

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

AMADEJA MILER

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI PROGRAM FARMACIJE

Ljubljana, 2013

Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za farmacijo*



AMADEJA MILER

**VPLIV RAZLIČNIH MEDIJEV NA TOPNOST PENTOKSIFILINA, DEBELINO
GELSKE PLASTI IN SPROŠČANJE IZ TABLET NA OSNOVI KSANTANA**

**THE INFLUENCE OF DIFFERENT MEDIA ON SOLUBILITY OF
PENTOXIFYLLINE, GEL-LAYER THICKNESS AND DISSOLUTION FROM
TABLETS BASED ON XANTHAN**

Ljubljana, 2013

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo na Katedri za farmacevtsko tehnologijo in na Inštitutu Jožef Štefan v Laboratoriju za slikanje z magnetno resonanco.

Zahvale

Zahvaljujem se mentorici izr. prof. dr. Saši Baumgartner, mag. farm., in somentorici dr. Mojci Urški Mikac za zaupanje pri dodelitvi diplomske naloge.

Mentorici izr. prof. dr. Saši Baumgartner, mag. farm., se še posebej zahvaljujem za pomoč, razumevanje, podporo in spodbujanje tekom diplomskega dela.

Iskrena hvala tudi somentorici dr. Mojci Urški Mikac za opravljeno eksperimentalno delo z MRI-napravami in za nasvete, popravke ter pomoč pri razlagi rezultatov.

Zahvaljujem se sodelavcem Katedre za farmacevtsko tehnologijo fakultete za farmacijo, še posebej tehničkim delavkam, Mojci in Tatjani, za pomoč, olajšano delo in prijetno vzdušje v laboratoriju. Hvala tudi komisiji, mentorici in somentorici za pregled diplomske naloge.

Srčna hvala staršem, sestri, bratu in tebi, Franci, ker ste verjeli vame, me brezpogojno podpirali, bili izjemno potrpežljivi in me tolažili ter spodbujali skozi celoten študij. Prijatelji, hvala za čar, ki ste ga dodali študentskemu življenju.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo samostojno izdelala pod mentorstvom izr. prof. dr. Saše Baumgartner, mag. farm., in somentorstvom dr. Mojce Urške Mikac.

Ljubljana, maj 2013

Amadeja Miler

Predsednik diplomske komisije: izr. prof. dr. Marko Anderluh

Član diplomske komisije: doc. dr. Tomaž Bratkovič

Mentorica: izr. prof. dr. Saša Baumgartner

Somentorica: dr. Mojca Urška Mikac

VSEBINA

POVZETEK	II
ABSTRACT	III
SEZNAM OKRAJŠAV	IV
1 UVOD	1
1.1 PROCES NABREKANJA HIDROFILNIH OGRODNIH TABLET	2
1.1.1 Sproščanje ZU iz ogrodnih tablet	3
1.2 KSANTAN	3
1.2.1 Konformacija	4
1.2.2 Uporabnost	5
1.3 PENTOKSIFILIN KOT MODELNA UČINKOVINA	5
1.4 TOPNOST	6
1.5 OSNOVE NMR - MRI	7
1.5.1 Relaksacijski procesi	11
1.5.2 Metoda merjenja T_2	12
1.5.3 Slikanje z MR	13
1.5.4 Merjenje T_2 z SPI metodo	15
2 NAMEN DELA	17
3 EKSPERIMENTALNO DELO	18
3.1 MATERIALI	18
3.2 APARATURE	18
3.3 POSTOPKI IN METODE	20
3.3.1 Priprava medijev	20
3.3.2 Postopek priprave nasičene raztopine pentoksifilina v različnih medijih	21
3.3.3 Postopek priprave homogene disperzije ksantana v različnih medijih za določanje vpliva polimera na topnost pentoksifilina	21
3.3.4 Izdelava tablet za slikanje z MR in vrednotenje hitrosti sproščanja	22
3.3.5 Potek slikanja tablet z MR	24
3.3.6 Preskus sproščanja za trdne farmacevtske oblike	26
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	29
4.1 TOPNOST PENTOKSIFILINA V RAZLIČNIH MEDIJIH	29
4.2 DEBELINA GELSKE PLASTI DOLOČENA S SLIKANJEM Z MR	32

4.3	PRESKUS SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IZ TABLET NA OSNOVI KSANTANA	40
5	SKLEPI	49
6	LITERATURA.....	50

POVZETEK

Tablete so najpogostejša, najenostavnejša in z ekonomskega vidika najbolj zaželjena farmacevtska oblika. Za dobro complianco s strani pacientov je potrebno, da jih jemljemo čim manjkrat dnevno. Danes se tako trudijo, da bi izdelali takšne farmacevtske oblike, ki bi to omogočale. Prav zato je izrednega pomena proučevanje naravnih polimerov, ki bi poleg že dobro znanih polysinteznih in sinteznih polimerov, omogočali izdelavo takšnih farmacevtskih oblik. Ksantan je eden izmed naravnih polimerov, ki zavzema pomembno mesto tudi v farmaciji.

V diplomskem delu smo ovrednotili vpliv različnih medijev na topnost modelne učinkovine pentoksifilina in s slikanjem z magnetno resonanco (MRI) določili debelino gelske plasti izdelanih tablet. Oba omenjena parametra namreč vplivata na sproščanje učinkovine iz ogrodnih tablet na osnovi ksantana. Določevali smo topnost pentoksifilina v različnih medijih, nato smo izdelali tablete na osnovi ksantana z vgrajeno učinkovino in s slikanjem z magnetno resonanco določili debelino gelske plasti. Izvedli smo tudi preskus sproščanja učinkovine iz teh tablet v različnih medijih.

Ugotovili smo, da je maksimalna topnost pentoksifilina primerljiva z literaturnimi vrednostmi, za medije, za katere podatkov o topnosti nismo imeli, pa so dobljeni rezultati v skladu s predvidevanji. Za določitev vpliva polimera na topnost učinkovine bo v bodoče potrebno prilagoditi metodo določevanja, saj smo imeli pri delu veliko težav. Točnega razloga za nekatera odstopanja v rezultatih topnosti učinkovine ne poznamo. Možno, da ima prisotnost ksantana dejansko določen vpliv na topnost pentoksifilina, druga možnost pa je, da je bila eksperimentalna metoda določanja v tem primeru neustrezna.

Med določeno debelino gelske plasti in rezultati sproščanja učinkovine iz tablet nismo ugotovili pričakovane korelacije, kar lahko pripišemo različnemu načinu izvajanja slikanja z magnetno resonanco, saj je pri MRI samo ena stran tablete izpostavljena mediju, medtem ko je pri preskusu sproščanja omočena cela tableta. Prav tako medija pri slikanju ne mešamo in je zato stopnja erozije manjša kot pri preskusu sproščanja. Vsekakor bo potrebno metodo prilagoditi, da bomo lahko določili povezavo med debelino gelske plasti na površini tablete in hitrostjo sproščanja učinkovine iz nje.

KLJUČNE BESEDE: *ksantan, topnost, podaljšano sproščanje, MRI, debelina gelske plasti*

ABSTRACT

Tablets are the most common, practical and economically most favorable used dosage form. To reach high patient compliance the frequency of daily dosing should be minimized. Therefore, the pharmaceutical industry is trying to develop new dosage forms enabling that. Studying of natural polymers has shown to be of a great importance, in addition to the already well –known semi-synthetic and synthetic polymers, to enable the manufacture of dosage forms with improved characteristics. One of these natural polymers that had shown to be quite important in pharmacy is xanthan gum.

The influence of different media on solubility of pentoxifylline was evaluated and the thickness of gel layer of tablets was studied using magnetic resonance imaging. Both parameters affect release of pentoxifylline from the xanthan matrix tablets. The solubility of active substance in different media was studied, then the tablets based on xanthan with incorporated pentoxifylline were designed and the thickness of gel layer was determined using magnetic resonance imaging. Subsequently the dissolution test from these tablets in different media was performed.

The results have shown that the maximal solubility of pentoxifylline is comparable to the values presented in the literature. In the media for which the solubility values of pentoxifylline are not known, the results meet our expectations. To determine the effect of the polymer on solubility of the model drug, some adjustments of the determination method are required. The exact reason for the observed variability of solubility results of pentoxifylline is unknown. It is possible that xanthan actually have a certain impact on the solubility of pentoxifylline, or alternatively, that the experimental method of determining in this case, is inadequate.

The expected correlation between gel layer thickness and the corresponding drug release was not proved. This could be the consequence of different experimental settings of the two methods used. During MRI measurements only one side of the tablet was exposed to the medium, while in the dissolution experiments whole tablet was in contact with the medium. In addition, stirring of the medium was not performed at MRI experiments and therefore erosion degree is lower in comparison to dissolution method. To postulate the correlation between gel layer thickness and drug release rate, it would be necessary to adjust the experimental settings of these two methods.

KEYWORDS: *xanthan, solubility, prolonged release, MRI, gel-layer thickness*

SEZNAM OKRAJŠAV

FO – farmacevtska oblika

FID – signal proste precesije (ang. *free induction decay*)

I – ionska moč

MRI – slikanje z magnetno resonanco (ang. *magnetic resonance imaging*)

NMR – jedrska magnetna resonanca (ang. *nuclear magnetic resonance*)

PF – pentoksifilin

RF – radiofrekvenčni

SPI – Single-Point imaging method

Spin echo – spinski odmev

TE – čas do nastopa spinskega odmeva (ang. *time to echo*)

TR – čas med dvema zaporednima 90°-pulzoma (ang. *time to repeat*)

T_1 – spin-mrežni ali longitudinalni relaksacijski čas

T_2 – spin-spinski ali transverzalni relaksacijski čas

XAN – ksantan

ZU – zdravilna učinkovina

1D – enodimenziionalen

1D-FT – enodimenziionalna Fourierjeva transformacija

2D – dvodimenziionalen

3D – tridimenziionalen

1 UVOD

Za doseganje časovno nadzorovanega terapevtskega učinka in dostavo učinkovine na želeno mesto, je nujna vgradnja zdravilne učinkovine (ZU) v ustrezno farmacevtsko obliko (FO), ki bo s svojimi lastnostmi zagotavljala dostavo na določeno mesto ob določenem času s točno določenim časom trajanja učinka (1).

FO s **prirejenim** sproščanjem je tista, pri kateri se hitrost ali mesto sproščanja ZU razlikujeta od hitrosti ali mesta sproščanja FO z neprirejenim sproščanjem, ki jo apliciramo po isti poti. Prirejeno sproščanje omogoča posebna sestava, posebna FO ali poseben postopek izdelave. FO s prirejenim sproščanjem vključujejo FO s podaljšanim, zakasnelim in pulzirajočim sproščanjem (2, 3).

FO s **podaljšanim** sproščanjem je tista, ki *počasneje* sprošča ZU kot FO z neprirejenim sproščanjem, ki jo apliciramo po isti poti. Podaljšano sproščanje omogoča posebna sestava, posebna FO ali poseben postopek izdelave (2, 3).

FO z nadzorovanim sproščanjem nam omogočajo:

- zmanjšati pogostost odmerjanja in povečati sprejemljivost s strani bolnika,
- povečati učinkovitost ZU z zadrževanjem na mestu delovanja,
- znižati odmerke in hkrati vzdrževati optimalno koncentracijo ZU v plazmi ter tako zmanjšati stranske neželene učinke, ki so povezani z nihanjem plazemskih koncentracij »klasičnih« FO (4, 5).

Velika večina FO s podaljšanim sproščanjem je ogrodnih tablet, ki so sestavljene iz praškaste ZU in hidrofilnega polimera, ki v stiku z vodnim medijem nabreka. Hidrogel, ki nastane ob nabrekanju polimera, predstavlja difuzijsko bariero za sproščanje ZU. Prednost hidrofilnih tablet je enostavnost njihove izdelave (direktno tabletiranje praškaste zmesi) in varnost, saj obstaja zelo majhna verjetnost, da bo takšna tableta sprostila vso ZU naenkrat (ang. *dose dumping*) (4, 6).

Hidrogeli predstavljajo osnovo sistemov s prirejenim sproščanjem. So tridimenzionalne (3D) strukture, ki jih sestavljajo hidrofilni polimeri ali kopolimeri, v katere je vključena voda. Gre za kemijsko ali fizikalno premrežitev polimerov, ki zagotavljajo strukturno in fizikalno integriteto hidrogelne mreže. Vodo, ki je ujeta v 3D-rešetko razdelimo na tisto

vodo, ki jo hidrofilne skupine polimera vežejo nase – tj. vezana voda, in na vodo, ki jo hidrogel zaradi osmotske sile vsrka vase in se porazdeli v prostore med polimernimi verigami – tj. prosto vodo (6, 7). Hidrogele tvorijo naravni (alginat, ksantan, karagenan) ali sintezni (hidroksipropilmetil celuloza – HPMC, hidroksietil celuloza – HEC, hidroksipropil celuloza – HPC) polimeri (8).

1.1 PROCES NABREKANJA HIDROFILNIH OGRODNIH TABLET

Voda ali telesne tekočine hidratirajo hidrofilno ogrodno tableto, ki vsebuje ZU. Okoli suhega tabletnega jedra se tvori hidrogel, ki v glavnem vpliva na sproščanje ZU. Struktura hidrogela je tridimenzionalna, sestavljena predvsem iz hidrofilnih homopolimerov, heteropolimerov in kopolimerov, v katere je vključena voda, in je odvisna od medija sproščanja, tipa polimera, površine FO in termodinamskih parametrov. Delež vode v hidrogelih in razmerje med količino vezane ter proste vode bistveno vplivata na raztapljanje ZU in njeno difuzijo skozi hidrogel (7, 9, 10).

Osrednji del ogrodne tablete na začetku predstavlja rezervoar ZU. Polimer je v steklastem stanju (ang. *glassy state*), ker je pod temperaturo steklastega prehoda (T_g). S prodiranjem vode v tableto se verige polimera hidratirajo, z večanjem deleža vode pa se znižuje tudi temperatura steklastega prehoda. Polimer preide v zmečano stanje (ang. *rubbery state*) in šele takrat ZU postane mobilna ter se lahko sprošča iz dostavnega sistema. Z nastankom gelske plasti je dosežena upočasnitev difuzije in sproščanja ZU. Plasti, ki nastanejo znotraj ogrodne tablete tekom hidratacije, so pomembne za nadzorovano sproščanje ZU. Med nabrekanjem se torej ustvarijo posamezne plasti, ki se s časom spreminjajo (penetracijska, nabrekajoča, difuzijska in erodirajoča plast). Razmejujejo jih 4 meje:

- **meja penetracije**, ki se nahaja med suhim in hidratiranim polimerom v steklastem stanju,
- **meja nabrekanja**, ki se nahaja med hidratiranim polimerom v steklastem stanju in polimerom v zmečanem stanju (hidrogel),
- **meja difuzije**, ki se nahaja med neraztopljeno in raztopljeno učinkovino v hidrogelu,
- **meja erozije**, ki se nahaja med ogrodjem in medijem za raztapljanje.

Lega meje difuzije je odvisna od topnosti ZU. Pri dobro topni ZU, bo meja difuzije bližje meji nabrekanja. Zato bo dobro topna ZU difundirala iz hidrogela, slabo topna ZU pa se znotraj hidrogela ne bo raztopila in bo sproščanje odvisno od stopnje erozije polimera. Mehanizem in hitrost sproščanja ZU sta posledično odvisna od topnosti ZU, od mesta, od koder ta difundira, in od koncentracijskega gradienta v hidrogelu (7, 8, 11, 12).

Med hidratiranjem se volumen tablete večja, meja nabrekanja se pomika proti sredini tablete, meji erozije in difuzije pa se zaradi nabrekanja ogrođa pomikata navzven. Po določenem času se vzpostavi ravnotežje med nabrekanjem in erozijo. S popolnim omočenjem tablete izgine steklasto jedro in s tem tudi penetracijska meja ter meja nabrekanja. Meji erozije in difuzije pa se pomikata proti sredini tablete dokler ta ne izgine. Debelina gelskega plašča predstavlja bariero za sproščanje ZU, ta pa je odvisna od penetracije vode, relaksacije verig polimera in erozije (12).

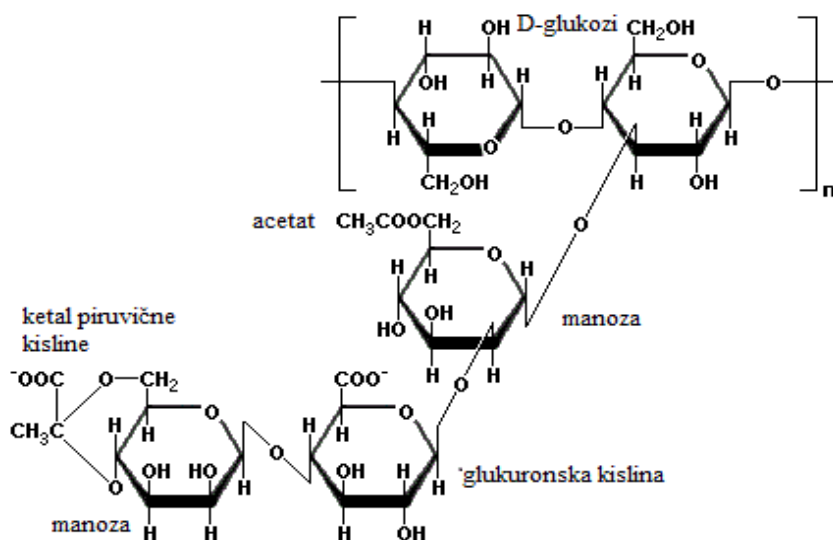
1.1.1 Sproščanje ZU iz ogrodnih tablet

Sproščanje ZU iz ogrodnih tablet je odvisno od lastnosti nastalega gelskega sloja – debeline, strukture in morfologije hidrogela, od lastnosti ZU – velikosti, hidrofilnosti, lipofilnosti, topnosti, od interakcij med raztapljanjem in difuzijo ZU, ter od erozije polimera (13). Hidrofilne ZU, ki so vgrajene v ogrodne tablete, se sproščajo v glavnem z difuzijo, lipofilne pa zaradi erozije polimera. Na začetku je za tvorbo gelske plasti potreben določen čas, zato je sproščanje ZU hitrejšje kot kasneje, ko je prisoten gelski plašč, ki ovira nadaljnje sproščanje. V nadaljevanju se polimerne verige na površini ogrodne tablete hidrirajo, pride do relaksacije in s tem je olajšano sproščanje ZU. Ko je celotna tableta hidrirana, prevladuje erozija in sproščanje ZU je pospešeno (6, 9, 14).

1.2 KSANTAN

Ksantan (XAN) je bel ali rahlo rumen prah topen v vodi, pri čemer daje visoko viskozno raztopino, medtem ko je v organskih topilih netopen (15). XAN je eden najbolj uporabljenih visokomolekularnih bakterijskih eksopolisaharidov, ki ga izloča po Gramu negativna bakterija *Xanthomonas campestris* z namenom, da jo ščiti pred visoko temperaturo in vplivom svetlobe (16). Sestavljen je iz linearno 1,4-povezanih β -D-glukoznih enot, na vsako drugo enoto so pritrjene trisaharidne stranske verige (slika 1). Osnovna veriga je podobna celulozi, stranska veriga, ki jo sestavljajo β -D-manoza(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-glukuronska kislina-(1 $\rightarrow$ 2)- α -D-manoza, pa je pripeta na vsaki drugi glukozni.

