev Metolose izguba pri sušenju giblje med 1,1 in 1,4 % (za Metochel tega podatka nimamo), je glede na farmakopejske vrednosti potrebno sušenje polimerov pred uporabo. Problematičnost prevelike vsebnosti proste vode bi se lahko pokazala kot slabost pri

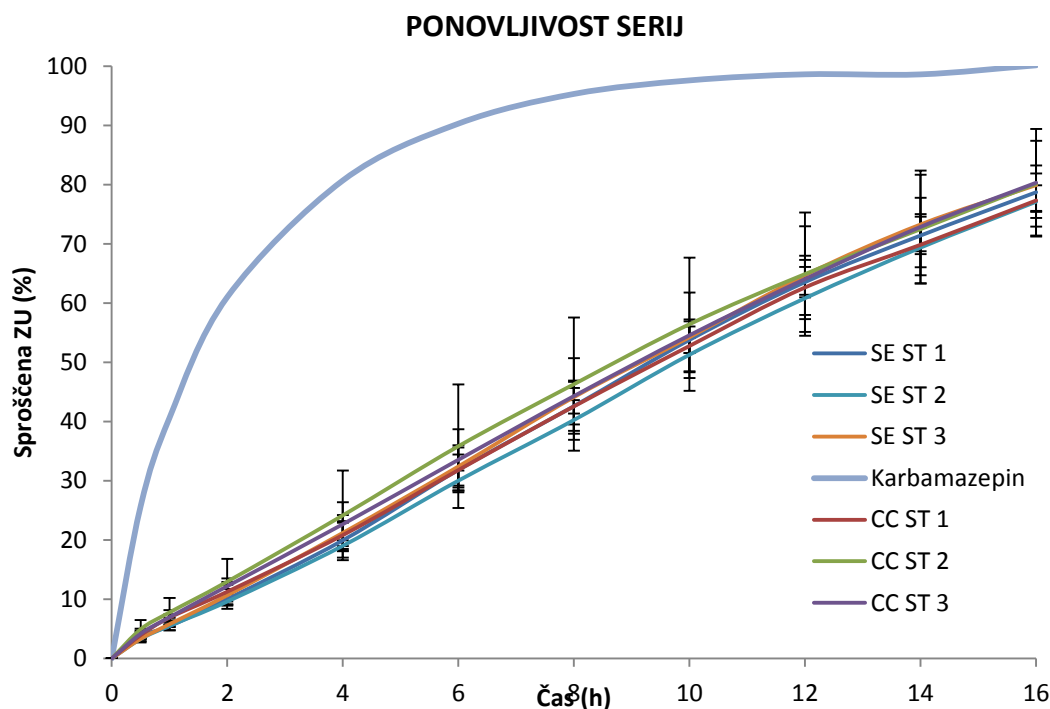
stabilnosti tablete tekom roka trajanja (5). Ocenjujemo, da bi k manjšemu privzemanju zračne vlage pripomoglo shranjevanje v desikatorju tekom izvedbe preizkusa.

4.4. SPROŠČANJE V ODVISNOSTI OD MATERIALNIH LASTNOSTI VZORCEV

Z metodo sproščanja smo med seboj primerjali tablete z vgrajenimi vzorčnimi polimeri. Zanimalo nas je, kako se razlikuje profil sproščanja vzorcev enakega tipa HPMC različnih proizvajalcev in odvisnost med lastnostmi in sproščanjem ZU. Profili sproščanja so prikazani na slikah 18 - 26. Podobnost profilov sproščanja smo ovrednotili z dejavnikom podobnosti f_2 . Za lažjo primerjavo profilov smo s statistično analizo ANOVA in t-testom primerjali delež sproščene ZU ob časovnih intervalih 8 in 16 h. S testoma smo preverili signifikantnost razlik med deleži sproščene ZU pri stopnji značilnosti $p = 0,05$. Vrednosti so si pomembno različne pri $p < 0,05$ in pri parametrih $F_{krit} < F$, medtem ko pri $p \geq 0,05$ tega ne moremo trditi. Primerjavo profilov sproščanja in njihovo vrednotenje smo izvedli na enakih tipih HPMC obeh proizvajalcev in na vzorcih, kjer je določena FCR na spodnjih in na zgornji specifikacijski meji.

4.4.1. *PONOVLJIVOST PROCESA*

Preverili smo primerljivost postopka izdelave tablet in metode testiranja. S tem namenom smo pripravili tri zmesi za tabletiranje s polimerom CC ST in tri zmesi s polimerom SE ST. Iz zmesi smo nato stisnili tablete in vrednotili ponovljivost procesa izdelave tablet in metode sproščanja. Profili sproščanja učinkovine iz tablet z vzorci standarda so prikazani na sliki 16, fizikalne lastnosti tablet pa v preglednici VIII. Za preverjanje vpliva pomožnih snovi smo pri enakih pogojih stisnili tableto iz ZU in opravili preskus sproščanja. Iz grafa profila sproščanja ZU je razvidno, da se je v 6 h sprostilo 90 % ZU in po 14 urah blizu 100 %. S tem smo potrdili, da so uporabljene pomožne snovi odgovorne za spremenjen profil sproščanja ZU v tableti in, da se raztopi celoten odmerek ZU.



Slika 16: Primerjava sproščanja ZU iz 6 serij tablet s CC ST in SE ST. Zgornja krivulja predstavlja profil sproščanja oziroma raztapljanja ZU (karbamazepin) iz tablet, izdelanih brez pomožnih snovi (le z ZU).

Preglednica VIII: Prikaz povprečne trdnosti, mase, poroznosti in podobnosti profilov sproščanja treh serij tablet s polimeroma SE ST in CC ST. Z oznakami 1, 2 in 3 so označene paralelne serije tablet z vzorčnim polimerom. Za ovrednotenje podobnosti serij z istim polimerom oziroma med serijami obeh proizvajalcev smo izračunali f2. F2 (1) primerja profile sproščanja serij standarda znotraj proizvajalca, f2 (2) pa primerja profila sproščanja obeh proizvajalcev.

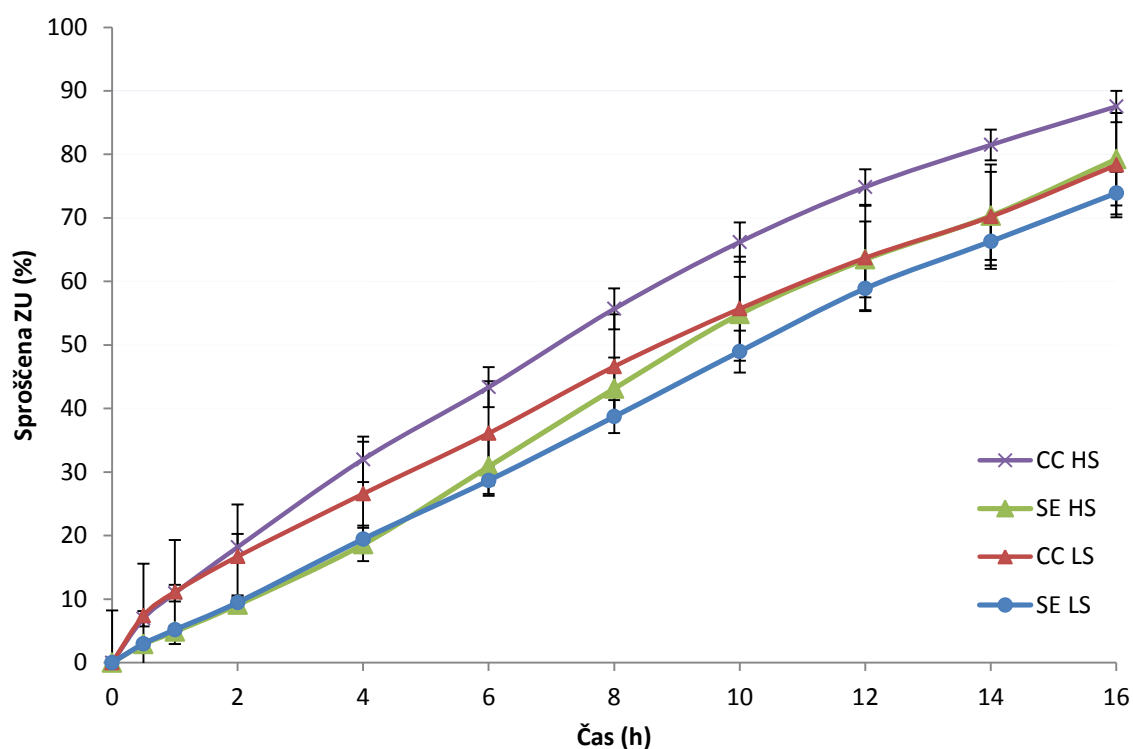
PRIMERJAVA

SERIJ	Standard, Shin-Etsu			Standard, Dow		
Št. serije ST	1	2	3	1	2	3
Povprečje sproščene ZU (%) pri 8 h	43 ± 3	40 ± 3	44 ± 3	43 ± 4	46 ± 11	44 ± 6
Povprečje sproščene ZU pri 16 h	79 ± 3	77 ± 3	80 ± 5	77 ± 6	80 ± 7	80 ± 9
f2 (1)	82 (1+2)	74 (2+3)	90 (1+3)	73 (1+2)	81 (2+3)	87 (1+3)
f2 (2)	92					
Masa ± SD (mg)	402*	405 ± 0	405 ± 0	406 ± 1	403 ± 2	404 ± 2
Anova (p < 0,05)	0,25					
Trdnost (N)	38,4	49,6	43,5	53,1	53,0	54,2
Anova (p < 0,05)	0,01					
Poroznost ± SD	0,21 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,22 ± 0,05	0,18 ± 0,07	0,21 ± 0,06	0,21 ± 0,07
Anova (p < 0,05)	0,02					

*vrednost 1 tablete

Opazimo lahko, da je standardna deviacija pri vseh parametrih pri vzorcih Metochel večja, kar nakazuje na to, da imajo vzorci HPMC podjetja Dow večjo variabilnost. Signifikantno različne lastnosti tablet so se izkazale pri poroznosti in trdnosti. V povprečju so pri relativno enakih pogojih trše tablete pri CC ST, medtem ko je poroznost primerljiva. Analiza substituiranosti (preglednica VII) je pokazala, da ima CC ST nekoliko manjšo vsebnost obeh substituentov, kar pripomore k nekoliko večji količini sproščene ZU v primerjavi s SE ST. Kljub temu so vsi profili sproščanja med seboj statistično povsem primerljivi tako serije med seboj kot tudi med proizvajalcema.

4.4.2. VPLIV SUBSTITUIRANOSTI NA SPROŠČANJE



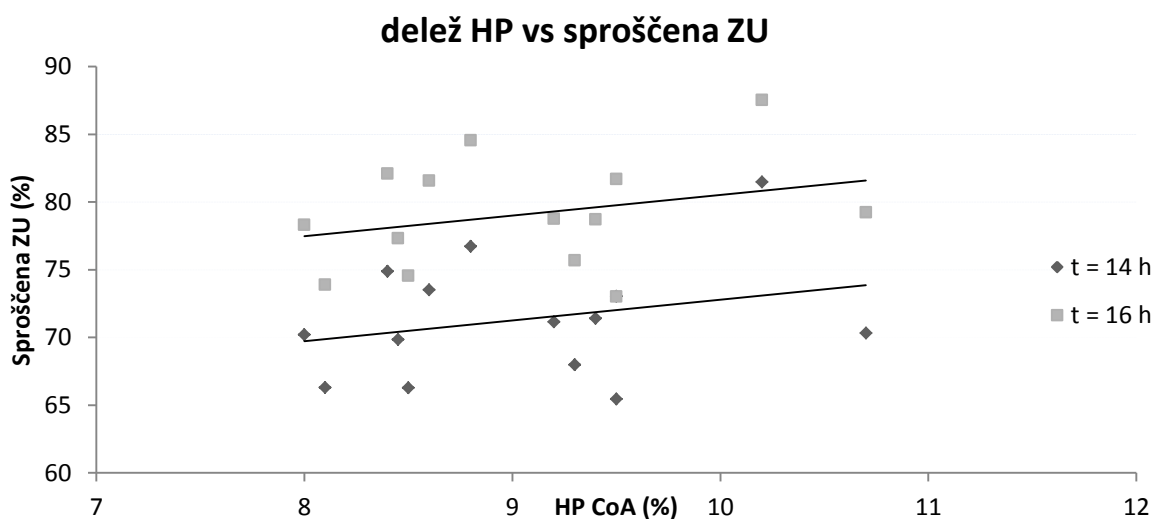
Slika 17: Profil sproščanja ZU z vzorci z nižjo oziroma višjo stopnjo substitucije.

Preglednica IX: Primerjava povprečnega sproščanja ZU pri vzorcih z zmanjšano oziroma povečano stopnjo substitucije.

SUBSTITUIRANOST	SE LS	CC LS	SE HS	CC HS
Specifikacijska vrednost (HP%)	8,1	8,0	10,7	10,2
Povprečje sproščene ZU (%) pri 8 h	38,71 ± 2,59	46,61 ± 4,74	43,13 ± 4,91	55,68 ± 3,25
Povprečje sproščene ZU pri 16 h	73,90 ± 3,34	78,32 ± 5,19	79,24 ± 7,28	87,54 ± 2,47
F2	60		47	
T-test (p<0,05)	0,64		0,49	