Notranja manzoza je običajno *O*-acetilirana, končna manzoza pa je substituirana na mestu 4 ali 6 s ketal piruvične kisline (1, 17). Polimeru dajejo anionski značaj piruvatne skupine in glukuronska kislina. Evropska farmakopeja določa minimalno vsebnost piruvičnih skupin 1,5 % glede na suho substanco (15). XAN je zelo dobro topen v vroči in hladni vodi ter dobro veže vodo nase. Ta lastnost pa je povezana s polielektrolitsko naravo polimera (18). V povprečju je 60-70 % notranjih manoz acetiliranih, 30-40 % končnih manoz pa ima pripete piruvatne ostanke, to pa je pomembno pri medsebojnih interakcijah in interakcijah XAN-a z drugimi polimeri (17).

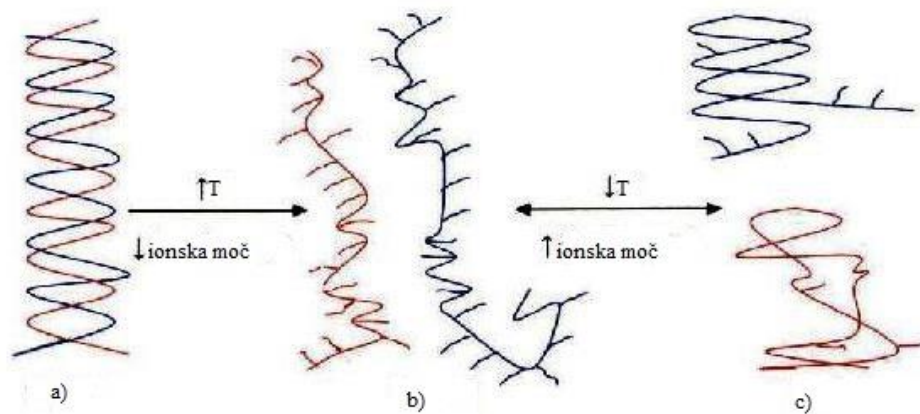


Slika 1: Primarna struktura ksantana (povzeto po (19)).

1.2.1 Konformacija

Sama konformacija XAN-a še ni potrjena. V urejenem nativnem stanju (kot dvojna, petkrat zavita desnosučna simetrična vijačnica, stabilizirana z vodikovimi vezmi, elektrostatskimi interakcijami in steričnimi efekti), naj bi bil pri pH 1,2 oziroma pri visoki ionski moči, medtem ko naj bi bil pri pH višjem ali enakem 3 oziroma pri nizki ionski moči ter pri visoki temperaturi v neurejenem stanju (20). Pri povišani temperaturi dvojne vijačnice razpadejo na posamezne verige – **denaturirana oblika**, medtem ko če to ohladimo ali povečamo ionsko moč, dobimo **renaturirano obliko** XAN-a (slika 2). Pri povišani temperaturi oziroma pri nižji ionski moči pride torej do prehoda iz enojne v dvojno antiparalelno vijačnico, ki jo tvori le ena molekula XAN-a. V takem stanju se molekule močno povezujejo in tvorijo gelsko strukturo (17). Prehod iz nativne v denaturirano obliko je nepovraten, medtem ko je prehod iz denaturirane v renaturirano povraten. Strukture

denaturiranega in renaturiranega XAN-a so potrdili z rentgensko difrakcijo (21). Sekundarne strukture XAN-a se nato s pomočjo nekovalentnih vezi združijo v urejene skupke dvojnih vijačnic, ki tvorijo terciarno strukturo (22, 23).



Slika 2: Sekundarna struktura XAN-a. Vpliv temperature in ionske moči na konformacijske spremembe. a) Nativno (urejeno) stanje, b) denaturirano (neurejeno) stanje in c) renaturirano (urejeno) stanje (povzeto po (1)).

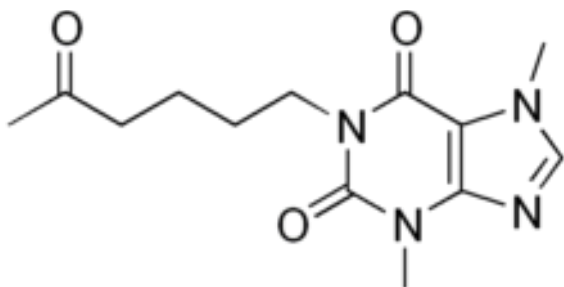
1.2.2 Uporabnost

XAN uporabljajo v različnih industrijskih panogah, ker so ugotovili, da je varen in netoksičen. V farmaciji je najbolj znan kot pomožna snov, in sicer kot zgoščevalo, stabilizator emulzij, dodajajo ga raztopinam za oči, ker podaljša zadrževanje FO na mestu aplikacije, poveča moč bioadhezije vaginalnih FO in vezavo na sluznico kolona, uporabljamo pa ga tudi kot hidrofilni ekscipient ogrodnih sistemov pri FO s podaljšanim sproščanjem (22, 23). XAN predstavlja osnovo ogrodnih sistemov. V stiku z medijem nabreka in pri tem tvori gost hidrogel, ki sčasoma erodira (6). Tabletam dodajajo različne kombinacije XAN-a z galaktomanom in/ali kurkuminom ter tako podaljšajo sproščanje ZU iz teh tablet (24).

1.3 PENTOKSIFILIN KOT MODELNA UČINKOVINA

Pentoksifilin (PF, 3,7-dimetil-1-(5-oksoheksil)-3,7-dihidro-1*H*-purin-2,6-dion; slika 3) spada v farmakoterapevtsko skupino perifernih vazodilatatorjev (ATC: C04AD03). Molska masa ZU je 278,31 g/mol, je neionogen in v vodi dobro topen (25, 26). PF je kompetitivni

neselektivni inhibitor encima fosfodiesteraze v membranah trombocitov in eritrocitov. Zmanjša viskoznost krvi in poveča prožnost eritrocitov (26). Kot modelna ZU je primeren, ker omogoča analizo sproščenih koncentracij z UV/VIS-spektrofotometrijo, ki je hitra in natančna metoda. Spojina ima enega od absorpcijskih maksimumov pri 274 nm, zato pri tej valovni dolžini spektrofotometrično določamo njeno koncentracijo (1, 8, 14).



Slika 3: Struktura pentoksifilina (povzeto po (27)).

1.4 TOPNOST

Topnost opredelimo kot največjo količino topljenca, ki z danim volumnom topila pri določeni temperaturi tvori homogeno molekularno disperzijo. Raztopina, ki vsebuje največjo količino topljenca, se imenuje **nasičena raztopina**. Za nasičene raztopine velja termodinamsko ravnotežje med raztopljenim in neraztopljenim topljencem (slika 4). Na topnost vpliva temperatura, zato se praviloma ob podatku za topnost poda še ta vrednost (28, 29, 30).



Slika 4: Nasičena raztopina za določevanje maksimalne topnosti.

Evropska in ameriška farmakopeja (če ni drugače navedeno v posamezni monografiji) delita topljence glede na topnost na podlagi volumna topila v mililitrih, potrebnega za

raztopitev enega grama topljenca, na več razredov, in sicer: lahko topen, topen, zmerno topen, težko topen, zelo težko topen in skoraj netopen (tabela I). Opis »delno topen« (ang. *sparingly soluble*) opisuje zmes, v kateri se topijo le nekatere sestavine (31, 32, 33).

Tabela I: Lestvica za opisno vrednotenje topnosti (povzeto po (2))

OPISNO VREDNOTENJE	VOLUMEN TOPILA V MILILITRIH NA GRAM TOPLJENCA
Zelo lahko topen	Manj kot 1
Lahko topen	1-10
Topen	10-30
Zmerno topen	30-100
Težko topen	100-1000
Zelo težko topen	1000-10000
Skoraj netopen	Več kot 10000

Topnost je ključni fizikalno kemijski parameter, ki ga potrebujemo za karakterizacijo določene substance med raziskovanjem (28, 34).

1.5 OSNOVE NMR - MRI

Jedrska magnetna resonanca (NMR) je pomembna metoda analize na številnih področjih znanosti. V zadnjih letih je doživela pomemben razcvet, predvsem po zaslugi razvoja večdimenzionalne NMR, kjer pomembno mesto zavzema slikanje z magnetno resonanco (MRI). MRI je ena izmed tehnik slikanja, ki temelji na absorpciji in emisiji energije v radiofrekvenčnem (RF) območju elektromagnetnega spektra. Je nedestruktivna in neinvazivna metoda ter je ena redkih metod, ki omogoča nedestruktivno slikanje notranjosti vzorcev (35, 36, 37).

Jedra s spinom $I > 0$ imajo vrtilno količino $\vec{p}$ in zato tudi magnetni moment $\vec{\mu} = \gamma \cdot \vec{p} = \gamma \cdot \hbar \cdot \vec{I}$, kjer je γ giromagnetno razmerje, ki je značilna konstanta za dano vrsto magnetnega jedra, $\hbar = h/2\pi$, kjer je h Planckova konstanta ($h = 6,6 \cdot 10^{-34}$ Js). Spinska vrtilna količina je vektorske narave, njene merljive vrednosti pa so kvantificirane z magnetnim kvantnim številom m , ki lahko zavzame $2I+1$ diskretnih vrednosti. Pojav MR

je mogoč, ko se v vzorcu pojavi jedrska magnetizacija ($\vec{M}$), ki je definirana s kvocientom vsote jedrskih dipolnih magnetnih momentov ($\sum \vec{\mu}_i$) in prostornine (V), ki jo ti zasedajo.

$$\vec{M} = \frac{\sum \vec{\mu}_i}{V} \quad [1]$$

Za uporabo NMR v medicini in farmaciji so najbolja zanimiva jedra ^1H , ^{19}F in ^{13}C , ki imajo spin $I = \frac{1}{2}$. Za slikanje z MR pa najpogosteje uporabljamo vodikovo jedro zaradi visoke količine vode v bioloških sistemih in največje občutljivosti. Zato se bomo pri opisu pojava NMR signala omejili na opis jeder s spinom $I = \frac{1}{2}$.

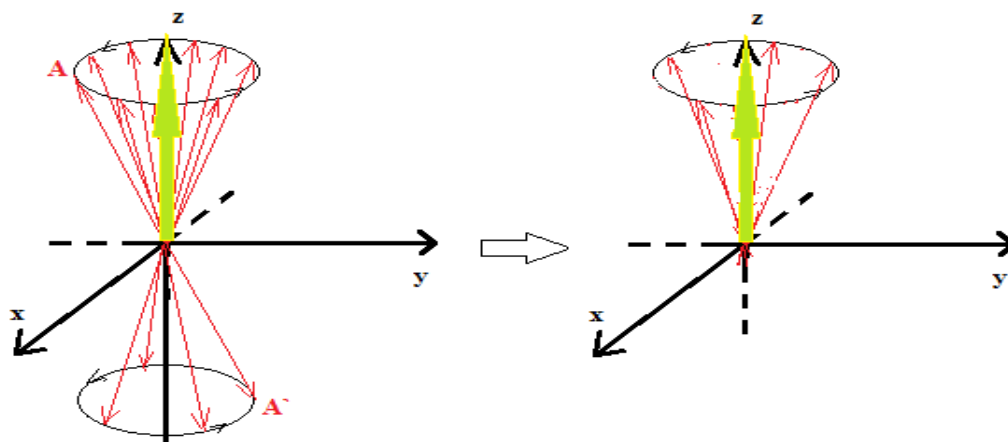
Če ni zunanjega magnetnega polja, so magnetni momenti posameznih jeder naključno usmerjeni in jedrska magnetizacija vzorca je enaka 0. Ko postavimo jedro v zunanje magnetno polje, nanj deluje navor, ki skuša jedro zasukati tako, da bo imel njegov magnetni moment smer statičnega magnetnega polja. Posledica spina jeder je, da navor ne more zasukati jeder v smer statičnega magnetnega polja, ampak začnejo **precesirati** okrog statičnega magnetnega polja (35, 36).

Hitrost precesije je odvisna od lastnosti in od magnetnega navora jeder, s tem pa tudi od gostote statičnega magnetnega polja. Frekvenco jedrske precesije (t.i. Larmorjevo frekvenco) zapišemo z enačbo:

$$\omega_0 = \gamma \cdot B_0 \quad [2]$$

kjer je ω_0 Larmorjeva frekvenca precesije, γ giromagnetno razmerje in B_0 jakost zunanjega magnetnega polja.

Za jedra s spinom $I = \frac{1}{2}$ sta možni dve projekciji spina na smer zunanjega magnetnega polja $\vec{B}_0$, in sicer $m = \frac{1}{2}$ (v smeri $\vec{B}_0$) in $m = -\frac{1}{2}$ (v nasprotni smeri $\vec{B}_0$), ki imata različni energiji. V termičnem ravnovesju pride do presežka števila jeder na nižjem energijskem nivoju ($m = \frac{1}{2}$), zato je vektor skupne magnetizacije $\vec{M}$ v zunanjem magnetnem polju različen od nič (slika 5).



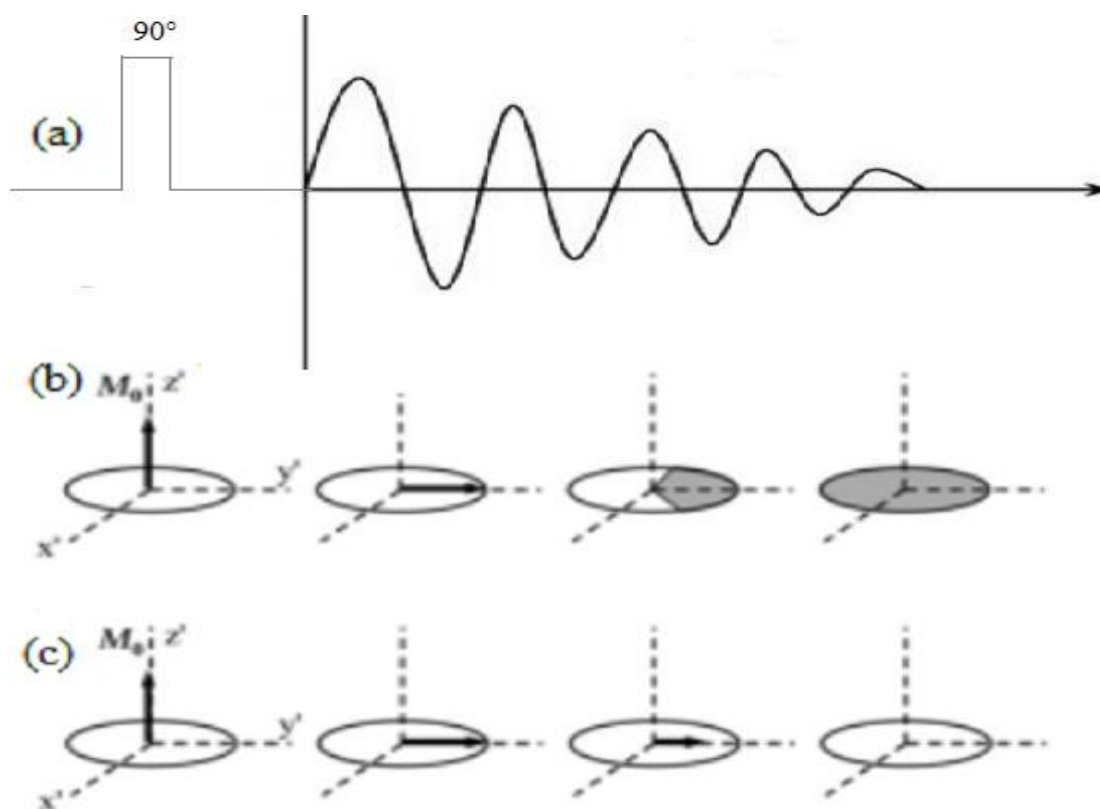
Slika 5: Zaradi presežka števila jeder na nižjem energijskem nivoju je vektor skupne magnetizacije (zelená puščica v sredi koordinatnega sistema) različen od nič. A predstavlja spin jedra v spodnjem energijskem nivoju in A' spin jedra v zgornjem energijskem nivoju, ki sta v desnem delu slike odštetá (povzeto po (36)).

Jedra lahko vzbudimo iz nižjega v višji energijski nivo z obsevanjem z RF-pulzom, ki ustvari RF-elektromagnetno polje. Do prehoda viška jeder iz spodnjega na zgornji energijski nivo ob obsevanju vzorca z RF-elektromagnetnim poljem $\vec{B}_1$ pride, ko je energija fotonov obsevalnega elektromagnetnega polja enaka energijski razliki jedrskih nivojev. Temu pravimo **resonančni pogoj**. Pri tem mora biti vektor RF-magnetnega polja pravokoten na zunanje statično magnetno polje ($\vec{B}_1 \perp \vec{B}_0$). Ob vključitvi RF-polja začne magnetizacija precesirati okrog efektivnega magnetnega polja. S trajanjem motnje B_1 določimo kot odklona vektorja magnetizacije glede na njeno ravnovesno lego: $\theta = \gamma \cdot B_1 \cdot t_{pulz}$, kjer je t_{pulz} čas trajanja motnje B_1 . Resonančne frekvence pri magnetni resonanci so večinoma v območju od nekaj 10 MHz do nekaj 100 MHz, odvisno od vrste jeder in velikosti B_0 (35-38).

Pojav MR najlažje opišemo v rotirajočem koordinatnem sistemu $x'y'z'$, ki se glede na laboratorijski koordinatni sistem vrti okoli osi $z \parallel \vec{B}_0$ z Larmorjevo frekvenco ω_0 . V primeru, da je frekvenca vrtenja RF-polja $\omega_1 = \omega_0$ (resonančni pogoj), jedro v vrtečem koordinatnem sistemu čuti efektivno magnetno polje, ki je enako $\vec{B}_1$. Ko izključimo RF-motnjo, začne magnetizacija krožiti v $x'y'$ ravnini z Larmorjevo frekvenco.

Precesija vektorja jedrske magnetizacije povzroči spreminjanje magnetnega pretoka skozi RF-tuljavo, ki je postavljena okrog vzorca in tako inducira napetost v RF-tuljavi. K inducirani napetosti v tuljavi prispeva le komponenta magnetizacije, ki je pravokotna na statično magnetno polje $\vec{B}_0$. Zato je amplituda zaznanega signala sorazmerna skupni transversalni magnetizaciji oziroma projekciji vektorja $\vec{M}_0$ v ravnini $x'y'$ ($M_{x'y'}$ v rotirajočem koordinatnem sistemu $x'y'z'$), ki izvira iz vseh jeder. Ta signal imenujemo **signal proste precesije** (ang. *Free Induction Decay*, FID) in označuje prosto precesijo spinov po izključitvi RF-pulza (slika 6). FID je sorazmeren z magnetizacijo vzorca (M_0) in je tem večji, večja je protonska gostota vzorca (N) in čim močnejše je statično magnetno polje B_0 (35, 36, 37).

Magnetizacija $M_{x'y'}$ eksponentno upada s časovno komponento T_2^* proti ravnovesni vrednosti nič zaradi spin-spinske relaksacije in zaradi nehomogenosti magnetnega polja. Na enak način upada tudi napetostni signal proste precesije v tuljavi (35, 36).