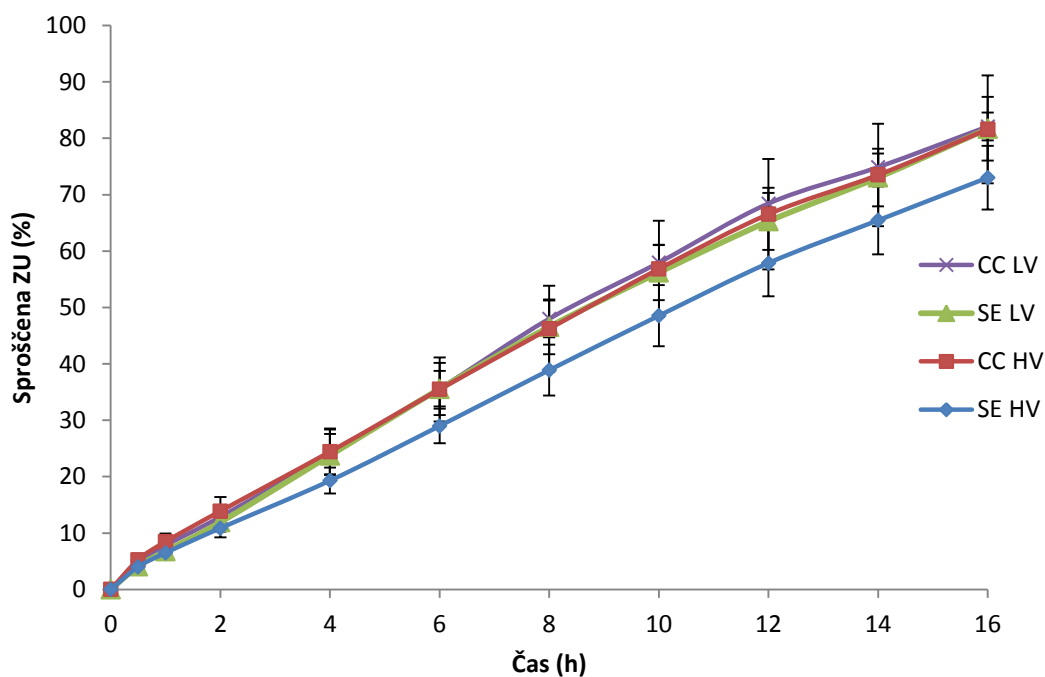
Razlika v stopnji substitucije je glede na literaturo eden ključnih vplivov na sproščanje. Profila sproščanja v večji meri substituiranih vzorcev (Slika 17) sta se izkazala za statistično različna (Preglednica IX), medtem ko LS z vrednostjo f_2 60 še smatramo kot podobna profila. Če primerjamo profila obeh vzorcev posameznega dobavitelja, kažeta bistveno manj sproščane ZU pri LS in več pri HS. Glede na ocenjeno hidrofilnost iz vrednosti DS bi pričakovali manj substituirana in posledično bolj hidrofilna vzorca LS z več sproščene ZU v primerjavi s HS vzorcema. Glede na specifikacijske vrednosti bi si sledil vrstni red sproščanja $CC\ LS > SE\ LS > CC\ HS > SE\ HS$. Iz profila sproščanja pa je razvidno zaporedje $CC\ HS > SE\ HS > CC\ LS > SE\ LS$. V prvi polovici sproščanja se pri obeh vzorcih Metochel (CC LS in CC HS) v prvih 30 minutah sprosti še enkrat več ZU kot pri obeh vzorcih Metolose, kar nakazuje, da se je enotna plast gela po omočenju polimera z medijem hitreje oblikovala pri vzorcih Metolose in tako na začetku zadržala več ZU. Posledično je količina sproščene ZU pri vzorcih Metochel v povprečju izrazito večja pri kot pri Metolose istega tipa polimera. Na lastnosti gela HPMC poleg interakcij polimer – medij vplivajo tudi interakcije polimer – polimer in polimer – ZU. Slednja prispeva bodisi k hidrofobnim ali hidrofilnim interakcijam med molekulami. Velikost skupin HP do določene mere predstavlja sterično oviro, zato se razdalje med verigami polimera povečujejo z vsebnostjo HP, kar zmanjšuje moč gela in omejuje možnosti za hidrofobne interakcije med substituenti. Po drugi strani pa bi se lahko tvoril močnejši gel v predelih polimera z večjim številom substituentov, ki bi bili dovolj blizu za tvorjenje hidrofobnih interakcij (31). Glede na dobljene rezultate in dejstvo, da primarno sproščanje težko topne ZU poteka z erozijo, bi več sproščene ZU pri vzorcih HS lahko pojasnili hitrejšo erozijo (šibkejšega) ogrodja. Na sliki 18 je prikazana linearna korelacija med deležem HP skupin, ki je edini parameter substituiranosti prisoten v obeh specifikacijah, in sproščeno ZU pri 14. in 16. uri. Več parametrov substituiranosti je prikazano na sliki 18. V

kakšnem številu in razmerju se bodo tvorile hidrofbne oziroma hidrofilne interakcije med ZU, polimerom in medijem je poleg omenjenih dejavnikov deloma odvisno od porazdelitve substituentov na polimeru (15). Za boljšo razlago rezultatov sproščanja bi vsekakor potrebovali podatke o heterogenosti in razporeditvi substituentov vzdolž polimerne verige, saj le delež HP iz specifikacij ne zadostuje za napoved sproščanja.



Slika 18: Linearna korelacija med deležem HP in sproščeno ZU pri 14. in 16. uri. Povprečna vrednost R^2 je 0,3.

4.4.3. VPLIV VISKOZNOSTI NA SPROŠČANJE SLABO TOPNE UČINKOVINE



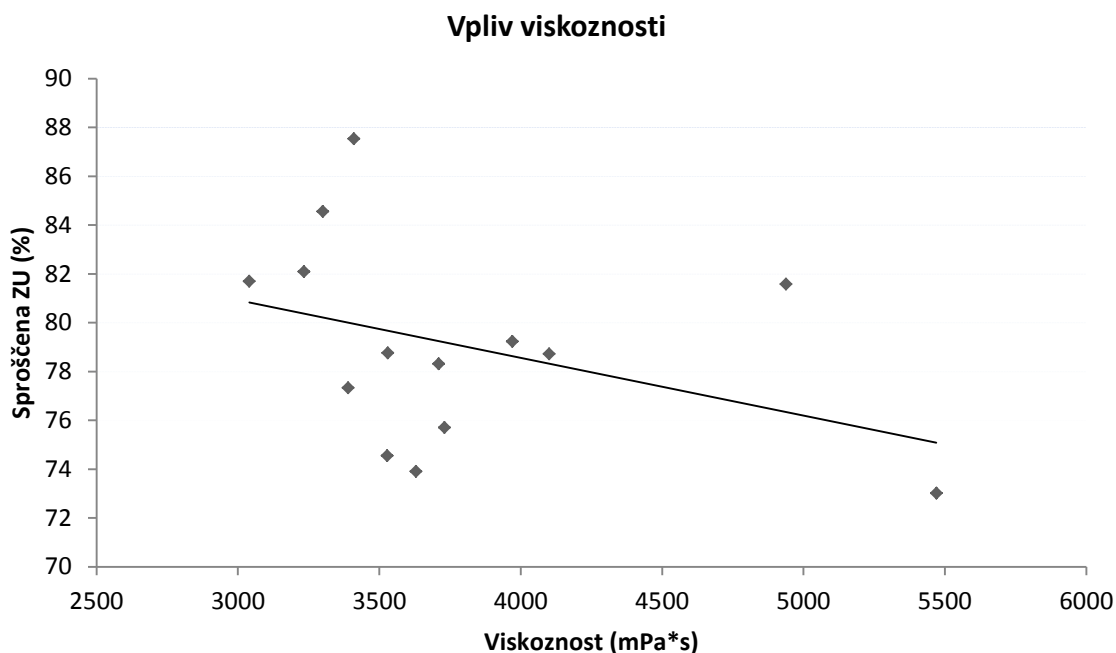
Slika 19: Profil sproščanja ZU z vzorci z večjo ali manjšo viskoznostjo.

V splošnem velja, da se pri uporabi HPMC z večjo viskoznostjo ZU sprošča počasneje. Glede na specifikacije imajo vzorci podjetja Shin-Etsu (3000 – 5600 mPas) postavljene specifikacijske meje nekoliko višje od podjetja Dow (2663 – 4970 mPas) in je med viskoznostjo vzorcev SE LV in SE HV tudi večja razlika. Pričakovali bi, da se bo najpočasneje sproščala ZU pri SE HV in najhitreje pri SE LV.

Preglednica X: Primerjava povprečnega sproščanja ZU pri vzorcih z večjo ali manjšo viskoznostjo.

VIZKOZNOST	SE LV	CC LV	SE HV	CC HV
Specifikacijska vrednost (mPa*s)	3040	3233	5470	4938
Povprečje sproščene ZU (%) pri 8 h	46,57 ± 4,84	47,99 ± 7,33	38,90 ± 4,52	46,22 ± 7,62
Povprečje sproščene ZU (%) pri 16 h	81,69 ± 5,66	82,09 ± 7,11	73,02 ± 5,65	81,58 ± 9,56
f2	86		56	
t-test (p<0,05)	0,94		0,66	

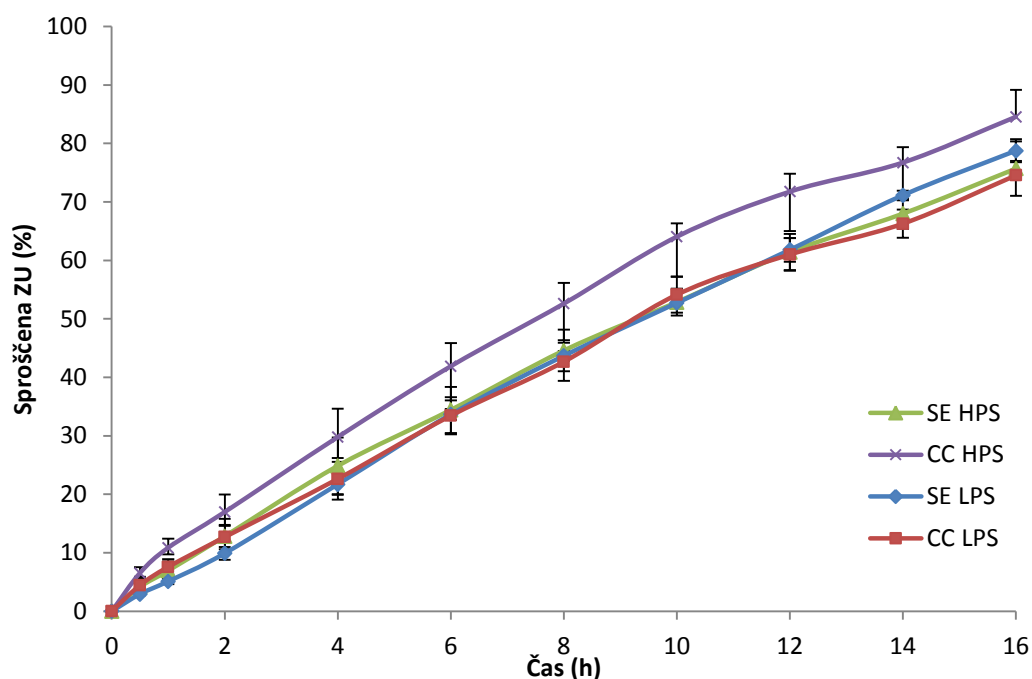
Pri vzorcih podjetja Shin-Etsu se je po pričakovanjih najpočasneje sproščala ZU pri vzorcu SE HV in najhitreje pri SE LV (Slika 19). Po naklonu krivulje SE HV vidimo, da je bilo sproščanje konstantno manjše in enakomerno od SE LV, kar pomeni, da je gelirana plast konstantno zadrževala ZU v večji meri. Pri vzorcih podjetja Dow razlika v viskoznosti, ki je za malenkost manjša kot pri vzorcih podjetja Shin-Etsu, ni imela večjega vpliva na sproščanje. Kljub različnim specifikacijskim vrednostim CC LV oziroma SE LV in CC HV (Preglednica XI) je njihov profil sproščanja zelo podoben, zato le na podlagi viskoznosti ne moremo predvidevati sproščanja. Glede na dejavnik podobnosti f2 sta oba tipa vzorcev primerljiva, vendar pri vzorcih z viskoznostjo na zgornji specifikacijski meji je lahko primerljivost profilov sproščanja v manj robustnem sistemu vprašljiva. Glede na skladnost krivulj prvo uro sproščanja pri vseh štirih vzorcih lahko sklepamo, da se je plast gela pri vseh tvorila usklajeno. Glede na specifikacijske vrednosti smo oblikovali tudi linearni trend med navidezno viskoznostjo in sproščanjem (Slika 20). Tako delež sproščene ZU kot tudi korelacijski koeficient ($R^2 = 0,38$) kažejo na bolj ali manj neodvisno sproščanje ZU od viskoznosti vzorcev.



Slika 20: Sproščanje ZU pri 16. uri v odvisnosti od navidezne viskoznosti vzorcev v specifikacijah proizvajalca. R^2 vzorcev je 0,38.

4.4.4. VPLIV VELIKOSTI DELCEV

Velikost delcev v skladu z literaturo vpliva predvsem na hitrost oblikovanja gelske plasti in njeno koherentnost. Ker je koncentracija polimera (25 %) v formulaciji dovolj velika za oblikovanje ustreznega gela, ne pričakujemo večji vpliv velikosti delcev na sproščanje. Izkazoval bi se lahko pri hitrosti oblikovanja in koherentnost oziroma enotnost gelske plasti. Parameter velikosti delcev v specifikacijah podjetja Shin-Etsu in Dow je podan v različnih merskih enotah, kar onemogoči natančno primerjavo lastnosti. Prvi navaja povprečno velikost delcev medtem ko drugi delež delcev, ki so manjši od 230 US-sita (z velikostjo odprtin 63 μm).



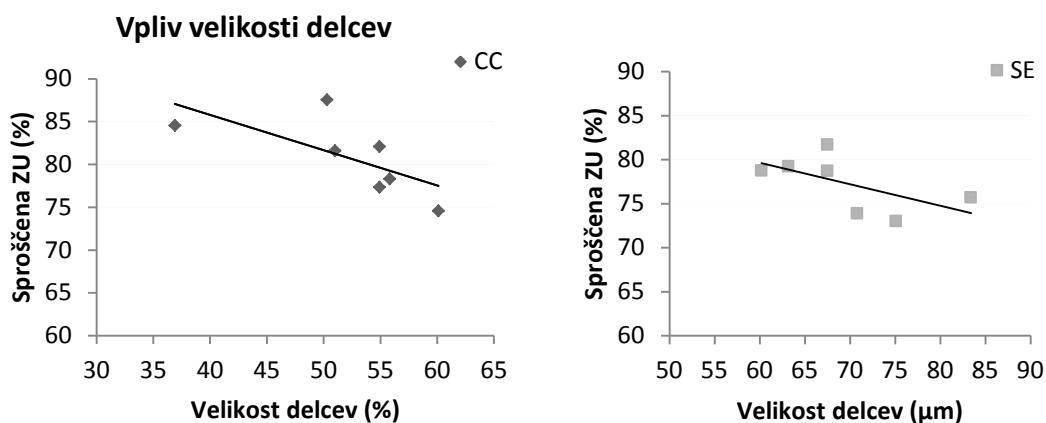
Slika 21: Profil sproščanja ZU z vzorci z manjšimi in večjimi delci polimera.