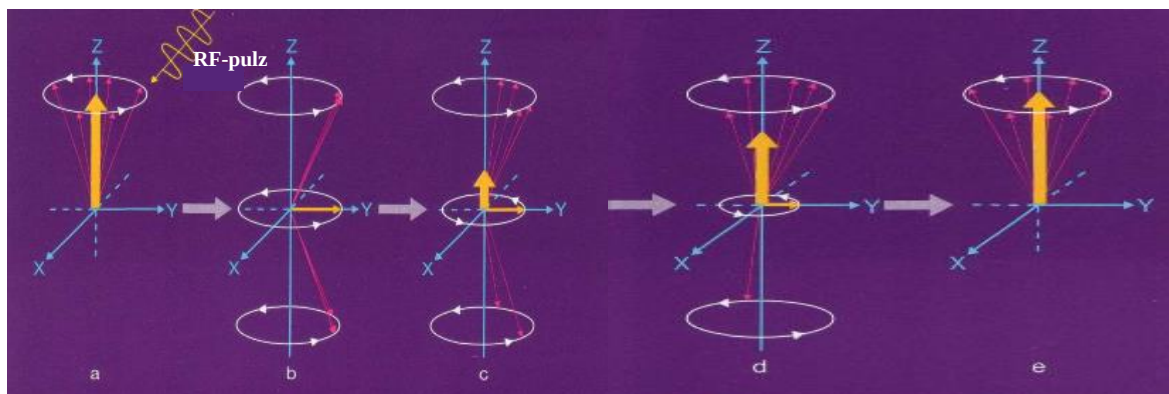


Slika 6: Prikaz dogajanja po 90°-RF-pulzu. Signal upada s časom, največji je takoj po 90°-pulzu (a) in ima ves čas isto frekvenco – tj. FID signal. Prosta precesija spinov (b) (osenčen del) vodi v upadanje amplitude signala (c) (povzeto po (38)).

1.5.1 Relaksacijski procesi

Kot smo videli, signal FID pada s časovno konstanto T_2^* . V resnici pa poznamo dve vrsti jedrske relaksacije (slika 7):

- **spin-mrežna relaksacija** (T_1) pomeni, da se vzbujeni spini vračajo v ravnovesno stanje z oddajanjem energije mreži (opisuje vračanje longitudinalne magnetizacije v ravnovesno stanje M_0),
- **spin-spinska relaksacija** (T_2) opisuje kako hitro transversalna magnetizacija (komponenta magnetizacije v smeri, ki je pravokotna na os z) pada v popolnoma homogenem zunanjem magnetnem polju; je merilo izgube fazne koherence jeder (zaradi interakcij med spini jeder) (36, 37).



Slika 7: Spin-mrežna (T_1) in spin-spinska (T_2) relaksacija. a) Pred vključitvijo RF-pulza je prisotna samo longitudinalna magnetizacija v smeri osi z. b) Takoj po vklopu 90° -RF-pulza, longitudinalna magnetizacija izgine, pojavi se transversalna magnetizacija v ravnini xy, ki se vrti okoli osi z. c) in d) S časom transversalna magnetizacija izginja, longitudinalna narašča, dokler ni doseženo začetno ravnovesno stanje e) (povzeto po (36)).

Za nas bo pomemben relaksacijski čas T_2 , ki se pri različnih koncentracijah hidrogelov bolj spreminja kot T_1 (7, 8). Relaksacija T_2 je namreč posledica različnih lokalnih interakcij jedra s sosednjimi atomi. Zato posamezna jedra čutijo različno magnetno polje in se njihove Larmorjeve frekvence razlikujejo, kar vodi do izgube fazne koherence in s tem do zmanjšanja signala. Učinek je odvisen od frekvence gibanja lokalnega magnetnega polja in se pri polju, ki niha hitro glede na Larmorjevo frekvenco izpovpreči, kar ima za posledico počasno izgubo fazne koherence in dolg T_2 . Če je gibanje počasnejše, se njegov vpliv ne izpovpreči. Zato različna jedra čutijo različno magnetno polje in T_2 je krajši. Posledica tega

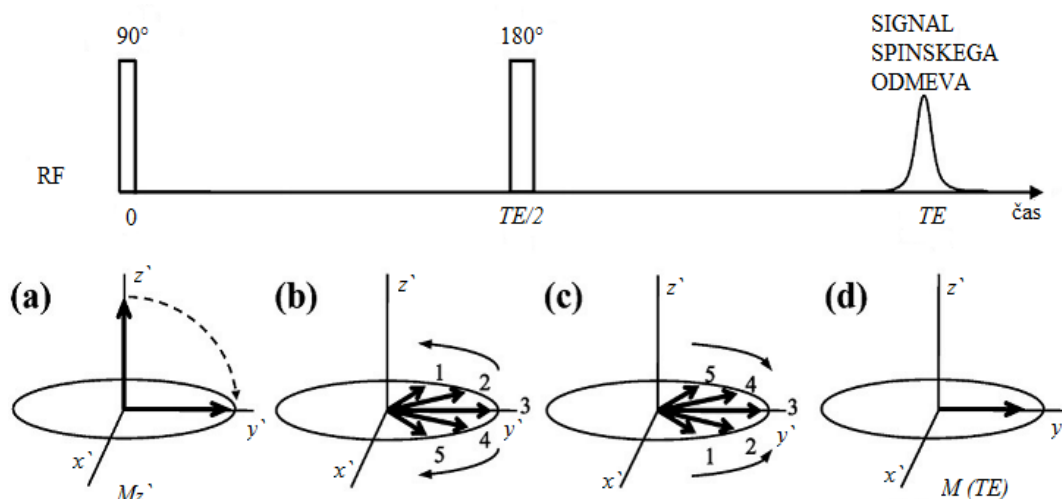
je, da je T_2 v tekočinah dolg (nekaj s), medtem ko je v trdnih snoveh, kjer je gibanje jeder zelo upočasnjeno, T_2 zelo kratek (nekaj deset μ s) (35, 37).

1.5.2 Metoda merjenja T_2

METODA SPINSKEGA ODMEVA nam omogoča, da se izognemo napakam pri merjenju T_2 zaradi nehomogenega zunanega magnetnega polja. Običajno dovedemo pulz, ki celotno magnetizacijo iz smeri z zasuje za 90° v ravnino $x'y'$ (slika 8a). Po prenehanju delovanja pulza začnejo jedra izgubljati fazo (zaradi notranjih interakcij med jedri in nehomogenosti zunanega magnetnega polja) s časovno konstanto T_2^* (slika 8b). Če v času $TE/2$ po začetnem pulzu dovedemo še 180° -pulz, se magnetizacija v ravnini $x'y'$ obrne za kot 180° okrog osi y' (slika 8c). Posledično dobimo v času $TE/2$ po 180° -pulzu vsa jedra ponovno zbrana, kar da signal, ki ga imenujemo **spinski odmev** (slika 8d). Kljub temu pa signal vseeno eksponentno pada z daljšanjem časa TE , zaradi časovno spreminjajočih lokalnih interakcij med jedri v vzorcu. Signal eksponentno pada z relaksacijskim časom T_2 :

$$S = A + B^{-TE/T_2} \quad [3]$$

kjer je S signal spinskega odmeva, TE časovni razmik med pulzom 90° in meritvijo signala (čas do spinskega odmeva), A in B pa sta konstanti (35, 36, 37).



Slika 8: Shema metode spinskega odmeva. Začetna magnetizacija M_z se po uvedbi 90° -pulza prevrne na os y' (a). Zaradi razlik v lokalnem polju B_0 , se posamezni spini v času $TE/2$ razpahljajo v $x'y'$ -ravnini (b). 180° -pulz vzdolž osi y' obrne pahljačo spinov za kot 180° okrog osi y' (c). Če različne komponente precesirajo še naprej z isto hitrostjo, se združijo na osi $-y'$ in tvorijo signal spinskega odmeva po času TE (d) (povzeto po (38)).

1.5.3 Slikanje z MR

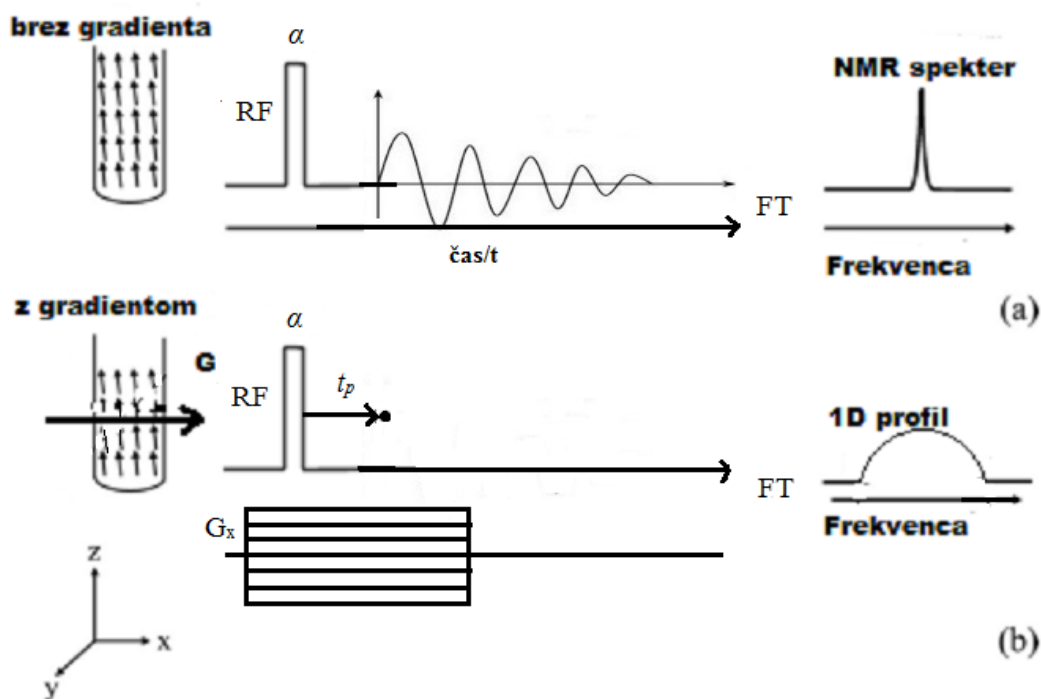
Osnovna naloga slikanja z MR je rekonstrukcija slike preseka vzorca. Potrebno je izmeriti signal MR in iz njega dekodirati prostorski položaj jeder. To dosežemo z gradientnimi pulzi ($\vec{G}$). Zaradi gradientnih pulzov, jedra v različnih delih vzorca čutijo različno magnetno polje, kar povzroči prostorsko odvisno resonančno frekvenco ($\omega(\vec{r})$):

$$\omega = \omega(\vec{r}) = \omega_0 + \gamma \vec{r} \cdot \vec{G} \quad [4]$$

Če poznamo gradient in merimo frekvenco, lahko določimo prostorski položaj jedra (35, 37).

SINGLE-POINT IMAGING (SPI) je tridimenzionalna MRI-metoda, ki sta jo prvič omenila Emid in Creyghton že leta 1985 (39) za proučevanje materialov/snovi z zelo kratkim časom T_2 . Ravno to je včasih predstavljalo problem pri proučevanju nekaterih industrijsko pomembnih materialov, kot so polimeri, keramika, porozne skale in gradbeni materiali. Omejujoča slabost metode SPI je zelo dolg čas celotnega zajema signala in potreba po striktnih nastavitvah na strojni opremi spektrometra (37, 40, 41).

Pri metodi SPI uporabljamo samo fazno kodiranje. Fazni gradient vključimo pred RF-pulzom (α), nato pa po določenem času faznega kodiranja ($t_p \sim 20\text{-}300 \mu\text{s}$) zajamemo signal (slika 9b) (40).



Slika 9: Slikanje vzorca z MR (a) brez gradienta in (b) z gradientom. V homogenem magnetnem polju B_0 dobimo po Fourierjevi transformaciji signal vseh jeder pri frekvenci ω_0 (a), v prisotnosti faznega gradienta pa dobimo s Fourierjevo transformacijo projekcijo vzorca (b) (povzeto po (38, 41)).

Pri metodi SPI poteka prostorsko kodiranje preko fazne modulacije signala. Fazni gradient (G_p), ki ga spreminjamo v korakih, povzroči razliko v precesijski hitrosti in zato tudi razliko v fazi signala, kar povzroči fazno modulacijo signala. Fazni pomik jeder je sorazmeren njihovi legi vzdolž osi faznega gradienta, času vklopa faznega gradienta in njegove jakosti. Da dobimo 1D-profil vzorca, zaporedje z različno velikostjo faznega gradienta ponavljamo tolikokrat, kolikor ima 1D-profil točk. Ko je zbran signal vseh točk, iz njih izračunamo prostorski profil po matematičnem postopku, znanem kot Fourierjeva transformacija (slika 9). Če želimo dobiti 2D- oziroma 3D-sliko vzorca z metodo SPI, moramo zaporedje ponoviti še pri različnih vrednostih gradienta v dveh pravokotnih smereh (40, 41). Ravno zaradi uporabe faznega kodiranja za vsako točko posebej, je metoda SPI tako počasna.

Pri tej metodi je pomembno, da je čas po vključitvi RF-pulza do slikanja določene točke čim krajši (čas t_p), ker to zagotavlja najmanjšo izgubo signala zaradi spin-spinske relaksacije. Manjši koti RF-pulza pa nam omogočijo hitrejše ponavljanje, saj je čas, ki je

potreben, da se magnetizacija po RF-pulzu vrne v ravnovesno lego krajši, ker se spinom ni potrebno vračati za 90° , ampak le za kot α (npr. 20°) (40, 41).

Na intenziteto signala (S) pri slikanju z metodo SPI vplivajo protonska gostota vzorca, ki je odvisna predvsem od koncentracije jeder v vzorcu ter T_1 in T_2^* , ki sta odvisna od mobilnosti vode v vzorcu (40).

$$S = \rho \exp\left(-\frac{t_p}{T_2^*}\right) \left[\frac{1 - \exp\left(-\frac{TR}{T_1}\right)}{1 - \cos \alpha \cdot \exp\left(-\frac{TR}{T_1}\right)} \right] \sin \alpha \quad [5]$$

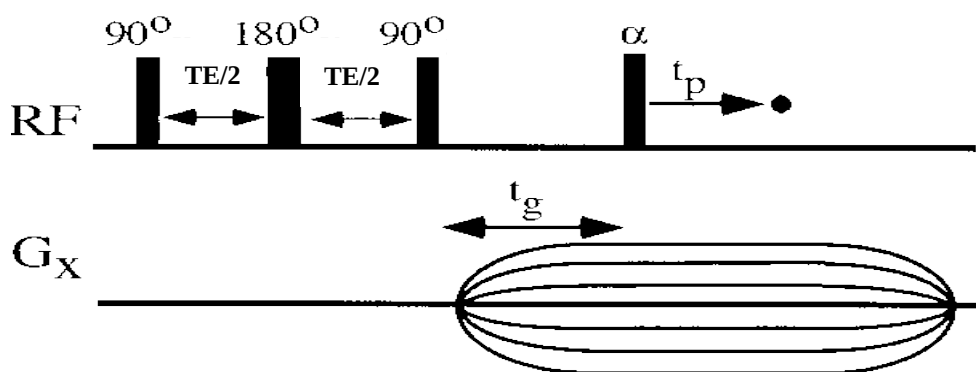
Kjer je ρ gostota protonov, t_p je čas faznega kodiranja, TR čas med posameznima RF-pulzoma, T_1 spin-mrežni relaksacijski čas in T_2^* efektivni spin-spinski relaksacijski čas.

1.5.4 Merjenje T_2 z SPI metodo

Za merjenje protonskega spin-spinskega relaksacijskega časa (T_2) pri gostih hidrogelih, kjer je relaksacijski čas T_2 zelo kratek, tradicionalne metode merjenja, kot je slikanje z MR s spinskim odmevom niso primerne.

V ta namen lahko uporabimo merjenje relaksacijskega časa T_2 v kombinaciji pulzne sekvence spinskega odmeva za pripravo spinov v vzorcu ter nato zajem signala z metodo SPI (41).

Najprej izvedemo pulzno sekvenco spinskega odmeva, ki jo označimo s pulznim zaporedjem $90^\circ - TE/2 - 180^\circ - TE/2$, ki ji sledi še 90° -pulz. Tretji pulz postavi magnetizacijo v z-smer (v smer z daljšim relaksacijskim časom, saj velja, da je $T_1 > T_2$) in s tem ohrani fazno koherenco, ki je nastala po času TE po prvem 90° -pulzu. Tako se izognemo dodatni izgubi fazne koherence v času, ki je potreben za vklop gradientnega pulza (t_g). Nato pa sledi zajem signala točke SPI (slika 10).



Slika 10: Pulzna sekvenca spinskega odmeva, ki ji sledi zajem signala točke SPI (povzeto po (41)).

Za meritev T_2 na določenem mestu v vzorcu najprej vzorčimo vse točke 1D-profila pri eni vrednosti TE , potem pa eksperiment ponovimo pri različnih vrednostih TE . Tako dobimo 1D-profile, katerih amplitude upadajo v odvisnosti od T_2 na določenem mestu v vzorcu.

2 NAMEN DELA

Namen diplomske naloge bo ovrednotiti vpliv različnih medijev na topnost pentoksifilina, in s slikanjem z magnetno resonanco določiti debelino gelske plasti na površini tablet. Predvidevamo namreč, da oba parametra vplivata na sproščanje te učinkovine iz ogrodnih tablet na osnovi ksantana.

Najprej bomo pripravili različne medije, in sicer prečiščeno vodo, medij s pH 1,2, medij s pH 3,0 in ker na strukturo ksantana, ki je anionski polimer, vplivata ionska moč in pH medija, bomo dodali še NaCl vsakemu mediju. Določili bomo maksimalno topnost pentoksifilina v omenjenih medijih v kopeli z uravnavano temperaturo in poskušali oceniti vpliv teh medijev na topnost zdravilne učinkovine.

Nato bomo pripravili ogrodne tablete z različnimi masami in različnim razmerjem ksantan : pentoksifilin. Tablete bomo ovrednotili s slikanjem z MR, in sicer tako, da bomo spremljali hitrost nastajanja in debelino gelske plasti med nabrekanjem v odvisnosti od uporabljenega medija. S pomočjo rezultatov MR (odvisnosti debeline gelske plasti od uporabljenega medija) bomo poskušali razložiti še vpliv različnih medijev na debelino gelske plasti v povezavi s topnostjo pentoksifilina.

Naredili bomo tudi preskus sproščanja na napravi II z vesli (Apparatus 2 – Paddle method po Ph. Eur. 7th) iz tablet na osnovi ksantana. Primerjali bomo odstotek sproščene modelne zdravilne učinkovine v odvisnosti od časa glede na medije, maso tablet in sestavo.

Na koncu bomo zbrane rezultate kritično ovrednotili tako, da bomo primerjali vpliv različnih medijev na topnost učinkovine, debelino gelske plasti in vpliv teh parametrov še na sproščanje učinkovine iz tablet na osnovi ksantana.

3 EKSPERIMENTALNO DELO

3.1 MATERIALI

- pentoksifilin BN 91H1070, 22. 10. 91 (Krka, d.d., Novo mesto, Slovenija)
- prečiščena voda (izdeluje Fakulteta za farmacijo, UL, Ljubljana)
- Ksantan – Xanthan (Sigma – Aldrich Chemie, Nemčija); CAS: 11138-66-2, LOT# 060M0155V, G1253-500G
- klorovodikova kislina 1 M: Merck KGaA, Nemčija
- natrijev klorid, Lex, d.o.o., Portorož, Slovenija

3.2 APARATURE

- analitska tehtnica, Mettler Toledo AG245, Schwerzenbach, Švica
- digitalna tehtnica, Vibra, Tehnica, Železniki
- hidravlična tabletirka na udarec, SP 300, IMA Kilian, Köln, Nemčija (slika 11)



Slika 11: Tabletirka na udarec.

- kopel z magnetnimi mešali Julabo, Variomag Telesystem, Thermo Electron Corp.

- naprava za določanje trdnosti tablet, Vanderkamp, VK 200 Tablet hardness tester, VanKel, New Jersey, ZDA
- pH meter Mettler Toledo MP 235, Švica (slika 12)



Slika 12: pH meter.

- ultrazvočna kadička PIO Sonis 4, Iskra pio, d.o.o.
- slikanje z magnetno resonanco (MRI): Apolo NMR spektrometer (TecMag, Huston TX, ZDA), s superprevodnim magnetom Oxford Instruments (Oxford Instruments Ltd., Velika Britanija) z odprtino premera 23 cm in jakostjo statičnega magnetnega polja (B_0) 2,35 T, opremljen z gradientnimi tuljavami za mikroslikanje (največji gradient 250 mT/m), z RF-tuljavami (sedlaste tuljave za mikroslikanje premera od 10 do 30 mm proizvajalca Bruker, Ettlingen Germany) in z RF-oddajnikom American Microwave Technology 3025.
- UV/VIS-spektrofotometer Hewlett Packard, 8453, USA
- Naprava za preskušanje sproščanja z vesli (naprava II (42) – Apparatus 2 – Paddle method po Eur. Ph. 7th), VK 7000, VanKel New Jersey, ZDA in avtomatski vzorčevalnik VK 8000, VanKel New Jersey, ZDA (slika 13)



Slika 13: Naprava za preskušanje sproščanja z vesli (naprava II), VanKel 7000.

3.3 POSTOPKI IN METODE

3.3.1 Priprava medijev

Medije smo pripravili tako, da smo odpipetirali v 1000 ml bučko ustrezen volumen klorovodikove kisline in/ali zatehtali ustrezno maso natrijevega klorida ter dodali prečiščeno vodo do oznake. pH smo uravnali s pomočjo pH metra na $\pm 0,05$ predpisane enote.

Tabela II: Sestava različnih medijev in njihova ionska moč.

MEDIJ	SESTAVA	IONSKA MOČ (I)
Prečiščena voda	Prečiščena voda	0
Prečiščena voda + NaCl	Prečiščena voda + 11,69 g NaCl	0,2
pH 1,2	Prečiščena voda + 80 ml 1 M HCl	0,08
pH 1,2 + NaCl	Prečiščena voda + 80 ml 1 M HCl + 11,69 g NaCl	0,28
pH 3,0	Prečiščena voda + 1 ml 1 M HCl	0,001
pH 3,0 + NaCl	Prečiščena voda + 1 ml 1 M HCl + 11,69 g NaCl	0,201

3.3.2 Postopek priprave nasičene raztopine pentoksifilina v različnih medijih

V točno določen volumen medija (20 ml) smo dodali presežek PF-ja. Vsak vzorec smo tehtali v dveh paralelah. Nato smo pustili 10 minut v ultrazvočni kadički in 24 ur mešali v kopeli z magnetnimi mešali z uravnavano temperaturo (slika 14). Po 24 urah smo izvedli filtracijo suspenzije skozi filter RC 0,2 μm , pri čemer smo uporabili 10 ml brizgo. Nato smo filtrat 10000-krat redčili, pomerili absorbanco na UV/VIS-spektrofotometru in preračunali maksimalno topnost glede na umeritveno krivuljo PF-ja v določenem mediju.



Slika 14: Erlenmajerice z nasičeno raztopino v kopeli z magnetnimi mešali z uravnavano temperaturo.

3.3.3 Postopek priprave homogene disperzije ksantana v različnih medijih za določanje vpliva polimera na topnost pentoksifilina

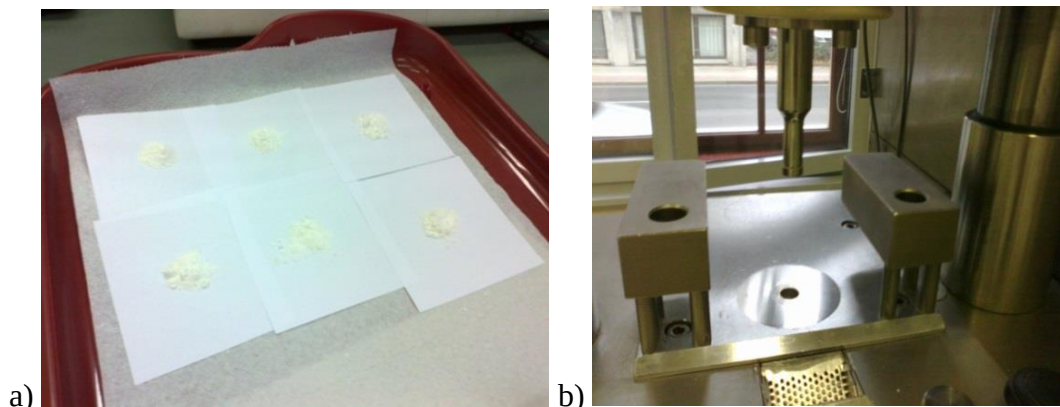
Nehomogena disperzija ne daje ponovljivih rezultatov pri določevanju koncentracije PF-ja v 0,0005 %, 0,005 % in 0,05 % disperziji XAN-a, zato je bila priprava homogene disperzije pri našem delu zelo pomembna. Na podlagi izkušenj Nine Planinc (14), ki je v svoji diplomski nalogi preizkusila različne postopke priprave, smo se odločili za pripravo disperzije v pateni (brez hladilnika), ki se je izkazala za najbolj ponovljivo.

Na dno patene smo nalili približno 10 g medija, nato smo v čim tanjši plasti nasuli natehtan XAN in razribali s pestilom, da je bil omočen skoraj ves polimer. Postopoma smo dodajali medij in mešali s pestilom, da se je XAN enakomerno hidratiral. Mešali smo počasi in se trudili vmešati čim manj mehurčkov. Medij smo dodajali do približno 2/3, nato smo s pomočjo kartice prenesli XAN iz patene v erlenmajerico in s preostalim

medijem sprali pateno, kartico in pestilo, da je bila disperzija kvantitativno prenesena. V erlenmajerico smo dodali magnetno mešalo in hitro mešali, da se je kepa XAN-a razdelila na več manjših. Erlenmajerico smo pokrili s parafilmom in mešali približno 12 ur. Nato smo dali za 15 minut še v ultrazvočno kadičko. Tako smo dobili homogene disperzije. Po tem postopku smo pripravili vse disperzije. V točno določen volumen (20 ml) disperzije različnih koncentracij smo nato dodali presežek PF-ja in nadaljevali določanje maksimalne topnosti po prej omenjenem postopku.

3.3.4 Izdelava tablet za slikanje z MR in vrednotenje hitrosti sproščanja

Tablete z masami 700 mg in 400 mg z različnim razmerjem PF-ja in XAN-a (1 : 1 in 1 : 3) smo izdelali polavtomatsko na tabletirki z metodo direktnega tabletiranja. Izdelali smo jih v treh serijah (januar 2012, avgust 2012, oktober 2012). Najprej smo s XAN-om zapolnili pore v pateni in tabletirno maso natehtali tako, da smo posebej natehtali ustrezno maso XAN-a in PF-ja glede na maso tablete in razmerje XAN : PF ter ju nato po pravilu rastočih mas homogeno zmešali. Homogeno zmes smo raztehtali na želeno maso (400 mg in 700 mg) ter vsako posebej stresli v matrico tabletirke (slika 15).





Slika 15: a) Zatehte praškaste zmesi za tabletiranje, b) matrica tabletirke, kamor stresemo praškasto zmes za stiskanje tablet, c) tablete v vrečki, zaščitene pred vlago.

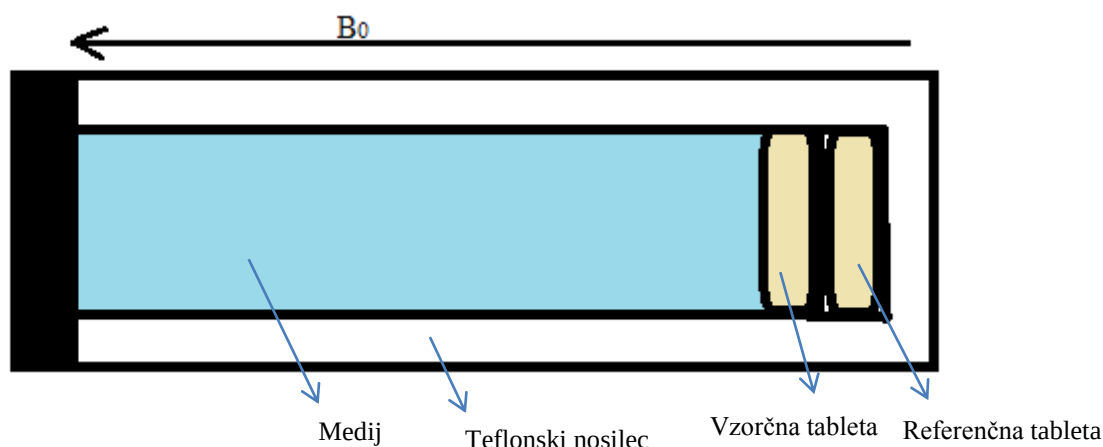
Tablete smo stisnili polavtomatsko. Velikost pečatov je bila 12 mm, legi pečatov pa sta bili odvisni od mase tablete, in sicer:

- pri 400-mg tabletah sta bili legi pečatov:
 - zgornji: 162 mm (avgust) / 170 mm (oktober)
 - spodnji: 170 mm
- pri 700-mg tabletah sta bili legi pečatov:
 - zgornji: 143 mm
 - spodnji: 180 mm

Na začetku smo silo stiskanja prilagajali tako dolgo, da smo dobili želeno trdnost tablet med 90 in 110 N. Trdnost tablet smo ugotavljali z napravo za določanje trdnosti pred, med in po tabletiranju. Test je dezintegracijske narave in ga ne moremo izvesti na tabletah, ki bi jih potem uporabili v nadaljnjih eksperimentih. Ravno zaradi tega, smo trdnost tablet spremljali preko parametrov stiskanja tablet, in sicer sile stiskanja tablet in sile izmeta tablet. Nastavitve so se razlikovale glede na čas (serijo) stiskanja tablet, kajti v poletnem času je bila vlaga v prostoru precej višja kot v jesenskem času, zato sta bili tudi legi pečatov spremenljivi. Izjemoma smo morali oktobra uporabiti enaki legi zgornjega in spodnjega pečata (170 mm), da smo dosegli želeno trdnost tablet. To pa je dovoljeno le in izjemoma takrat, ko pečata nimata ostrih robov.

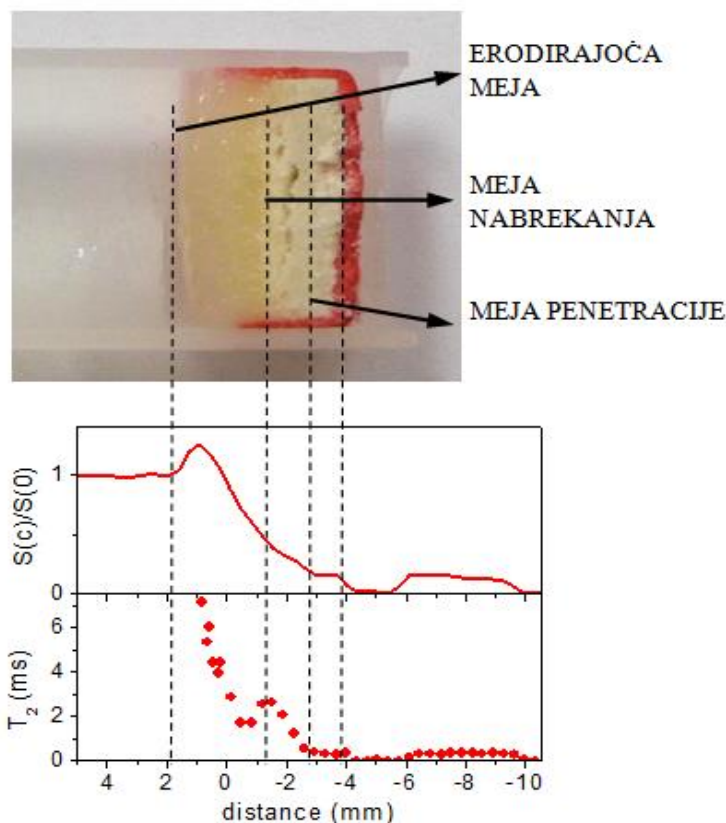
3.3.5 Potek slikanja tablet z MR

Tablete smo s spodnje strani in na obodu najprej prekrili z za vodo nepropustno plastjo tako, da je ostala nezaščiten le zgornja plast. Po prekrivanju smo nanešeno plast posušili. Na dno plastične cevke smo položili tableto z zaščiteno plastjo in nato do vrha cevke nalili medij. Cevko smo neprodušno zaprli. Na dno teflonskega nosilca smo dali tableto na osnovi XAN-a, ki smo jo uporabili za referenčni signal, nanjo pa cevko z vzorčno tableto in medijem (slika 16). Vse skupaj smo nato postavili horizontalno v RF-tuljavo. Uporabljeni parametri slikanja so bili: kot vzbujanja $\alpha = 20^\circ$, zajem signala je po času $t_p = 0,17$ ms, čas ponavljanja $TR = 200$ ms, čas spinskega odmeva smo spreminjali od 0,3 ms do 10 ms. Prostorska resolucija pri slikanju je bila $350 \mu\text{m}$.



Slika 16: Položaj tablete med slikanjem z MR.

Posneli smo 1D-profile z metodo SPI in vrednosti T_2 po profilu nabrekajočih tablet. Mejo med suhim in hidratiranim XAN-om – mejo penetracije in mejo med medijem ter hidrogelom – erodirajočo mejo, smo določili iz 1D-SPI-profilov. Mejo nabrekanja (mejo med hidratiranim XAN-om in hidrogelom) pa s pomočjo T_2 -profilov. Na sliki 17 lahko opazimo značilna področja pri nabrekanju tablet iz XAN-a. Ker je SPI-signal odvisen od relaksacijskih časov (enačba 5), ki se zaradi prodiranja vode v tableto in tvorbe hidrogela spreminjata (7, 8), se spreminja tudi velikost SPI-signala. Od desne proti levi se najprej pojavi signal referenčne tablete, nato signal suhega tabletnega jedra, ki je enak signalu referenčne tablete. Ko medij prodre v tableto, se signal poveča, doseže maksimum, potem pa spet pade in sledi signal medija. S časom, ko tableta nabreka, se večja del, ki pripada nastajajočemu hidrogelu, suho tabletno jedro pa se manjša (8).



Slika 17: Prikaz hidratirane tablete iz XAN-a po treh urah hidratacije v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om, skupaj z grafoma, ki prikazujeta normalizirane 1D-SPI-profile (kvocient signala gela (S_c) in signala medija (S_0) v odvisnosti od razdalje) in profile T_2 (spin-spinski relaksacijski čas v odvisnosti od razdalje). Predstavljene so tudi meja penetracije, meja nabrekanja in erodirajoča meja (povzeto po (8)).

Postopek določitve mej nabrekanja

Mejo penetracije smo določili na podlagi 1D-SPI-meritev v različnih časih nabrekanja, in sicer takrat, ko intenziteta signala 1D-SPI preide nad intenziteto signala referenčne tablete (rdeča krivulja na sliki 17). Erodirajočo mejo smo določili iz intenzitete signala 1D-SPI, in sicer v točki, kjer intenziteta signala vzorca začne naraščati nad intenziteto signala medija. Mejo med hidratiranim polimerom v steklastem stanju in polimerom v zmehčanem stanju, t.i. mejo nabrekanja, smo določili iz profilov T_2 nabreknjenih tablet. Za določitev lege meje nabrekanja iz profilov T_2 smo potrebovali relaksacijski čas hidratiranega XAN-a v steklastem stanju na meji nabrekanja. Vidimo, da vrednosti T_2 znotraj tablete ne padajo zvezno, ampak se na določenem mestu pojavi lokalni maksimum, kjer je vrednost $T_2 = 2,7$ ms (rdeče točke na grafu na sliki 17). To vrednost smo še dodatno preverili tako, da smo

tableto razpolovili po treh urah hidratacije in tanek del XAN-a na meji med hidratiranim XAN-om in hidrogelom uporabili za meritve relaksacijskih časov. Vrednost spin-spinskega relaksacijskega časa tega dela je bila 2,7 ms in se dobro ujema z vrednostjo lokalnega maksimuma T_2 . Zato smo mejo nabrekanja iz 1D-SPI profilov T_2 določili pri $T_2 = 2,7$ ms. Za tablete z vgrajeno ZU smo določili vrednost T_2 po istem principu (8). V primeru PF-ja je bila mejna vrednost $T_2 = 2,1$ ms.

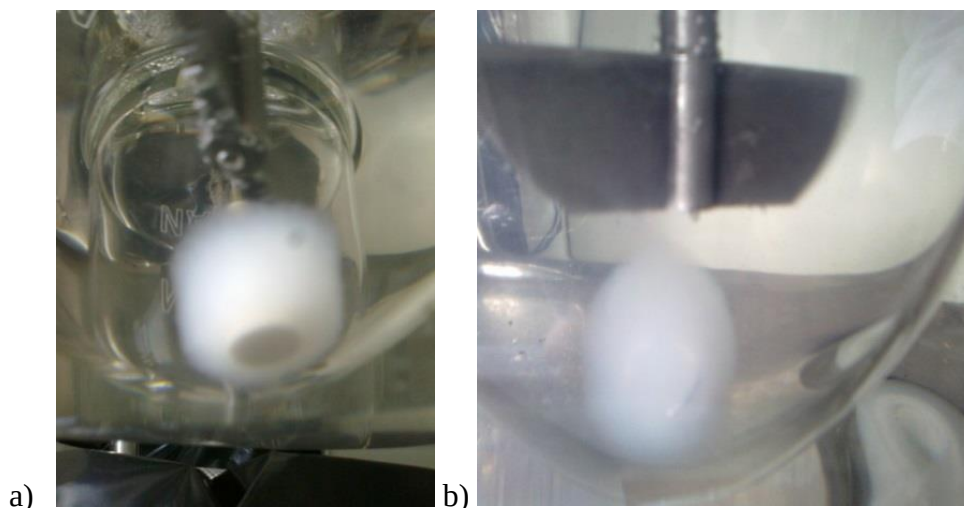
Na osnovi 1D-profilov smo lahko izračunali debelino gelske plasti nabrekajoče tablete v različnih medijih, in sicer kot razliko med erodirajočo mejo in mejo nabrekanja.

3.3.6 Preskus sproščanja za trdne farmacevtske oblike

Preskus sproščanja izvajamo za potrditev ustreznosti raztapljanja ZU iz trdne FO v skladu z monografijo FO (43). Uporabljamo ga tudi za ugotavljanje razlik med različnimi FO, med oblikami, ki niso bioekvivalentne, za simulacijo pogojev v gastrointestinalnem traktu in za napovedovanje dovolj zanesljivih podatkov za regulativo, kontrolo kakovosti in za napovedovanje korelacije *in vitro* – *in vivo* (5).

Preskus sproščanja smo izvajali na napravi II z vesli (Apparatus 2 – Paddle method po Ph. Eur. 7th) z avtomatskim vzorčevalnikom. V steklene posode predpisanih dimenzij smo nalili 900 ml medija in nastavili temperaturo na $37 \pm 0,5$ °C. Počakali smo, da se je medij segrel, nato pa smo dodali tablete. Hitrost mešanja smo nastavili na 50 obratov/minuto. Na igle za vzorčenje smo namestili 10-mikrometrске filtre. Določili smo časovne točke vzorčenja po 10 ml brez vračanja medija po vzorčenju, in sicer: 30 min, 1, 1¹/₅, 2, 4, 6, 8, 12, 18 ter 24 ur.