Preglednica XI: Primerjava povprečnega sproščanja ZU pri vzorcih z manjšimi in večjimi delci polimera.

VELIKOST DELCEV	SE LPS	CC LPS	SE HPS	CC HPS
Specifikacijska vrednost	60,2 μm	60,1 % < od 63 μm	83,4 μm	36,9 % < od 63 μm
Povprečje sproščene ZU (%) pri 8 h	43,68 $\pm$ 0,80	42,67 $\pm$ 6,25	44,59 $\pm$ 3,56	52,61 $\pm$ 4,49
Povprečje sproščene ZU pri 16 h	78,76 $\pm$ 1,95	74,55 $\pm$ 5,56	75,70 $\pm$ 4,63	84,56 $\pm$ 5,41
f2	78		53	
t-test (p < 0,05)	0,99		0,61	

Pri preučevanju velikosti delcev na hitrost sproščanja ZU smo ugotovili, da parameter pri polimeru Metolose nima bistvenega vpliva in je delež sproščene ZU podoben polimeru Metolose z manjšimi delci (Slika 21). Polimer Metochel z večjimi delci izkazuje konstantno več sproščene ZU od ostalih 3 vzorcev, kar pomeni, da se je gelska plast tvorila počasneje oziroma je manj koherentna. Vzorci z največ sproščene ZU so tudi v skladu z določitvijo hidrofilnosti z analizo NMR (Preglednica VII). Precej enotno sproščanje SE bi prav tako lahko pojasnili z rezultati analize NMR, saj imata vzorca LPS in HPS polimera Metolose zelo podobne vrednosti substituiranosti. V tem primeru velikost delcev nima bistvenega vpliva. Vseeno pa vzorec LPS polimera Metochel odstopa od postavljene hipoteze. Sicer manjša količina sproščene ZU v primerjavi z vzorcem CC HPS je v skladu z literaturo o velikosti

delcev, vendar bi glede na podobne vrednosti analize NMR pričakovali enotnejši profil sproščanja. Statistično sta si profila sproščanja vzorcev posameznega tipa polimera podobna in polimera zamenljiva, vendar se tip polimera z večjimi delci z vrednostjo 53 nahaja na spodnji meji primerljivosti (Preglednica XII). Zato v manj robustnih sistemih lahko tvegamo odstop. Na podlagi standardne deviacije med vzorci vidimo, da vzorca CC izkazujeta večjo variabilnost med paralelami, kar bi lahko pomenilo manj homogene lastnosti. Linearna regresija (Slika 22) nakazuje boljše sproščanje z večanjem delcev (vzorci CC), kar je v skladu z ugotovitvami iz literature. Pri vzorcih SE linearna regresija kaže ravno obratno odvisnost sproščanja v povezavi z velikostjo delcev, zato menimo, da parameter velikosti delcev v rangi specifikacij vzorcev SE ne vpliva znatno na sproščanje. Glede na to, da razlike oziroma enotnost sproščanja niso odraz parametra velikosti delcev, sklepamo na bistveno večji vpliv drugih lastnosti polimera. Ocena sproščanja le na podlagi parametra velikosti delcev tako ni smiselna.



Slika 22: Odvisnost sproščene ZU od velikosti delcev vzorcev, podanih v specifikacijah proizvajalca. Levi diagram predstavlja delež delcev, ki je manjši od 63 μm, desni diagram pa povprečno velikost delcev v μm. R^2 vzorcev CC je 0,68 in SE vzorcev 0,60.

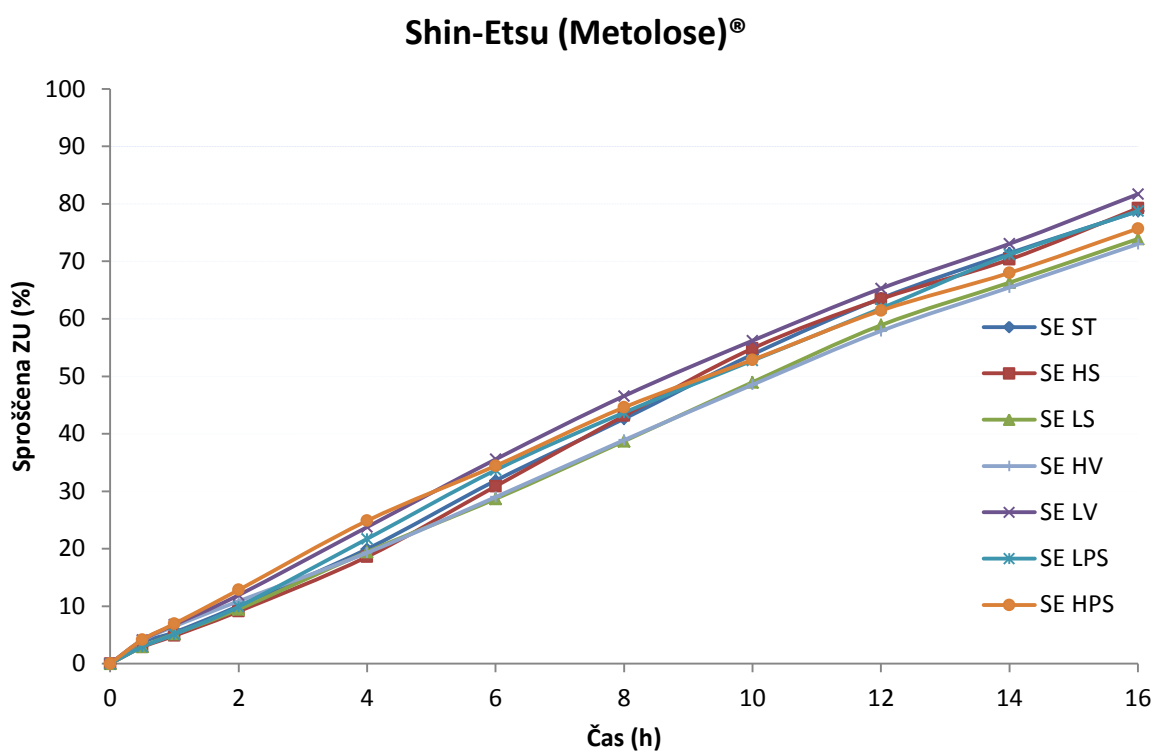
4.4.5. PRIMERJAVA SPROŠČANJA

Primerjava profilov sproščanja vzorcev vsakega posameznega proizvajalca je pokazala precejšno enotnost. Opazimo, da imajo vzorci Metolose® manjše razlike v deležu sproščene ZU (Preglednica XIII) in je sproščanje enotnejše (Slika 23) kot pri Metochel® (Slika 24). Statistično noben ne izkazuje signifikantnih razlik (Razpredelnica XIII). Vzorca ST imata lastnosti na sredini specifikacij, zato bi pričakovali te vzorce v sredinskem delu profila sproščanja okoli katerih bi se razvrstili ostali tipi polimerov. Delež sproščene ZU pri

standardu polimera Metolose je glede na ostale tipe pričakovano nekje v sredini, medtem ko je delež sproščene ZU standarda polimera Metochel med najmanjšimi vrednostmi.

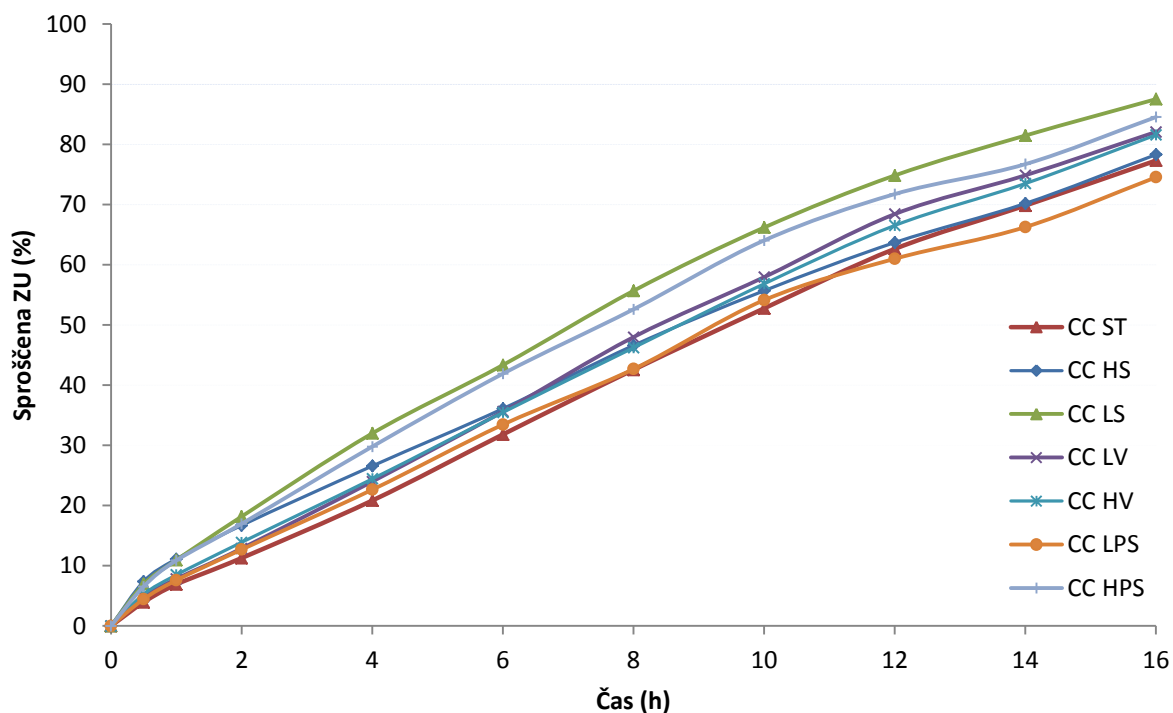
Preglednica XII: Rezultati analize variance med vzorci proizvajalca Shin-Etsu® in Dow®. Za signifikantno razlikovanje med vzorci mora biti vrednost p manjša od 0,05 in F večji od kritične F (F_{krit}).

ANOVA	$p < 0,05$	$F_{krit} > F$
SHIN-ETSU®	0,999733	2,23 > 0,04
DOW®	0,990149	2,23 > 0,14



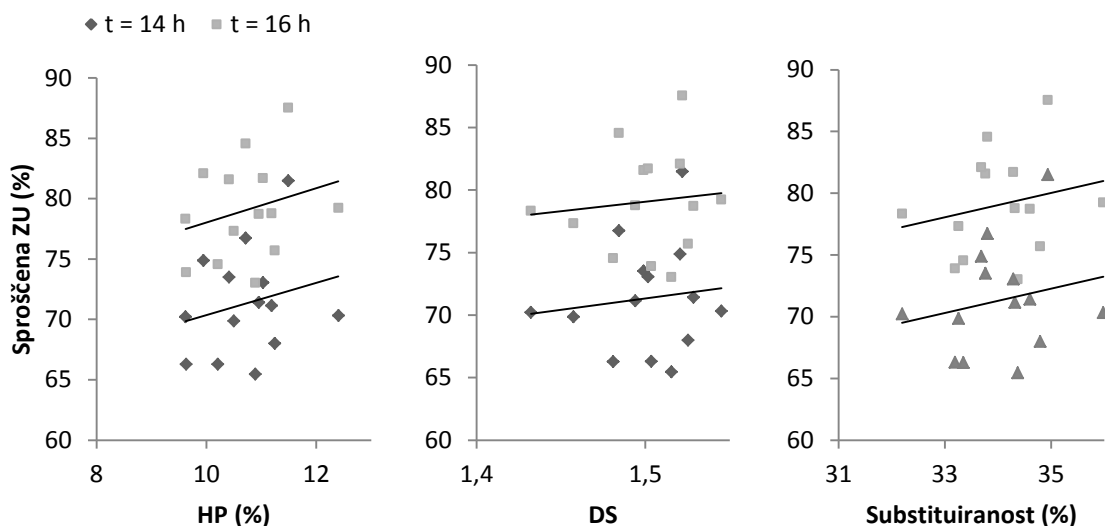
Slika 23: Profil sproščanja vzorcev podjetja Shin-Etsu®. Vzorci si po deležu sproščene ZU sledijo: SE HV < SE LS < SE HPS < SE ST ~ SE LPS < SE HS < SE LV.

Metochel (Dow)[®]



Slika 24: Profil sproščanja vzorcev podjetja Dow[®]. Vzorci si po deležu sproščene ZU sledijo: CC LPS < CC ST < CC LS < CC HV < CC LV < CC HPS < CC HS.

4.4.6. ODVISNOST SPROŠČANJA OD IZMERJENIH PARAMETROV



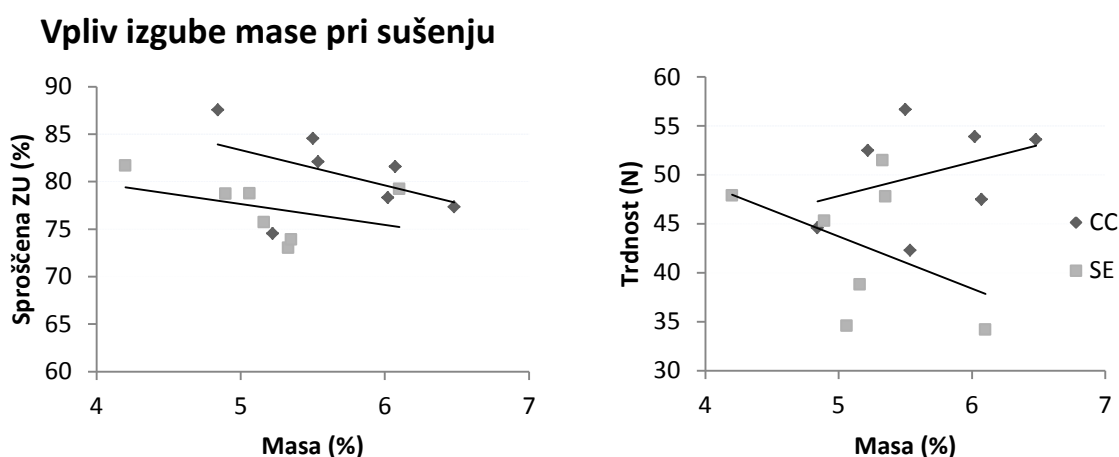
Slika 25: Vpliv deleža HP, DS in substituiranosti na sproščanje ZU iz izdelanih ogrobnih tablet vseh testiranih polimerov. Trikotniki prikazujejo delež sproščene ZU pri 16. uri in kvadrati pri 14. uri v odvisnosti od molekularne substitucije vzorcev (prvi graf), stopnje substitucije (drugi graf) in celotne substituiranosti (tretji graf). Glede na sproščeno ZU smo določili linearni trend.