Ker ima naprava na dnu posode mrtvo cono in so se nam tablete pri prvem preskusu nalepile na dno, smo vnaprej uporabili žičke, v katere smo ovili tablete in tako omogočili, da je celotna tableta nabreknila in sprostila vso ZU (slika 18).



Slika 18: Tableta med sproščanjem a) brez žičke in zaščitena b) z žičko.

Vzorci smo analizirali na UV/VIS-spektrofotometru in nato preračunali koncentracijo sproščene ZU v časovnih intervalih iz umeritvenih premic, ki smo jih pripravili za vsak medij posebej. Metodo kvantifikacije smo izvajali pri valovni dolžini 274 nm.

Izdelava umeritvenih premic

Približno 20 mg PF-ja smo raztopili v 100 ml medija in tako dobili osnovno raztopino. Naredili smo dve paraleli za vsak medij. Da se je ZU popolnoma raztopila, smo postavili bučke za 10 minut še v ultrazvočno kadičko.

Iz osnovne raztopine smo nato z redčenjem (v ml) 1/50, 1/25, 1/20, 3/50, 1/10, 2/10 pripravili 6 raztopin standardov, jim izmerili absorbanco in preko Beer-Lambertovega zakona izračunali naklon umeritvene premice:

$$c = k \cdot A \Rightarrow k = \frac{c}{A} \quad [6]$$

kjer je c koncentracija raztopine standarda, k naklon umeritvene premice (ml/mg) in A absorbanca modelne ZU.

S pomočjo umeritvenih premic smo nato iz absorbanc za vzorce med preskusom sproščanja, izračunali koncentracijo ZU v vzorcu. Pri izračunu deleža sproščenega PF-ja smo upoštevali zmanjšanje volumna medija zaradi odvzetih vzorcev ter maso PF-ja v 10 ml vzorca kot:

$$V_n = V - (n \cdot V_{vz}) \quad [7]$$

kjer je V_n volumen medija po n -kratnem vzorčenju, V začetni volumen (900 ml), n število vzorčenj in V_{vz} volumen odvzetega vzorca (10 ml).

Nato smo preračunali maso sproščene ZU ob odvzetem vzorcu z enačbo:

$$m_n = c_n V_n + \sum_{n=1}^n c_n V_{vz} \quad [8]$$

kjer je m_n masa sproščene ZU ob odvzetem n -tem vzorcu in c_n koncentracija (mg/ml) sproščene ZU ob odvzetem n -tem vzorcu.

Da smo dobili delež sproščene ZU, smo uporabili enačbo:

$$x_n = 100 \cdot \frac{m_n}{m_0} \quad [9]$$

kjer je x_n delež sproščene ZU v odstotkih (%) in m_0 začetna masa ZU v tableti.

Rezultate hitrosti sproščanja ZU smo predstavili grafično kot odvisnost deleža sproščene ZU v odstotkih glede na čas.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 TOPNOST PENTOKSIFILINA V RAZLIČNIH MEDIJIH

Določevali smo maksimalno topnost PF-ja pri različnih pogojih:

- pri 23 °C v različnih medijih,
- pri 37 °C v različnih medijih,
- v različno koncentriranih disperzijah XAN-a pri 23 °C in 37 °C v vodi,
- v različno koncentriranih disperzijah XAN-a pri 23 °C in pri 37 °C v mediju s pH 1,2 in s standardnim dodatkom NaCl-a.

Tabela III: Maksimalna topnost PF-ja v različnih medijih pri 23 °C in 37 °C.

MEDIJ	TOPNOST (mg/ml), T = 23 °C	TOPNOST (mg/ml), T = 37 °C
Voda	49,23 - 52,61	191,13 - 298,96
Voda + NaCl	9,08 - 10,55	174,42 - 247,17
pH 1,2	55,90 - 59,51	219,79 - 308,24
pH 1,2 + NaCl	46,31 - 50,80	157,60 - 246,57
pH 3,0	55,43 - 58,85	135,00 - 243,57
pH 3,0 + NaCl	47,14 - 60,39	158,26 - 237,67
0,0005 % XAN v vodi	58,45 - 59,13	274,72 - 301,60
0,005 % XAN v vodi	60,40 - 61,19	316,68 - 376,24
0,05 % XAN v vodi	65,14 - 65,35	255,27 - 290,58
0,0005 % XAN v mediju HCl s pH 1,2 + NaCl	67,70 - 72,53	259,55 - 310,24
0,005 % XAN v mediju HCl s pH 1,2 + NaCl	66,71 - 80,45	292,54 - 332,46
0,05 % XAN v mediju HCl s pH 1,2 + NaCl	65,19 - 76,06	288,38 - 291,84

Glede na rezultate podane v tabeli III, lahko potrdimo, da ima **temperatura** pomembno vlogo pri določevanju topnosti ZU in jo je potrebno vedno navajati poleg vrednosti za

topnost ZU. PF je pri 37 °C vsaj štirikrat bolj topen kot pri 23 °C, kar smo tudi pričakovali. Podana vrednost za topnost v vodi pri 37 °C je 191 mg/ml (podatek je navedla Krka, d.d., na embalažo ZU), kar smo eksperimentalno povprečno tudi dokazali. Res pa je, da so se izmerjene vrednosti gibale v intervalu 176 - 223 mg/ml, kar lahko pripišemo temu, da že same brizge, s katerimi smo jemali vzorce iz erlenmajerice, nismo predhodno ogreli na želeno temperaturo. Možna je tudi adsorpcija na brizgo ali filter. Prav tako je vzorec določen čas izven uravnavane temperature med filtriranjem skozi filter, kjer lahko ZU precipitira. To se lahko zgodi tudi med merjenjem na UV/VIS-spektrofotometru.

PF je neionogena ZU, zato smo predvidevali, da **pH** nima vpliva na topnost. Tabelirani rezultati v medijih z različnim pH so našo domnevo le še potrdili.

Iz rezultatov, ki so podani v tabeli III lahko razberemo, da **NaCl** vpliva na topnost PF-ja predvsem pri 37 °C. Predvidevamo, da se okrog NaCl-a tvori vodni plašč oziroma se zmanjša količina vode za raztapljanje in kar ostane vode, je namenjena raztapljanju ZU. Iz rezultatov topnosti PF-ja pri 23 °C pa opazimo, da je razlika opazna le v vodi in v vodi z dodanim NaCl-om, manjša razlika je prisotna še v mediju s pH 1,2, v mediju s pH 3 pa je razlika znotraj napake meritve. Presenetilo nas je, da je določena maksimalna topnost ZU v vodi z dodanim NaCl-om kar petkrat nižja kot v vodi. Točne razlage temu pojavu zaenkrat še nismo našli, vendar pa lahko kot eno izmed možnih razlag, poleg povečane ionske moči in vpliva odtegotovanja vode v solvatne ovoje, podamo še spreminjanje dielektrične konstante medija. Literatura navaja, da je dielektrična konstanta odvisna od temperature (44). Hkrati pa smo ugotovili, da se dielektrična konstanta samega medija (vode) spremeni po dodatku NaCl-a. Po rezultatih Peiming Wanga in Andrzeja Anderka (45) je dielektrična konstanta vode višja kot vodne raztopine NaCl-a. Ker je dielektrična konstanta povezana s polarnostjo, lahko sklepamo, da se z nižjo dielektrično konstanto raztopine NaCl-a, zmanjša tudi polarnost medija. To pa bi lahko vplivalo na topnost PF-ja. Prav tako se vse ostale vrednosti med mediji brez in z dodanim NaCl-om razlikujejo, vendar pa razlike pri 23 °C niso tako očitne, da bi jim lahko pripisali enak pomen kot pri 37 °C. Pri 37 °C smo izmerili povečanje topnosti PF-ja v vodi in v mediju s pH 1,2 glede na medija z dodanim NaCl-om.

Da bi ovrednotili še vpliv **XAN-a** na topnost ZU, smo pripravili različno koncentrirane disperzije polimera v vodi in v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om. Vodo in medij s pH 1,2 z dodanim NaCl-om smo uporabili, ker se je med tema medijema vedno pojavljalo največ razlik v rezultatih. Dobili smo presenetljive rezultate, saj kažejo, da se maksimalna

topnost PF-ja poveča v disperziji XAN-a v obeh medijih pri 23 °C, medtem ko so pri 37 °C razlike manjše. Še zanimiveje pa je, da je pri vseh koncentracijah disperzij topnost približno enaka. To lahko pripišemo samemu postopku določevanja topnosti ali pa dejanski prisotnosti ksantana v mediju. Med samim postopkom smo imeli veliko težav pri filtriranju in tu je možnost napake. Ne izključujemo pa tudi možnosti, da so v ksantanu lahko prisotne kakšne primesi (lahko kot zaostanki pri pridobivanju surovine), ki vplivajo na povečano topnost ZU. Za določanje topnosti v disperziji XAN-a mogoče ta metoda ni najprimernejša, saj je preveč parametrov, ki bi jih morali kontrolirati.

Na podlagi proučevanja topnosti PF-ja tako lahko zaključimo:

- da je pri 37 °C maksimalna topnost PF-ja vsaj petkrat večja kot pri 25 °C;
- da je PF zelo dobro topna ZU;
- da na topnost PF-ja pH ne vpliva, dodatek NaCl-a pa znatno vpliva na topnost PF-ja;
- da je topnost PF-ja v vodi precej večja kot je topnost v vodi z dodanim NaCl-om;
- da ima dielektrična konstanta vodne raztopine NaCl-a (poleg povečane ionske moči in odtegotvanja vode v solvatne ovoje) precejšen vpliv na topnost PF-ja v primerjavi s topnostjo v vodi;
- da najverjetneje XAN vpliva na topnost ZU v disperzijah iz XAN-a in je tako ta nepričakovano visoka;
- da bo potrebna prilagoditev metode določevanja nasičene topnosti, saj so rezultati že med tremi paralelami zelo spremenjivi (velike napake);
- kot predlog v bodoče bi predlagali uporabo ultracentrifuge pri ločevanju XAN-a od medija ali pa kakšno drugo metodo ločevanja, kajti ravno ločevanje XAN-a od filtrata predstavlja pomemben problem.

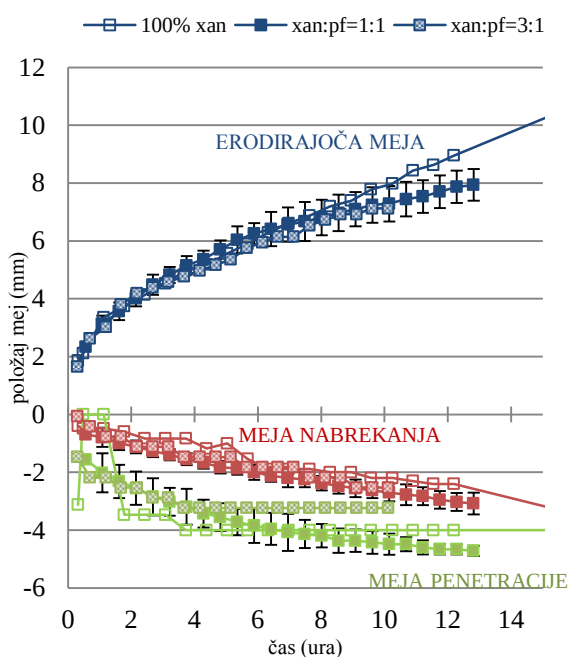
4.2 DEBELINA GELSKE PLASTI DOLOČENA S SLIKANJEM Z MR

Z MRI smo merili debelino gelske plasti med nabrekanjem različnih tablet na osnovi XAN-a:

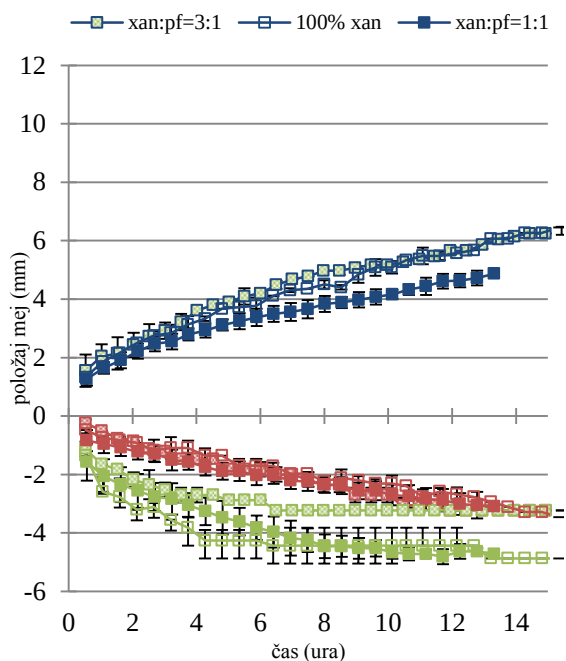
- pri tabletah iz 100 % XAN-a,
- pri 700-mg tabletah z razmerjem XAN : PF = 1 : 1,
- pri 400-mg tabletah z različnima razmerjema XAN : PF; in sicer XAN : PF = 1 : 1 in XAN : PF = 3 : 1.

Debelino gelske plasti nabreklih tablet smo ovrednotili iz intenzitet signala 1D-MR-profilov, in sicer iz razlik določenih erodirajočih mej in mej nabrekanja. Rezultati so podani za 700-mg tablete.

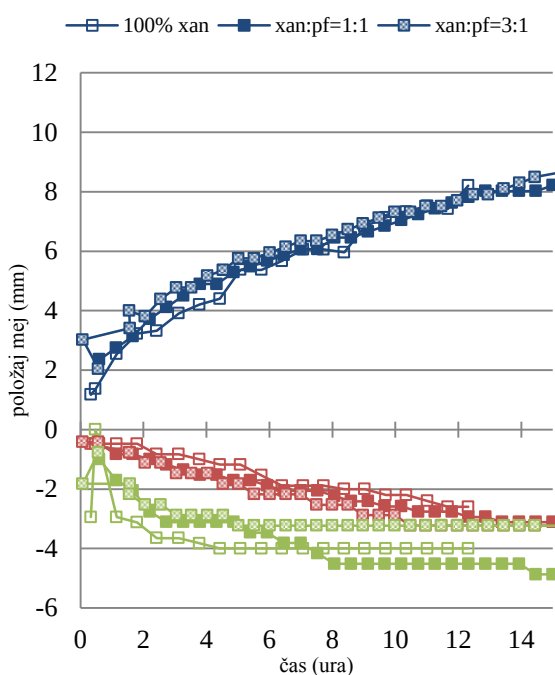
a) VODA



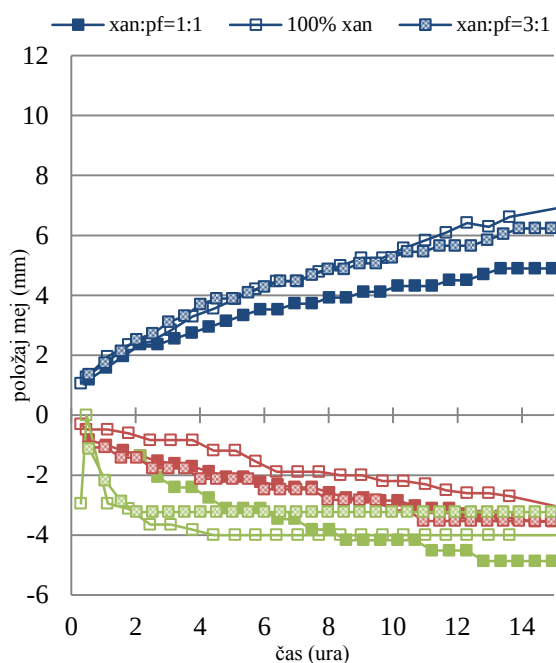
b) VODA + NaCl



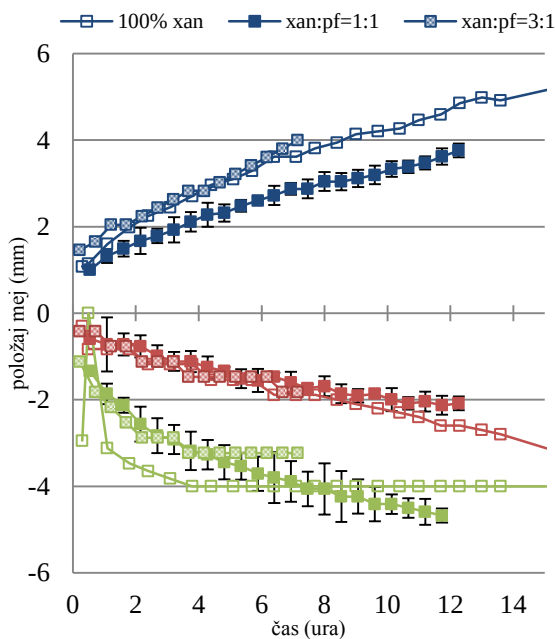
c) HCl pH 3



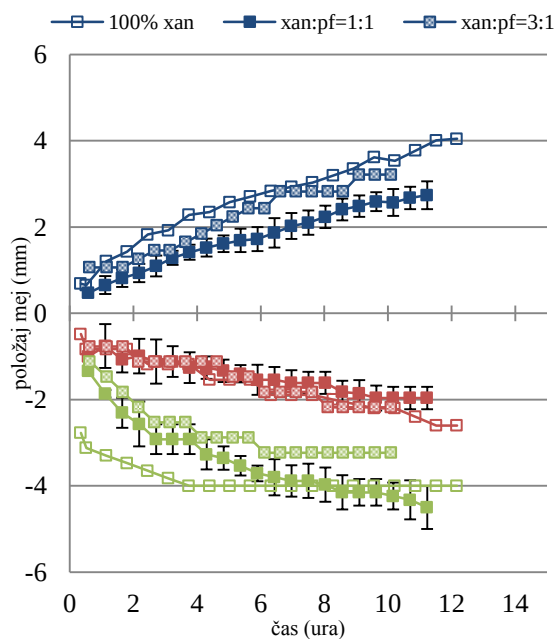
d) HCl pH 3 + NaCl



e) HCl pH 1,2

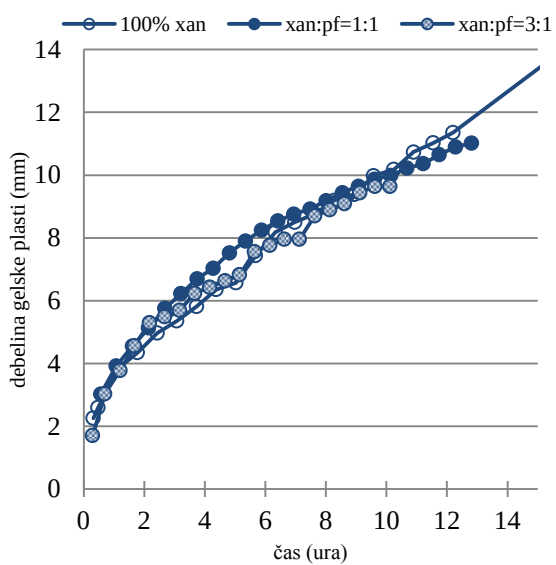
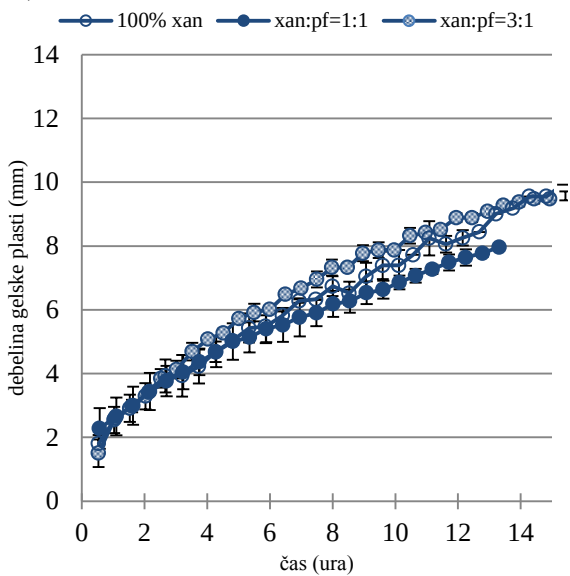
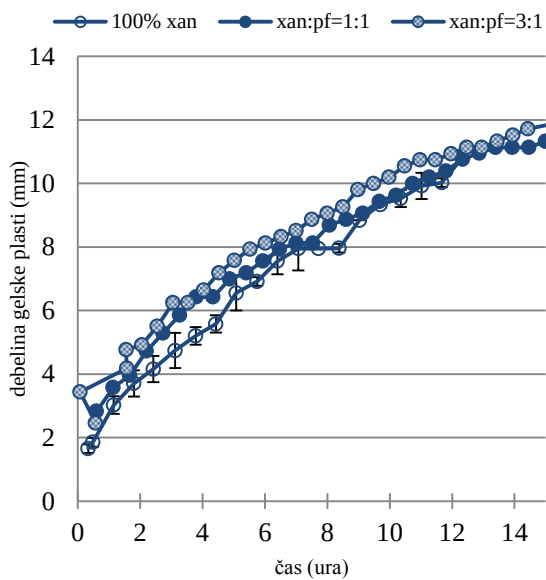
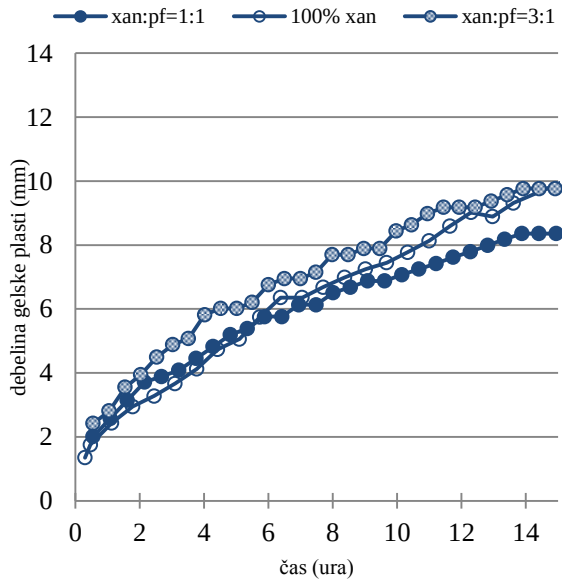