Kako delež HP, DS in celotna substituiranost vzorcev vpliva na sproščanje ZU, smo prikazali na sliki 25. Pri vseh treh grafih vidimo, da z večanjem deležev substituentov se količina sproščene ZU ob posameznih časovnih točkah povečuje. Pri tem je vpliv deleža HP nekoliko večji vpliva deleža HP in MeO skupaj, saj je naklon premice večji. Pričakovano se količina sproščene ZU zmanjšuje tudi s povečevanjem DS, vendar v manjši meri. Kako dobro linearni modeli ponazarjajo odvisnost med spremenljivkami na sliki 25, smo preverili s koeficienti determinacije v preglednici VIII. Nizke vrednosti koeficienta ($R^2 \ll 1$) pri vzorcih Metolose® kažejo na zelo slabo medsebojno odvisnost substituiranosti in sproščanja slabo topne ZU.

Preglednica XIII: Izračunan koeficient determinacije posamezno za Metolose (SE) in Metochel (CC) ter oba skupaj in sicer za 14. in 16. uro sproščanja.

R^2	HP (%)			DS			Substituiranost		
	SE	CC	SE+CC	SE	CC	SE+CC	SE	CC	SE+CC
14 h	0,43	0,70	0,23	0,04	0,66	0,12	0,33	0,77	0,21
16 h	0,51	0,67	0,26	0,02	0,64	0,11	0,41	0,74	0,22

V naši raziskavi tudi nismo ugotovili medsebojne povezave med izgubo pri sušenju in trdnosti tablet, prav tako je z vrednostjo R^2 0,40 za SE in 0,47 za CC slaba korelacija tudi s sproščanjem ZU (Slika 26).



Slika 26: Linearni trend sproščene ZU (levo) pri 16. uri in trdnosti tablet (desno) v odvisnosti od izgubljene mase vzorca pri segrevanju. R^2 za SE: 0,40 in CC: 0,47 (sproščanje ZU), SE: 0,44 in CC: 0,36 (trdnost).

Vsebnost vlage nad 6 % lahko zmanjša stik med delci in na ta način povzroči manjšo trdnost tablet (5). V naši raziskavi nismo ugotovili medsebojne povezave med izgubo mase vzorcev oziroma vsebnosti vlage in trdnosti tablet, prav tako je slaba korelacija tudi s sproščanjem ZU (Slika 26). Trend trdnosti tablet v odvisnosti od izgube mase polimera je celo obraten med proizvajalci, saj pri večji vsebnosti vlage v vzorcu (oziroma razliki mase snovi med sušenjem) rezultati nakazujejo na večjo trdnost tablet pri Metochel (CC) in manjšo trdnost tablet pri Metolose (SE). Ta razlika je lahko odraz različnih lastnosti vzorcev. V študiji s HPMC K4M (Metochel) poročajo povečanje trdnosti tablet z vsebnostjo vlage in ugotavljajo, da je to deloma zaradi povečanja površine oziroma števila stikov med delci. Ta hipoteza pa ni prenosljiva na vse primere. Adsorbirana voda na polimeru lahko ustvari več plasti med delci, ki prepreči intramolekularne privlačne sile in posledično je trdnost manjša (32). Zato se vpliv adsorbirane vode na trdnost tablet razlikuje od primera do primera.

Sproščanje ZU iz posameznih tipov polimerov v večini primerov ne pokaže linearne korelacije z vrednostmi v specifikacijah proizvajalca. V skladu s teorijo in glede na standard polimerov je potekalo sproščanje vzorcev s spremenjeno viskoznostjo in velikostjo delcev (Metochel). Ti vzorci tudi izkazujejo veliko podobnost profilov sproščanja pri primerjavi tipov polimera Shin-Etsu in Dow. Ravno obratno od teoretičnega pričakovanja so se izkazali tipi polimerov z različno substitucijo in velikostjo delcev pri polimeru Metolose, pri tem so dosegli tudi manjšo podobnost profilov med proizvajalci kot ostali tipi. Pri slednjem sprememba velikosti delcev skoraj ni vplivala na sproščanje, saj se zdi, da je sproščanje potekalo neodvisno od velikosti delcev, kar pa ne velja za polimer Metochel. Pri vzorcih z višjo in nižjo substitucijo bi pričakovali, da bodo bolj hidrofilni vzorci v večji meri sprejemali medij in posledično bo prišlo do hitrejšega sproščanja ZU. Izkazalo se je, da je sproščanje hitrejše oziroma erozija ogrodja poteka v večji meri pri manj hidrofilnih oziroma bolj substituiranih polimerih in poteka sproščanje težko topne ZU hitreje. V primeru bolj hidrofilnih vzorcev se je tvorilo več vodikovih vezi med polimerom in vodo in tvorila se je kompaktnejša gelska plast, ki je odpornejša na erozijo. Ker je ZU zelo slabo topna in prispeva k hidrofobnim interakcijam v tableti, je lahko zato gelska plast manj kompaktna, erozija zato večja in posledično sproščanje slabo topne ZU hitrejše (7,15).

Pri primerjavi tipov polimerov dveh različnih proizvajalcev so se pokazale določene statistične razlike v sproščanju ZU pri vseh tipih, kljub temu da vsi ustrezajo farmakopejskem substitucijskem razredu 2208. Pri tipu polimera z večjo stopnjo substitucije je statistična

razlika glede na industrijske smernice celo nesprejemljiva. To nakazuje, da kljub temu da so omenjene lastnosti ključne za sproščanje, ne moremo zagotovo predvideti oziroma napovedati sproščanja ZU. Za natančnejšo napoved sproščanja ZU je zato potrebno preučiti, kako se bo določen parameter v posameznem primeru izražal. V primeru substitucije bi lahko na primer z encimsko hidrolizo (13) preučili tudi porazdelitev substituentov vzdolž polimerne verige in z dobljenimi podatki omogočili vpogled v lastnosti gela. Le z določitvijo deležev substituentov oziroma HP, kot je parameter v specifikaciji Metochela, namreč ni bilo mogoče napovedati sproščanja.

5. SKLEP

Sproščanje težko topne ZU iz hidrofilnega ogrodja polimera HPMC se je izkazalo za kompleksen proces. V nalogi smo poskušali povezati sproščanje težko topne ZU karbamazepin z lastnostmi vzorcev HPMC, ki se med seboj relativno malo razlikujejo v lastnostih velikost delcev, substituiranost in viskoznost 2-% vodne raztopine, ki so navedeni v specifikaciji proizvajalca. Obenem smo primerjali lastnosti vzorcev istega tipa različnih proizvajalcev. Ovrednotene lastnosti polimera na specifikacijah so v Ph.Eur priznane kot FCR, ki v največji meri vplivajo na sproščanje in vrednosti le-teh na trgu določujejo tipe polimerov HPMC. Pri primerjavi polimerov istih tipov dveh različnih proizvajalcev so se profili sproščanja šestih tipov izkazali za statistično primerljive, en tip polimerov pa primerljivosti ni dosegel. Menimo, da bi bilo za razumevanje vplivov lastnosti polimera na sproščanje potrebno podrobneje preučiti samo FCR in določiti vpliv specifičnih parametrov, ki prispevajo k izražanju le-teh v sproščanju. Nerazumevanje oziroma nepoznavanje materialnih lastnosti polimera in s tem neustrezna kontrola materiala namreč lahko privede do profila sproščanja ZU, ki odstopa od postavljene specifikacije, kar lahko privede do neustreznega profila sproščanja posamezne ZU in njenega kliničnega učinka.