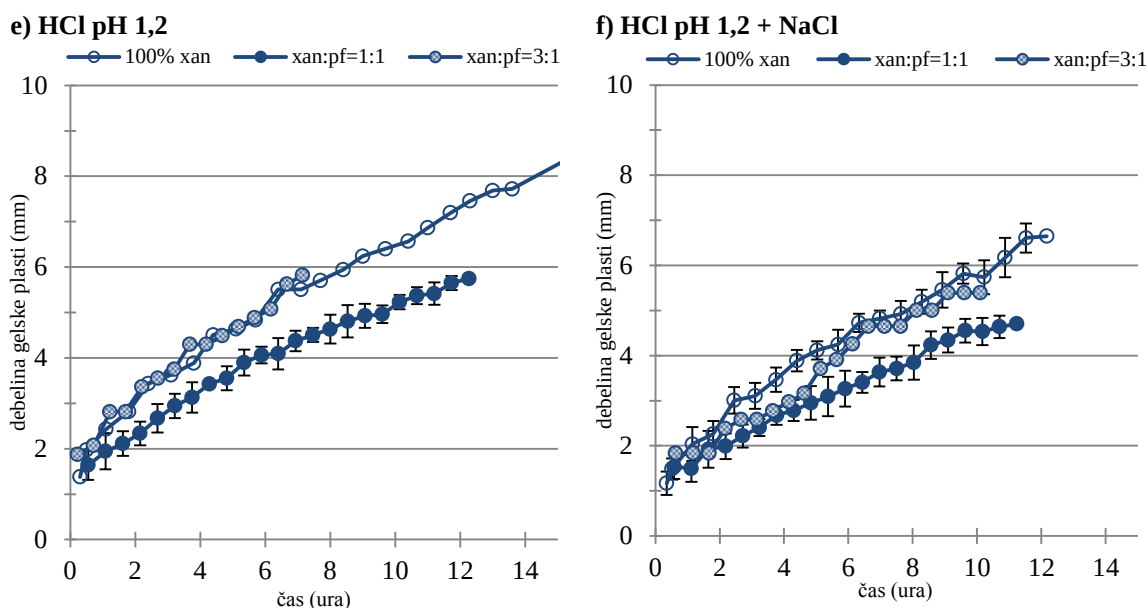
f) HCl pH 1,2 + NaCl



Slika 19: Primerjava tablet z različnim razmerjem XAN : PF – položaj mej v odvisnosti od časa v različnih medijih: a) voda, b) voda z dodanim NaCl-om, c) medij s pH 3, d) medij s pH 3 in dodanim NaCl-om, e) medij s pH 1,2 in f) medij s pH 1,2 in dodanim NaCl-om. Zelena barva predstavlja penetracijsko mejo, rdeča mejo nabrekanja in modra barva erodirajočo mejo. Prazen kvadratik ($\square$) predstavlja tablete iz 100 % XAN-a, kvadratik z vzorcem ($\square$) predstavlja tablete z razmerjem XAN : PF = 3 : 1 in poln kvadratik ($\blacksquare$) tablete z razmerjem XAN : PF = 1 : 1.

Iz grafov na sliki 19 je razvidno, da ni večjih razlik v meji nabrekanja (**rdeče krivulje**) med tabletami iz 100 % XAN-a in tabletami z različnim razmerjem XAN : PF. Medij le malo hitreje prodira v tableto iz 100 % XAN kot v tableto, v kateri je prisoten PF (glej mejo penetracije - **zelene krivulje**). Očitnejše razlike so opazne v legi erodirajoče meje (**modre krivulje**). Majhen delež PF-ja (tablete z razmerjem XAN : PF = 3 : 1) v nobenem mediju ne spremeni lege erodirajoče fronte. Tablete z razmerjem XAN : PF = 1 : 1 nabrekajo počasneje, razlike pa so odvisne od uporabljenih medijev. V vodi in v mediju s pH 3 PF ne vpliva na hitrost nabrekanja, medtem ko dodatek NaCl-a pri obeh medijih povzroči razliko v legi erodirajoče meje. Lega erodirajoče meje se v mediju s pH 1,2 spremeni že brez dodatka NaCl-a, dodatek NaCl-a v tem mediju pa bistveno manj vpliva na hitrost nabrekanja kot v primeru prejšnjih dveh medijev. Razlog bi lahko bil spremenljiva konformacija XAN-a in različna razporejenost verig zaradi NaCl-a. V mediju z visokim pH so XAN-ove kisle skupine (-COOH) ionizirane, to pa pomeni, da se NaCl lahko vrine med verige, medtem ko so v mediju s pH 1,2 omenjene kisle skupine na verigah XAN-a neionizirane in zato NaCl nima tako velikega vpliva.

a) VODA**b) VODA + NaCl****c) HCl pH 3****d) HCl pH 3 + NaCl**

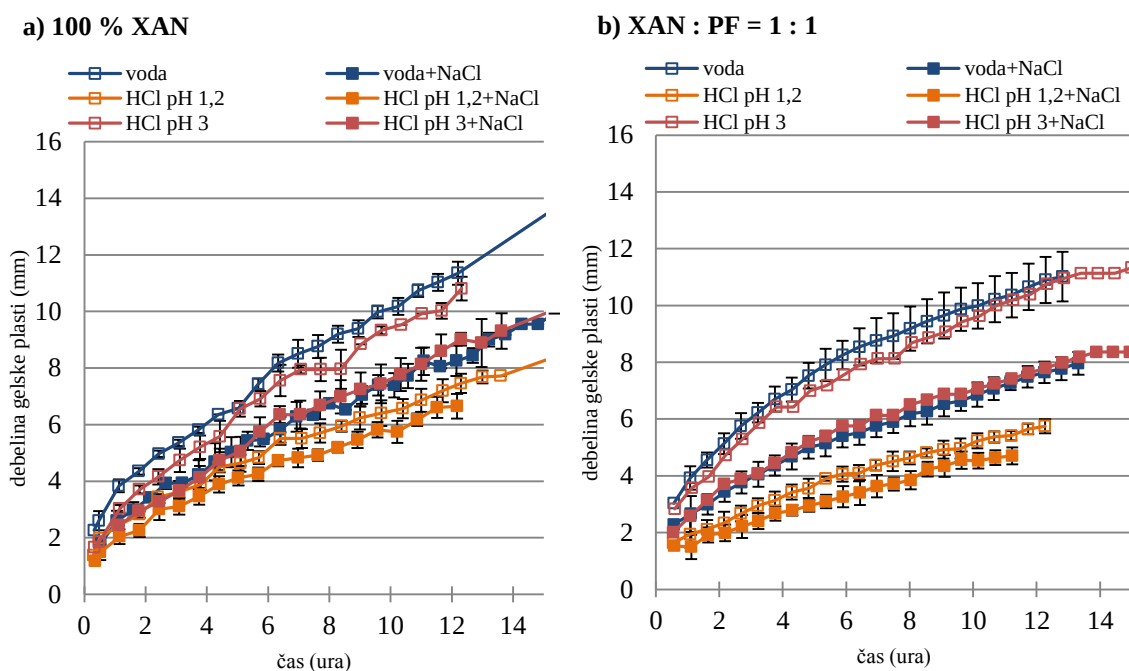


Slika 20: Odvisnost debeline gelske plasti od časa nabrekanja pri tabletah na osnovi XAN-a z različnim razmerjem XAN : PF v a) vodi, b) vodi z dodanim NaCl-om, c) mediju s pH 3, d) mediju s pH 3 in dodanim NaCl-om, e) mediju s pH 1,2 in v f) mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om. Prazen krog (○) predstavlja tablete iz 100 % XAN-a, krog z vzorcem (◐) predstavlja tablete z razmerjem XAN : PF = 3 : 1 in poln krog (●) tablete z razmerjem XAN : PF = 1 : 1.

Ker se lega meje nabrekanja ne spremeni z dodatkom modelne ZU, so razlike v **debeleni gelske plasti** oziroma učinek PF-ja enaki, kot so vplivi na erodirajočo mejo. Razlike v debeleni gelske plasti so prikazane na sliki 20.

Opazimo lahko, da se v vodi in v mediju s pH 3 debeline gelskih plasti med tabletami z različnim **razmerjem XAN : PF** praktično ne razlikujejo. Med tabletami iz 100 % XAN-a in tabletami z enakim razmerjem XAN-a in PF-ja, razlik v debeleni gelske plasti v teh medijih skoraj ni. Razlika pa se pojavi, ko dodamo medijema NaCl. V tem primeru se gelska plast nekoliko stanjša pri dovolj velikem deležu PF-ja (pri tabletah z razmerjem XAN : PF = 1 : 1), medtem ko je pri tabletah z manjšim deležem PF-ja (XAN : PF = 3 : 1) debelina gelske plasti enaka kot pri samem XAN-u. V mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om vidimo, da tablete malo počasneje nabrekajo (počasnejša rast debeline gelskih plasti) kot v samem mediju s pH 1,2. V medijih s pH 1,2 z in brez NaCl-a je prisotna razlika v debeleni gelskih plasti med tabletami, in sicer je opazna hitrejša rast debeline gelske plasti pri tabletah iz 100 % XAN v primerjavi s tabletami z enakim razmerjem XAN : PF oziroma pri tabletah, kjer je delež ZU 50 %. Tablete z razmerjem XAN : PF = 3 : 1 sledijo

trendu tablet iz 100 % XAN-a, in sicer v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om malo počasneje kot v mediju brez dodanega NaCl-a. Sklepamo, da je medij, ki je bil na voljo za nabrekanje iz ene strani tablete v obeh primerih penetriral do določene globine, verjetno pa je pri tabletah z enakim razmerjem XAN : PF na ta trend vplival PF, ki je bolj gosto razporejen kot pri tabletah z večjim deležem XAN-a, kjer je PF redkeje pomešan med molekule polimera. Večji delež XAN-a tako upočasnjuje penetracijo medija.



Slika 21: Odvisnost debeline gelske plasti od časa nabrekanja v različnih medijih za 700-mg tablete a) iz 100 % XAN-a in za tablete z razmerjem b) XAN : PF = 1 : 1. **Modre** krivulje predstavljajo vodo, **oranžne** medij s pH 1,2 in **rdeče** medij s pH 3,0. Prazen kvadrateg (□) pomeni sam medij, poln kvadrateg pa medij z dodanim NaCl-om (■).

Iz grafov na sliki 21 je razvidno, da v vseh primerih tablet nastane debelejša gelska plast v medijih brez dodatka NaCl-a. Opaznejše razlike v debelini gelske plasti so v **vodi** v primerjavi z vodno raztopino NaCl-a in v **mediju s pH 3** v primerjavi z omenjenim medijem z dodanim NaCl-om. V omenjenih medijih z dodanim NaCl-om je debelina gelske plasti tablet namreč znatno manjša v primerjavi z mediji brez dodanega NaCl-a. V **mediju s pH 1,2** se debelina gelskih plasti v odvisnosti od dodanega NaCl-a spremeni le malo – tanjši hidrogel nastane pri tabletah v mediju z dodanim NaCl-om (**oranžne krivulje**).

V vodi je debelina gelske plasti vseh tablet večja kot v mediju s pH 3, medtem ko po dodatku NaCl-a, dobimo v vodi malo tanjši gel kot v mediju s pH 3.

NaCl vpliva na debelino gelske plasti predvsem pri višjih pH-jih, najverjetnejši razlog pa je različna razporeditev verig XAN-a in izpostavljenost ioniziranih skupin NaCl-a, kajti pri pH 1,2 je XAN neioniziran in zato manj občutljiv na dodatek NaCl-a.

Iz prikazanih grafov na sliki 21 lahko primerjamo tudi vpliv **PF**-ja na debelino gelske plasti. Debelina gelske plasti je pri tabletah iz 100 % XAN-a primerljivejša med mediji kot pri tabletah z vgrajenim PF-jem. Pri tabletah z vgrajeno modelno ZU vidimo, da je nabrekanje na začetku hitrejše v vseh medijih, nato pa se v vodi in v mediju s pH 3 približno izenači. Manjšo razliko v debelini gelskih plasti sicer opazimo v medijih z dodanim NaCl-om, kjer je gelska plast na površini tablet z razmerjem XAN : PF = 1 : 1 tanjša kot pri tabletah iz samega XAN-a. V mediju s pH 1,2 (enako v omenjenem mediju z dodanim NaCl-om) pa opazimo očitnejšo razliko v debelini gelskih plasti med tabletami, in sicer je ta pri tabletah z vgrajeno ZU očitno manjša kot pri tabletah iz 100 % XAN-a. Torej PF vpliva na debelino gelske plasti kot smo predvideli že prej, vendar mora biti v tableti v zadostnem deležu kot v tem primeru (XAN : PF = 1 : 1).

V vodi nastane pri vseh tabletah **najdebelejši** hidrogel, medtem ko v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om nastane pri vseh tabletah **najtanjši** hidrogel. NaCl vpliva na debelino hidrogela v vodi in v mediju s pH 3, medtem ko je vpliv NaCl-a v mediju s pH 1,2, kot kažejo meritve, bistveno manjši. Razlog za to je najverjetneje različna konformacija XAN-a pri različnih pH-jih in njegova anionska lastnost. Prav tako na debelino gelske plasti pri tabletah vpliva vgrajena ZU v zadostnem deležu. Na začetku PF vpliva na hitrost nabrekanja ZU v vseh medijih, nato pa je najbolj očiten vpliv v mediju s pH 1,2 z in brez dodanega NaCl-a, kjer je pri tabletah z vgrajeno ZU gelska plast precej tanjša kot pri tabletah iz 100 % XAN-a.

Na podlagi slikanja z MR torej lahko zaključimo:

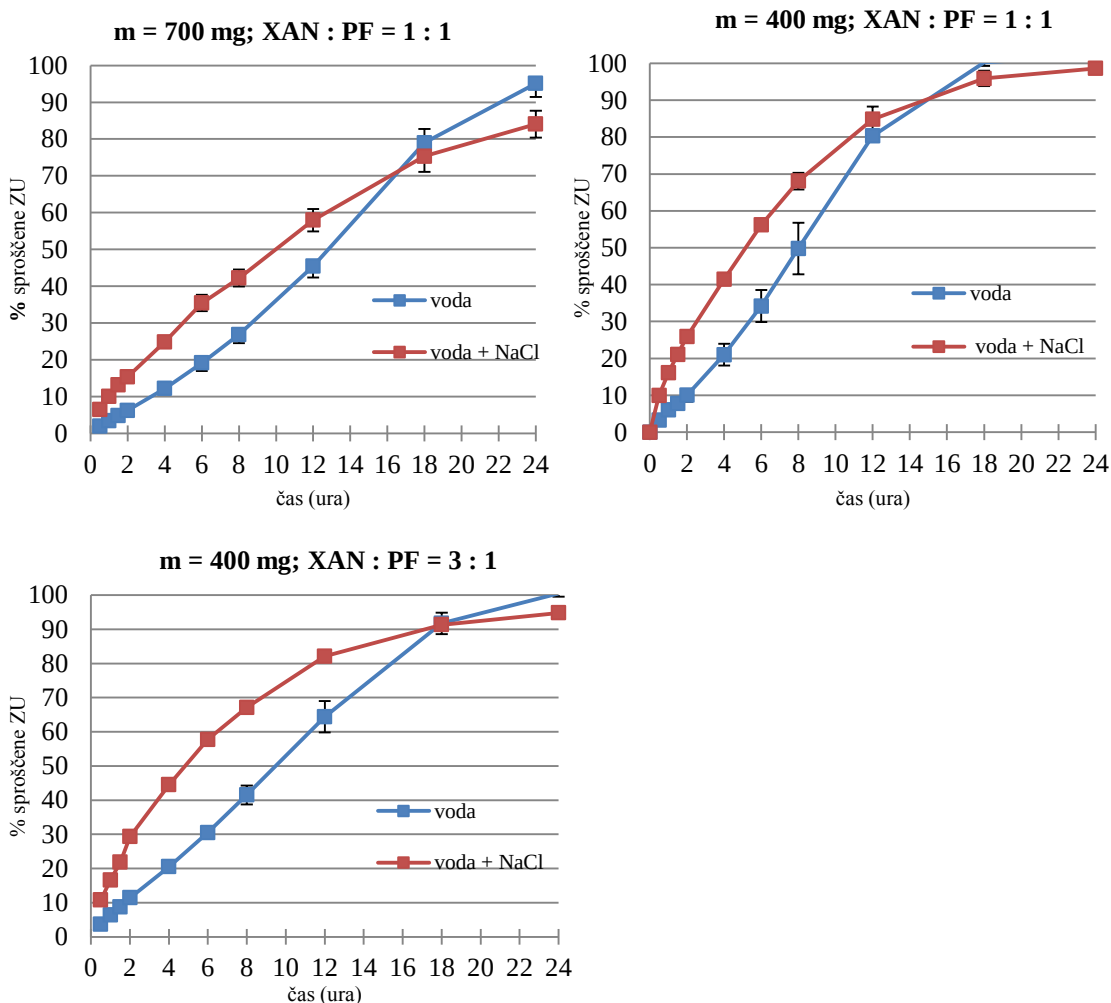
- da se debelina gelske plasti spreminja v odvisnosti od uporabljenega medija in tudi v odvisnosti od razmerja XAN : PF – najdebelejša gelska plast nastane v vodi in najtanjša v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om;