6. LITERATURA

- (1) Aulton M E, Taylor K M G. Aulton's Pharmaceutics, The design and Manufacture of Medicines, 4th Edition. Churchill Livingstone Elsevier, London, 2013; 31: 550-579
- (2) Formularium Slovenicum, 3.0
- (3) Zaman M, Qureshi J. Ijaz H, Muhammad R et al. Oral controlled release drug delivery system and Characterization of oral tablets; A review. PJPR, 2016; 02: 67-76
- (4) Gašperlin M, Šmid-Korbar J. Uveljavljanje slovenske farmacevtso-terminološke terminologije. Farm Vestn. 2016; 67: 221-226.
- (5) Timmin P, Pygall S R, Melia C D. Hydrophilic Matrix Tablets for Oral Controlled Release. Design and Evaluation of Hydroxypropyl Methylcellulose Matrix Tablets for Oral Controlled Release: A Historical Perspective. Springer, New York, 2014: 17-85
- (6) Ferrero C, Massuelle D, Jeannerat D, Doelker E. Towards elucidation of the drug release mechanism from compressed hydrophilic matrices made of cellulose ethers. I. Pulse-field-gradient spin-echo NMR study of sodium salicylate diffusivity in swollen hydrogels with respect to polymer matrix physical structure. J Control Release. 2008; 128 (1):71-79.
- (7) Maderulo C, Zarzuelo A, Lanao J M: Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. J Control Release 2011; 154: 2-19.
- (8) Ameriška farmakopeja, The United States Pharmacopeia, USP 32.
- (9) Viridén A, Wittgren B, Andersson T, Abrahmsén-Alami S, Larsson A. Influence of Substitution Pattern on Solution Behavior of Hydroxypropyl Methylcellulose. Biomacromolecules 2009; 10: 522-529.
- (10) Devjak Novak S, Košir D, Vrečer F. S funkcionalnostjo povezane lastnosti hipromeloze kot tvorilca hidrofilnih ogrodnih tablet. Farm Vestn. 2016; 67: 273-280
- (11) Körner A, Piculell L, Iselau F, Wittgren B, Larsson. Influence of Different Polymer Types on the Overall Release Mechanism in Hydrophilic Matrix Tablets. Molecules 2009; 14 (8): 2699-2716

- (12) Viridén A, Larsson A, Wittgren B. The effect of substitution pattern of HPMC on polymer release from matrix tablets. *Int. J. Pharm.* 2010; 389: 147-156.
- (13) Viridén A, Wittgren B, Andersson T et al. The effect of chemical heterogeneity of HPMC on polymer release from matrix tablets. *Eur. J. Pharm. Scie.* 2009; 36: 392-400.
- (14) Viridén A, Wittgren B, Larsson A. Investigation of critical polymer properties for polymer release and swelling of HPMC matrix tablets. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2009; 36: 297-309.
- (15) Viridén A, Abrahmsén-Alami S, Wittgren B, Larsson A. Release of theophylline and carbamazepine from matrix tablets – Consequences of HPMC chemical heterogeneity. *Eur J Pharm Biopharm.* 2011; 10: 522-529.
- (16) Devjak Novak S, Šporar E, Baumgartner S et al. Characterization of physicochemical properties of HPMC type 2208 and their influence on the prolonged drug release from matrix tablets; *JPBA* 2012; 66: 136-143.
- (17) Sinko J S: *Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences: physical chemical and biopharmaceutical principles in the pharmaceutical sciences*, 6th Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2006: 498 -515
- (18) Devjak Novak S, Kuhelj V, Vrečer F, Baumgartner S. The influence of HPMC viscosity as FRC parameter on the release of low soluble drug from hydrophilic matrix tablets, *Pharm. Devel. Tech.* 2013; 18 (2): 343-347.
- (19) Lawrence X Y. Yu. *Pharmaceutical quality by design: product and process development, understanding, and control.* *Pharm. Res.* 2008; 25: 781-791
- (20) Lawrence X, Amidon G, Khan M A, idr. *Understanding Pharmaceutical Quality by Design.* *AAPS J.* 2014; 16:771-783
- (21) Hughes K. Incorporating Quality by Design principles to hydrophilic matrix formulation development, Colorcon Ltd. Presentation, http://ipec-europe.org/uploads/kevin_hughes_nice_fri_9am.pdf. Dostopano: 1.9.2018
- (22) Obreza A, Bevc B, Baumgartner S, idr. Pomožne snovi v farmaciji: od njihovega poimenovanja do vloge v zdravilu, spletni učbenik za študente farmacije, industrijske farmacije in kozmetologije, Ljubljana 2015; 103-103
- (23) *Using Dow Excipients for Controlled Release of Drugs in Hydrophilic Matrix Systems*, handbook. Dow Chemical Company 2006.
http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDOWCOM/dh_0379/0901b803803797ad.pdf. Dostopano: 15.8.2018.

- (24) Spletna aplikacija za informiranje o zdravilih Draagle; iskano zdravilo: Tegretol, 200 mg, tablete. <http://si.draagle.com/#!/drug/big/?sub=10>. Dostopano: 15.5.2018.
- (25) TOXNET® (Toxicology Data Network) zbrane podatkovne baze s toksikološkimi podatki; iskana učinkovina: carbamazepin. <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+298-46-4>. Dostopano: 15.5.2018.
- (26) Centralna baza zdravil; iskano zdravilo: Tegretol, 200 mg, tablete. <http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/E9D09131646E5B7BC12579C2003F5AFE?opendocument>. Dostopano: 15.5.2018.
- (27) Andersson T, Richardson S, Erickson M. Determination of the hydroxypropoxy content in hydroxypropyl cellulose by ¹H NMR. Pharmacopeial Forum. 2004; 30 (4): 1498-1500.
- (28) Tezuka Y, Imai K, Oshima M, Chiba T. Determination of Substituent Distribution in Cellulose Ethers by C-13-Nmr and H-1-Nmr Studies of Their Acetylated Derivatives - O-(2-Hydroxypropyl)Cellulose. Carbohydr Res 1990; 196: 1-10.
- (29) Spletna trgovina Quality Lab Accessories LLC; iskan artikel: Capsule sinkers. <http://www.labhut.com/products/capsule-sinkers-dissolution.html>. Dostopano: 15.5.2018.
- (30) Medicines Control Council. Registration of Medicines. Dissolution. http://www.sahpra.org.za/documents/61de452d2.06_Biostudies_Jun15_v6.pdf. Dostopano: 15.8.2018.
- (31) Zhou D, Law D, Reynolds J, Davis L. Understanding and managing the impact of HPMC variability on drug release from controlled release formulations, J Pharm Sci. 2014; 103: 1664-1672.
- (32) Nokhodchi A. Effect of moisture on compaction and compression. Pharm. Tech, 2005; 01: 46-66