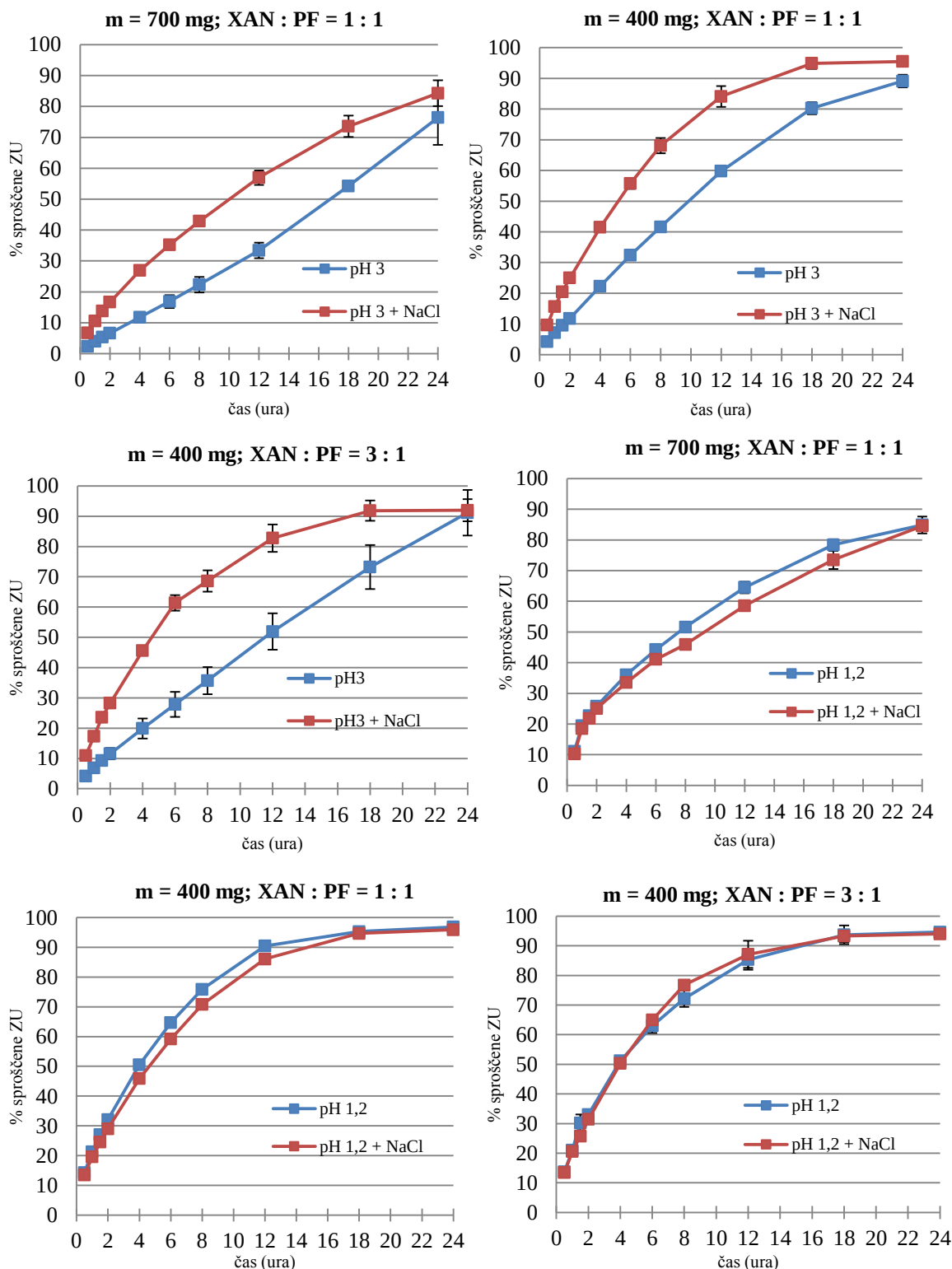
- v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om je debelina gelske plasti vseh tablet na osnovi XAN-a najtanjša, ne glede na razmerje XAN : PF, saj so verige XAN-a v urejenem stanju, v obliki dvojne vijačnice in kisle skupine so neionizirane;
- v vodi in v mediju s pH 3 je gelska plast najdebelejša, med seboj sta debelini gelskih plasti primerljivi, razlog za to so verige XAN-a, saj so pri višjih pH kisle skupine ionizirane in je tako večji elektrostatski odboj med njimi;
- da NaCl vpliva na debelino gelske plasti v vodi in v mediju s pH 3 – pride do senčenja negativnih nabojev, prevlada odboj med verigami XAN-a; v mediju s pH 1,2 dodatek NaCl-a bistveno manj vpliva na debelino gelske plasti;
- da ZU vpliva na debelino gelske plasti na površini tablet samo pri dovolj velikem deležu v tableti, in sicer v medijih z nizkim pH oziroma visoko ionsko močjo. Tako je v mediju s pH 1,2 z in brez dodanega NaCl-a opazna razlika med tabletami na osnovi XAN-a, in sicer je najhitrejši trend nabrekanja pri tabletah iz 100 % XAN-a ter pri tabletah z razmerjem XAN : PF = 3 : 1, medtem ko je trend naraščanja debeline najpočasnejši, hkrati pa je končna debelina gelske plasti pri tabletah z enakim razmerjem XAN : PF najmanjša. Vpliv ZU na debelino gelske plasti je v vodi in v mediju s pH 3 ter dodanim NaCl-om podoben, vendar so razlike manjše, medtem ko v vodi in v mediju s pH 3 brez dodanega NaCl-a ZU tudi pri tabletah z enakim razmerjem XAN : PF ne vpliva na debelino gelske plasti (debelina gelske plasti je enaka za vse tri vrste tablet).

4.3 PRESKUS SPROŠČANJA PENTOKSIFILINA IZ TABLET NA OSNOVI KSANTANA

Delali smo preskus sproščanja PF-ja v različnih medijih iz tablet na osnovi XAN-a, in sicer iz:

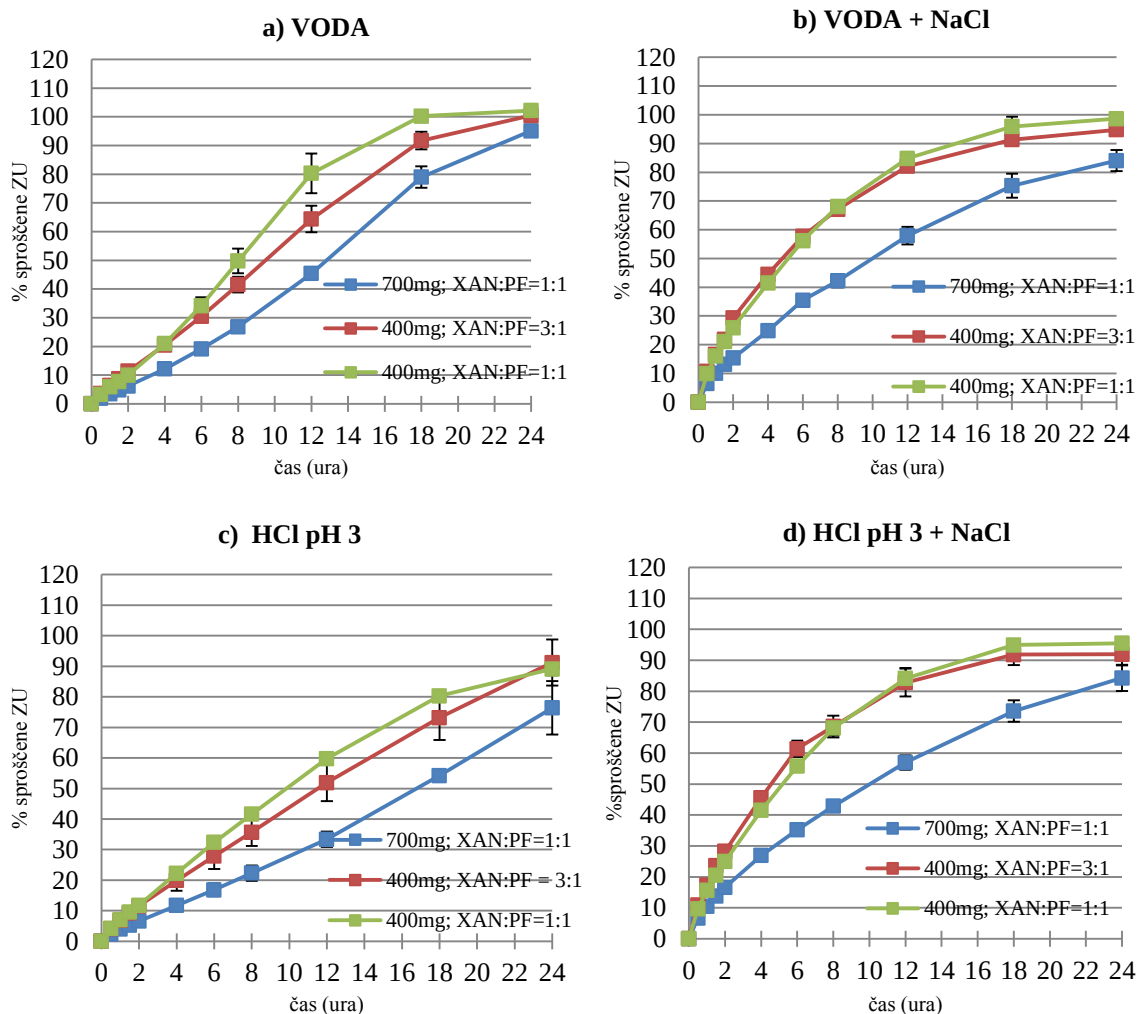
- 400-mg in 700-mg ogrodnih tablet z različnim razmerjem XAN : PF v medijih z različnim pH-jem,
- 400-mg in 700-mg ogrodnih tablet z različnim razmerjem XAN : PF v medijih z različnim pH-jem s standardnim dodatkom NaCl-om.

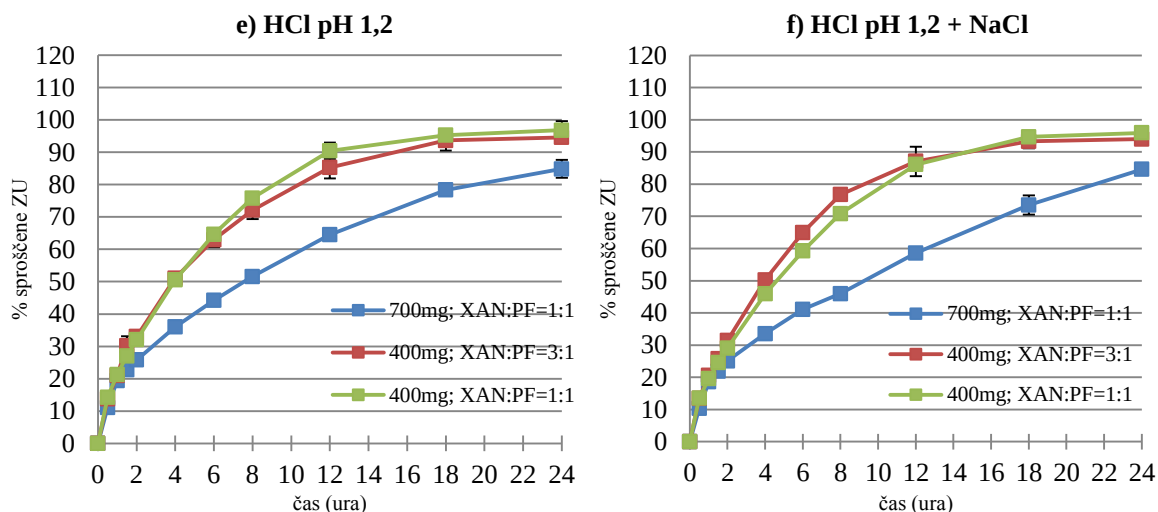




Slika 22. Odstotek sproščenega PF-ja v odvisnosti od časa iz tablet z različnimi masami (400 mg in 700 mg) in razmerjem XAN : PF (3 : 1 in 1 : 1) v medijih brez in z dodanim NaCl-om. **Modre** krivulje predstavljajo različne medije, **rdeče** krivulje pa predstavljajo te medije z dodanim NaCl-om.

Spremembo trenda sproščanja v medijih z in brez dodanega **NaCl**-a opazimo na grafih na sliki 22. Sproščanje iz vseh tablet v vseh medijih z dodanim NaCl-om je hitrejšje. Najbolj opazna razlika je pri trendu sproščanja v vodi in v mediju s pH 3, medtem ko je v mediju s pH 1,2 ta razlika skoraj nepomembna, saj sta trenda sproščanja v mediju s pH 1,2 z in brez NaCl-a skoraj enaka (**rdeča** in **modra** krivulja na grafih se skoraj prekrivata). Prav tako opazimo, da se po 24 urah sprosti pri **tabletah z višjo maso** nižji **odstotek** vgrajene ZU kot pri tabletah z nižjo maso in enakim razmerjem XAN : PF.



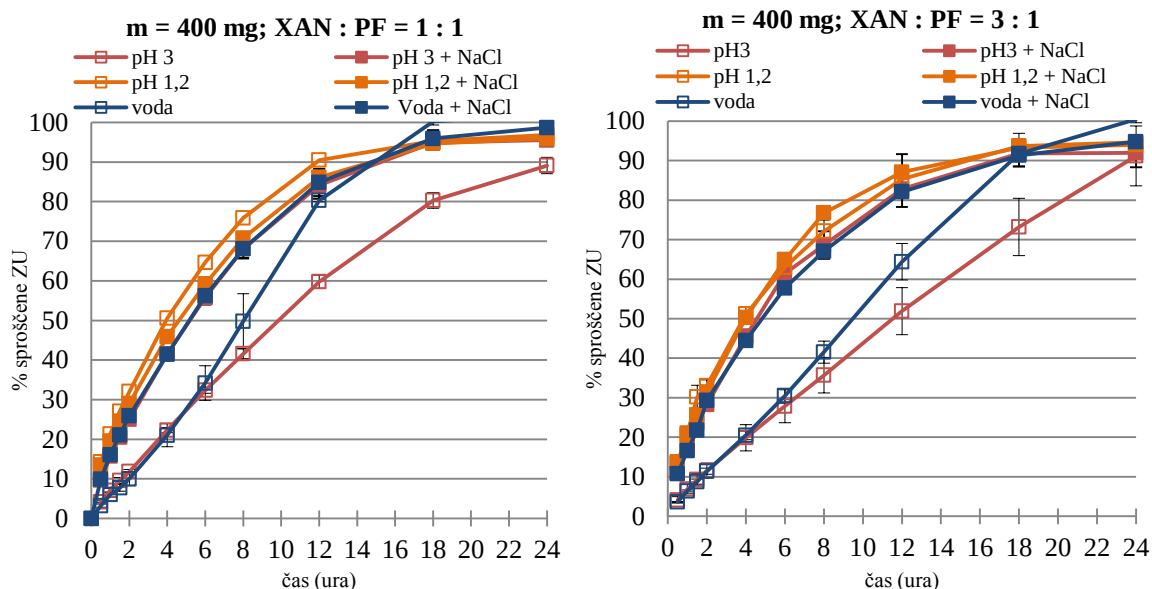


Slika 23: Odstotek sproščenega PF-ja v odvisnosti od časa iz tablet na osnovi XAN-a v a) vodi, b) vodi z dodanim NaCl-om, c) mediju s pH 3, v d) mediju s pH 3 in dodanim NaCl-om, e) mediju s pH 1,2 in v f) mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om. **Modra** krivulja predstavlja 700-mg tablete z razmerjem XAN : PF = 1 : 1, **zelená** predstavlja 400-mg tablete z enakim razmerjem XAN : PF in **rdeča** krivulja predstavlja 400-mg tablete z razmerje XAN : PF = 3 : 1.

Iz pregleda predstavljenih grafov na sliki 23 lahko potrdimo predvidevanja, da povišana **ionska moč** vpliva na sproščanje iz tablet na osnovi XAN-a. Vpliv NaCl-a je najmanjši v mediju s pH 1,2. Najbolj razvidna je razlika v **hitrosti sproščenega PF-ja v odstotkih** med tabletami z različnimi masami in enakim razmerjem XAN : PF v vseh medijih.

Pri tabletah z višjo **maso** je sproščanje počasnejše, prav tako se v 24 urah sprosti nižji odstotek vgrajene ZU kot pri tabletah z nižjo maso. Ta razlika je očitnejša kot razlika v sproščanju pri tabletah z enako maso, a različnim **razmerjem XAN : PF**.

V vodi in v **mediju** s pH 3 je sproščanje PF-ja iz tablet z manjšo maso z razmerjem XAN : PF = 1 : 1 hitrejše kot pri teh tabletah z razmerjem XAN : PF = 3 : 1. Predvidevamo lahko, da je pri tabletah z enakim razmerjem polimera in ZU hidrogelska plast bolj razredčena kot pri tabletah z večjim deležem XAN-a v tableti. To bi lahko omogočilo ZU lažji, s tem pa tudi hitrejši prehod skozi hidrogel.



Slika 24: Primerjava odstotkov sproščene ZU v odvisnosti od časa v različnih medijih med 400-mg tabletami z razmerjem XAN : PF = 3 : 1 in 400-mg tabletami (za 700-mg velja enak trend) z razmerjem XAN : PF = 1 : 1. **Modre** krivulje predstavljajo vodo kot medij, **oranžne** krivulje predstavljajo medij s pH 1,2 in **rdeče** krivulje medij s pH 3. Prazen kvadratik (□) pomeni medij brez dodanega NaCl-a, poln kvadratik (■) pa medij z dodanim NaCl-om.

V mediju s **pH 1,2** je sproščanje ZU iz vseh tablet najhitrejše in v **vodi** je sproščanje PF-ja iz vseh tablet najpočasnejše, kar je bilo pričakovati zaradi polielektrolitske narave XAN-a. XAN je anionski polisaharid, ki nabreka in tvori čvrst hidrogel ter tako omogoči podaljšano sproščanje ZU iz ogrodnih tablet, na vse to pa vplivajo tudi različni mediji.

Iz rezultatov preskusa sproščanja vidimo, da na sproščanje PF-ja vpliva tudi **dodatek NaCl-a mediju**, in sicer predvsem v vodi, saj je tu opazna največja razlika. Tudi v mediju s pH 3 in dodanim NaCl-om je razlika precej očitna, medtem ko v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om, ta razlika ni pomembna. V prisotnosti NaCl-a je torej manjša možnost nabrekanja in poteka hitrejše sproščanje ZU iz tablet na osnovi XAN-a.

Ugotovili smo, da je pri povišani ionski moči in v mediju s pH 1,2 sproščanje modelne ZU iz ogrodnih tablet na osnovi XAN-a hitrejše, saj je ta v nativni konformaciji in tvori tanjšo gelsko plast, s tem pa krajšo difuzijsko pot za ZU, ki tako lahko hitreje difundira skozi hidrogel. V mediju s pH 3 in v vodi ter pri nižji ionski moči se ZU počasneje sprošča, saj se tvori debelejša gelska plast, s tem pa je daljša tudi difuzijska pot. Delež sproščene ZU glede na vsebnost v tabletah je v 24 urah v vseh primerih primerljiv.

Na podlagi sproščanja ZU iz tablet na osnovi XAN-a lahko zaključimo:

- da je hitrost sproščanja ZU odvisna od mase tablete, od razmerja XAN : PF v tableti in od uporabljenega medija;
- da na sproščanje iz tablet na osnovi XAN-a vpliva dodatek NaCl-a (povišana ionska moč), in sicer največji učinek ima v vodi ter v mediju s pH 3. Predvidevamo, da se natrijevi ioni vežejo na izpostavljena ionizirana področja in omilijo odboj med verigami;
- da če primerjamo odstotek sproščene ZU, je sproščanje ZU pri tabletah manjših mas hitrejše in se sprostí višji odstotek vgrajene ZU kot pri tabletah z večjimi masami. Višji odstotek sproščene ZU pri tabletah manjših mas pripisujemo vplivu erozije polimera, ki poteka hitreje, ker je razmerje med maso in volumnom teh tablet manjše in se tableta hitreje omoči;
- da se pri tabletah z enakim razmerjem XAN : PF hidrogelska plast bolj razredči, ker je prisotnega manj XAN-a kot pri tabletah s trikrat večjim deležem XAN-a. S tem ima ZU olajšano pot skozi hidrogel pri bolj razredčeni hidrogelski plasti in je zato sproščanje PF-ja hitrejše;
- da je v medijih s pH 3 in v vodi sproščanje ZU iz vseh tablet najpočasnejše, kar se ujema s predvidevanji meritev debeline gelske plasti, saj so ravno v teh medijih debeline največje;
- da je v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om sproščanje ZU iz vseh tablet najhitrejše, kar smo prav tako pričakovali, saj je debelina gelske plasti v tem mediju najmanjša;
- da je delež sproščene ZU v medijih s pH 3 in s pH 1,2 z in brez dodanega NaCl-a praktično enak za tablete z razmerjem XAN : PF = 1 : 1 in XAN : PF = 3 : 1, gelska plast pa je pri tabletah z enakim razmerjem XAN : PF tanjša, kar je v nasprotju s pričakovanji.

Da bi preverili povezavo rezultatov meritev debeline gelske plasti in preskusa sproščanja PF-ja, smo v različnih časovnih točkah (po 2, 4, 8 in 12 urah) združili rezultate in jih med seboj primerjali. Ugotovili smo, da so do 12 ur rezultati podobni v vseh časovnih točkah.

Tabela IV: Primerjava rezultatov sproščanja PF-ja in debeline gelskih plasti tablet na osnovi XAN-a po 8h.

MEDIJ	TABLETA	% SPROŠČENE ZU	MASA SPROŠČENE ZU (mg)	DEBELINA GELSKE PLASTI (mm)
H₂O	400 mg 1 : 1 (200 mg PF)	50	100	9,2
	700 mg 1 : 1 (350 mg PF)	27	94,5	9,2
	400 mg 3 : 1 (100 mg PF)	42	42	8,9
H₂O + NaCl	400 mg 1 : 1 (200 mg PF)	68	136	6,2
	700 mg 1 : 1 (350 mg PF)	42	147	6,2
	400 mg 3 : 1 (100 mg PF)	67	67	7,3
pH 3,0	400 mg 1 : 1 (200 mg PF)	42	84	8,7
	700 mg 1 : 1 (350 mg PF)	22	77	8,7
	400 mg 3 : 1 (100 mg PF)	36	36	9,1
pH 3,0 + NaCl	400 mg 1 : 1 (200 mg PF)	68	136	6,7
	700 mg 1 : 1 (350 mg PF)	43	150,5	6,7
	400 mg 3 : 1 (100 mg PF)	69	69	7,7
pH 1,2	400 mg 1 : 1 (200 mg PF)	76	152	4,6
	700 mg 1 : 1 (350 mg PF)	52	182	4,6
	400 mg 3 : 1 (100 mg PF)	72	72	5,8
pH 1,2 + NaCl	400 mg 1 : 1 (200 mg PF)	71	142	3,8
	700 mg 1 : 1 (350 mg PF)	46	161	3,8
	400 mg 3 : 1 (100 mg PF)	77	77	5

Pregledali smo posamezne parametre v tabeli IV in razčlenili na vpliv NaCl-a, vpliv medija, vpliv začetne mase tablet in nenazadnje vpliv razmerja XAN : PF na obnašanje tablet med slikanjem z MR in med sproščanjem ZU iz teh tablet.

Vpliv NaCl (medij in medij z dodanim NaCl): voda in medij s pH 3: po dodatku NaCl-a se tvori *tanjša* gelska plast in se sprosti *več* PF-ja; medij s pH 1,2: po dodatku NaCl-a se tvori malenkost *tanjši* hidrogel, sprosti pa se malenkost *manj* PF-ja.

Vpliv začetne debeline/mase tablet (primerjava tablet z razmerjem $XAN : PF = 1 : 1$): v vodi in v mediju s pH 3 se sprosti približno *enaka* masa ZU iz 400-mg in 700-mg tablet, kar smo tudi pričakovali zaradi enake debeline gelske plasti; medij s pH 1,2 in vsi mediji z dodanim NaCl-om: pri 700-mg tabletah se sprosti *večja* masa PF-ja kot pri 400-mg tabletah, čeprav je debelina gelske plasti *enaka* pri obeh tabletah.

Vpliv medija (tablete z enako debelino gelske plasti v posameznem mediju): voda in medij s pH 3: v mediju s pH 3 se sprosti malenkost *manjša* masa PF-ja kot v vodi, po dodatku NaCl-a pa se sprosti približno *enaka* masa PF-ja v obeh medijih.

Vpliv razmerja $XAN : PF$: iz tablet z razmerjem $XAN : PF = 1 : 1$ se v mediju s pH 1,2 sprosti *večja* masa PF-ja kot v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl. Iz tablet z razmerjem $XAN : PF = 3 : 1$ pa se sprosti malenkost večja masa PF-ja v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om. Hidrogel je v obeh primerih *tanjši* v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om. V mediju s pH 3 se iz vseh tablet z vgrajeno ZU sprosti manjša masa ZU kot v vodi. V vodi je debelina gelske plasti pri teh tabletah približno *enaka*, v ostalih medijih pa je debelina gelske plasti pri tabletah z razmerjem $XAN : PF = 3 : 1$ *večja* kot pri tabletah z razmerjem $XAN : PF = 1 : 1$.

Na podlagi zaključkov posameznih rezultatov smo ugotovili:

- da je PF najbolj topen pri 37 °C v vodi, kjer je gelska plast najdebelejša in sproščanje ZU iz vseh tablet na osnovi XAN-a najpočasnejše;
- da PF vpliva na debelino gelske plasti pri zadostnem deležu PF-ja v tableti, vendar pa je vpliv odvisen tudi od lastnosti medija;
- da najdebelejši hidrogel pomeni najdaljšo difuzijsko pot ZU in posledično tudi daljši čas sproščanja, vendar pa rezultati preskusa sproščanja kažejo, da če primerjamo odstotke sproščene ZU, je pri tabletah z nižjo maso tablet sproščanje hitreje kot pri tabletah z večjo maso, pomembna tudi konsistenca gela. Sklepamo,

da je hidrogel pri tabletah z nižjo maso bolj razredčen in zato ZU lažje prodre skozi hidrogel;

- predvidevali smo, da bo sproščanje iz tablet z isto maso, a večjim deležem XAN-a potekalo počasneje zaradi tvorbe debelejšega hidrogela, vendar nam rezultati preskusa sproščanja tega niso potrdili, kajti sproščanje ZU je bilo hitrejše iz tablet z enakim razmerjem XAN : PF – sklepamo, da so XAN-ove verige bolj razredčene in ima tako ZU olajšano pot skozi hidrogel;
- predvidevali smo, da se pri tabletah z večjo maso tvori debelejši hidrogel, vendar iz meritev debeline gela (delali smo na 700-mg in 1000-mg tabletah z razmerjem XAN : PF = 1 : 1) vidimo, da v prvih 15 urah namakanja to ni res, kajti v tem času dobimo pri vseh tabletah enako debelo gelsko plast. Je pa res, da meja nabrekanja v tem času pri tabletah velikih mas in večje začetne debeline ne pride do spodnjega roba tablet. To velja pri slikanju z MR, kjer smo gledali le eno stran tablete, med preskusom sproščanja pa je situacija drugačna, saj je večji volumen tablete izpostavljen mediju, zato pri tabletah večjih mas nastane debelejši hidrogel, tako pa je tudi pot difuzije ZU daljša;
- debelina gelske plasti je v vodi pri vseh tabletah največja in v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om je hidrogel najtanjši;
- največja sprememba v debelini gelske plasti je po dodatku NaCl-a vodi, najmanjša razlika v debelini gelske plasti pa je v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om napram mediju s pH 1,2;
- kljub debelejši gelski plasti v vodi napram mediju s pH 3, se sprosti manj ZU v mediju s pH 3, kjer je gelska plast malo tanjša. To nakazuje, da je pri sproščanju ZU pomembna tudi konsistenca hidrogela;
- medij s pH 1,2 vpliva na sproščanje ZU iz tablet z enako maso (400 mg) in različnim razmerjem XAN : PF, in sicer se pri razmerju XAN : PF = 1 : 1 v mediju s pH 1,2 brez dodanega NaCl-a sprosti več PF-ja kot v mediju s pH 1,2 z dodanim NaCl-om. Ravno obratno pa je pri razmerju XAN : PF = 3 : 1, saj se iz tablet sprosti malenkost več ZU v mediju s pH 1,2 in dodanim NaCl-om.

5 SKLEPI

Na podlagi opravljenega eksperimentalnega dela lahko sklepamo, da topnost PF-ja in debelina gelske plasti vplivata na sproščanje ZU iz tablet na osnovi XAN-a, in sicer je topnost ZU pomemben dejavnik že zato, ker vemo, da se v primeru dobro topne ZU ta sprošča prevladujoč z difuzijo, pri slabo topni ZU pa prevladuje kot omejujoč dejavnik erozija. Vemo pa tudi, da oba dejavnika vedno potekala hkrati.

Od debeline gelske plasti je odvisna difuzijska pot učinkovine in posledično tudi čas sproščanja, vendar pa je izrednega pomena tudi konsistenca samega hidrogela. Ko je ta bolj razredčen, se ZU lažje prebije skozi hidrogel in je tako sproščanje hitrejša, sprosti se večja masa PF-ja, medtem ko če je hidrogel gost/čvrst, ZU težje najde pot skozi verige XAN-a in je zato sproščanje počasnejše, sprosti se manjša masa PF-ja.

Omeniti je treba, da so poskusi določanja debeline gelske plasti in sproščanja ZU potekali pri različnih pogojih. Debelino gelske plasti smo merili s slikanjem z MR, kjer smo opazovali hidratacijo tablete samo na eni strani tablete, poleg tega pa je tableta mirovala. Zato je bil dejavnik erozije skoraj nepomemben. Pri meritvah sproščanja ZU pa je bil medij v stiku s tableto iz vseh strani, poleg tega pa je tableta v sistemu z gibanjem medija, zaradi česar predstavlja erozija precejšen dejavnik. To je gotovo problem pri majhnih tabletah, kjer nam bo pri preskusu sproščanja tableta takoj razpadla zaradi erozije, pri meritvah MRI pa bomo določili enake meje kot pri večjih tabletah. Zaradi različne postavitve MRI-eksperimenta in preskusa sproščanja, je vpliv erozije različen. Zato je rezultate težko primerjati.

Da bi lahko direktno primerjali rezultate slikanja z MR z meritvami sproščanja, bi morali ali sproščanje izvesti brez vpliva gibanja (mešanja medija z vesli) in tableto samo postaviti na dno medija ter pustiti nabrekati brez vesel, ali pa slikanju z MR dodati vpliv gibanja kot pri preskusu sproščanja.

6 LITERATURA

- 1 Pavli M: Načrtovanje, izdelava in vrednotenje ogrodnih tablet s prirejenim sproščanjem na osnovi naravnih polimerov. Doktorska disertacija. Univerza v Ljubljani. Fakulteta za farmacijo, 2010.
- 2 Formularium Slovenicum. Slovenski dodatek k evropski farmakopeji. Tretja izdaja, 2011.
- 3 European Pharmacopeia 7th Edition, poglavje Dosage forms – Tablets, EDQM Strasbourg 2011; vol 1: 738.
- 4 Wen H, Park K: Oral controlled Release Formulation Design and Drug Delivery. Theory to Practice. Wiley and Sons, Inc., USA 2010: 89-91.
- 5 Baumgartner S: Vpliv gibanja prebavnega trakta na potovanje farmacevtskih oblik in absorpcijo učinkovin. Farmacevtski vestnik 2003; 54: 573-581.
- 6 Lowman AM, Peppas NA: Hydrogels. Encyclopedia of Controlled Drug Delivery. Wiley, New York 2000: 397-417.
- 7 Flajšman H: Proučevanje nabrekanja tablet iz ksantana z oscilacijsko reometrijo in magnetnim resonančnim slikanjem. Diplomska naloga. Univerza v Ljubljani. Fakulteta za farmacijo, 2009.
- 8 Mikac U, Sepe A, Kristl J, Baumgartner S: A new approach combining different MRI methods to provide detailed view on swelling dynamics of xanthan tablets influencing drug release at different pH and ionic strength. Journal of Controlled Release 2010; 14: 247-256.
- 9 Kozjek M: Proučevanje sproščanja hidrofilne učinkovine iz hidrofilnih in lipofilnih ogrodnih tablet. Diplomska naloga. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, 2007.
- 10 Dabagh MA, Ford JL, Rubinstein MH, Hogan JE: Effects of the polymer particle size, compaction pressure and hydrophilic polymers on drug release from matrices containing ethylcellulose. Int. J. Pharm. 1996; 140: 85-95.
- 11 Colombo P, et al: Swellable matrices for Controlled Drug Delivery: gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance. Pharmaceutical Science and Technology Today 2010; 3(6): 198-204.

- 12 Colombo P, Bettini R, Peppas PA: Observation of swelling process and diffusion front position during swelling in hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) matrices containing a soluble drug. *Journal of Controlled Release* 1999; 61; 83-91.
- 13 Maderuelo C, Zarzuelo A, Lanao JM: Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. *Journal of Controlled release* 2011; 154: 2-19.
- 14 Planinc N: Korelacija med reološkimi lastnostmi in hitrostjo sproščanja iz ogrodnih tablet iz ksantana. *Diplomska naloga*. Univerza v Ljubljani. Fakulteta za farmacijo, 2011.
- 15 European Pharmacopeia 7th edition, monografija: Xanthan gum (Xanthani gummi), EDQM, Strasbourg 2011; Vol 2: 3237-3238.
- 16 Ahuja M, Kumar A, Singh K: Synthesis, characterization and in vitro release behavior of carboxymethylxanthan. *International Journal of Biological macromolecules* 2012; 51: 1086-1090.
- 17 Abentroth Klaic PM, Medeiros Nunes A, da Silveira Modeira A, et al: Determination of Na, K, Ca and Mg in xanthan gum: Sample treatment by acid digestion. *Carbohydrate polymers* 2011; 83: 1895-1900.
- 18 Garcia-Ochoa F, Santos VE, Casas JA, et al: Xanthan gum: Production, recovery and properties. *Biotechnology Advances* 2000; 18: 549-579.
- 19 <http://rozanski.li/?p=166> (dostop 1.2.2013)
- 20 Takakashi M, Iijima M, Kimura K, et al: Thermal and viscoelastic properties of xanthan gum/chitosan complexes in aqueous solutions. *Journal of thermal analyses and Calorimetry* 2006; 85 (3): 669-674.
- 21 Higiro J, Herald T, Alavi S, et al: Rheological study of xanthan and locust bean gum interaction in dilute solution: Effect of salt. *Food research international* 2007; 40(4): 435-447.
- 22 Sworn G: Xanthan gum. *Food stabilisers, thickeners and gelling agents*. Singapore, Wiley-Blackwell 2010: 325-342.
- 23 Choppe E, Puaud F, Nicolai T, Benyahia L: Rheology of xanthan solutions as a function of temperature, concentration and ionic strength. *Carbohydrate Polymers* 2010; 82: 1228-1235.
- 24 Da Lozzo EJ, Andrukaisti Moledo RC, Faraco DC, et al: Curcumin/xanthan-galactomannan hydrogels: Rheological analysis and biocompatibility. *Carbohydrate Polymers* 2012.

- 25 Remington JP: The Science and practice of Pharmacy 20th Edition. University of the Science, Philadelphia, 2000: 1273.
- 26 European Pharmacopeia 7th Edition, monografija Pentoxifylline (Pentoxiphyllinum), EDQM, Strasbourg 2011; Vol 2: 2687.
- 27 <http://sr.wikipedia.org/wiki/Pentoksifilin> (dostop 1.2.2013)
- 28 Elder D, Holm R: Aqueous solubility: Simple predictive methods (in silico, in vitro and bio-relevant approaches) International Journal of Pharmaceutics, 2012.
- 29 Aulton ME: Aulton`s Pharmaceutics. The manufacture od medicine. Elsevier Limited 2007: 16-31.
- 30 Smrekar S: Proučevanje raztapljanja amorfnе in kristalnih oblik klaritromicina. Magistrska naloga. Fakulteta za Farmacijo, Univerza v Ljubljani, 2011.
- 31 European Pharmacopeia 7th Edition, poglavje General notices – Solubility, EDQM, Strasbourg 2011; Vol 1: 5.
- 32 <http://www.usp.org> (dostop 1.2.2013)
- 33 Amiji MM, Sandmann BJ: Applied Physical Pharmacy. The McGraw Hill Companies Inc., USA 2003: 162-163.
- 34 Martin A et al: Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in Pharma Sciences. Lea & Febiger, Philadelphia 1993: 212-237.
- 35 Richardsson JC, et al: Pharmaceutical applications of magnetic resonance imaging (MRI). Advanced drug delivery reviews 2005; 57: 1191-1209.
- 36 Schild HH: MRI made easy. Schering AG, Berlin/Bergkamen, 1990.
- 37 Demšar F, Jevtič V, Bačić GG: Slikanje z magnetno resonanco. Littera picta. Ljubljana, 1996: 7-37.
- 38 Mantle MD: Quantitative magnetic resonance micro-imaging methods for pharmaceutical research. International journal of Pharmaceutics 2011; 417: 173-195.
- 39 Emid S, Creyghton JHN: High resolution NMR imaging in solids. Physica B+C 1985; 128B: 81-83.
- 40 Fang Z, Hoepfel D, Winter K: Application of Single Point Imaging (SPI) to solid state materials. Magnetic Resonance Imaging 2001; 19: 501-503.
- 41 Steven D, et al: Relaxation Time Mapping of short T2 Nuclei with Single-Point Imaging (SPI) Methods. Journal of Magnetic Resonance 1998; 135: 156-164.
- 42 Obreza A, Šmid-Korbar J, Humar M, et al: Farmacevtski terminološki slovar, ZRC SAZU, 2011.

- 43 European Pharmacopeia 7th edition, poglavje 2.9.3, EDQM, Strasbourg 2011.
- 44 Remington JP: The Science and practice of Pharmacy 20th Edition. University of the Science, Philadelphia, 2000: 271.
- 45 Peiming W, Andrzej A: Computation of dielectric constants of solvent mixtures and electrolyte solutions. Fluid Phase Equilibria 2001; 186: 103-122.