

# POMEN MAGNETNORESONANČNIH METOD PRI RAZISKAVAH OGRODNIH TABLET S PODALJŠANIM SPROŠČANJEM

## THE ROLE OF MAGNETIC RESONANCE METHODS IN THE RESEARCH OF THE MATRIX TABLETS WITH PROLONGED RELEASE

AVTOR / AUTHOR:

Dr. Urša Mikac<sup>1</sup>, Ana Sepe<sup>1</sup>  
Prof. dr. Julijana Kristl<sup>2</sup>, mag. farm.

<sup>1</sup> Institut Jožef Stefan, Jamova 39, 1000 Ljubljana

<sup>2</sup> Fakulteta za Farmacijo, Univerza v Ljubljani,  
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:  
urska.mikac@ijs.si

## 1 PERORALNI OGRODNI SISTEMI ZA PODALJŠANO SPROŠČANJE

Čeprav so pred skorajda šestimi desetletji prvič opisali peroralni hidrofilni ogrodni sistem in ga patentirali, še danes poteka na tem področju intenziven razvoj (1). Zlasti je ak-

### POVZETEK

Mehanizem sproščanje zdravilne učinkovine iz polimernih ogrodnih tablet je kompleksen proces, na katerega močno vpliva gelska plast, ki nastane na površini tablete. Za proučevanje lastnosti te plasti so zelo primerne magnetnoresonančne (MR) metode, saj lahko z MR dobimo informacije o lastnostih gelov; z MR-slikanjem *in situ* opazujemo dinamiko nastajanja gelske plasti in erodirajoče fronte ter določimo koncentracijski profil polimera med nabrekanjem. Kombinacija MR-slikanja in USP-4 naprave omogoča sočasno *in situ* določitev kinetike nabrekanja in sproščanja zdravilne učinkovine iz hidrofilnih ogrodnih tablet, z uporabo posebne MR-tehnike pa lahko hkrati določimo prostorsko porazdelitev polimera in učinkovine v tableti. Kombinacija rezultatov, ki jih dobimo z MR-metodami, matematičnim modelom in drugimi analiznimi metodami, je pomembna za uspešno načrtovanje polimernih ogrodnih tablet.

### KLJUČNE BESEDE:

ogrodne tablete, gel, nabrekanje, magnetna resonanca

### ABSTRACT

The drug release form polymer matrix tablets is a complex process, greatly influenced by the gel's formation at the tablet surface. Magnetic resonance (MR) is a non-invasive method suitable to determine the gel layer properties by using MR that can provide the information about the gel's properties. MR imaging (MRI) that enables *in situ* determination of tablet swelling and can provide the polymer concentration profile during swelling; Combination of MRI and USP-4 apparatus enables *in situ* determination of tablet swelling and drug release kinetics or by using special MRI techniques enabling the determination of distribution of the polymer and the drug in the tablet at the same time. The combination of the data obtained by MR techniques, mathematical model, and other analytical methods makes the polymer matrix tablets design more successful.

### KEYWORDS:

matrix tablets, gel, swelling, magnetic resonance

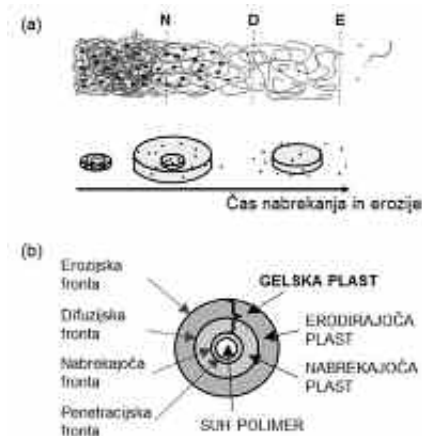


tualno proučevanje raznovrstnih molekularnih sprememb v tabletnih jedrih v času po zaužitju tablet z vgrajeno dobro topno učinkovino. S tem pridobimo pomembne informacije, ki nam omogočajo napovedati ponovljivo kinetiko podaljšanega sproščanja, kar omogoča razvoj varnih, učinkovitih in do bolnika prijaznih zdravil. Tablete s podaljšanim sproščanjem namreč omogočajo zmanjšanje pogostosti jemanja, povečanje učinkovitosti zdravilne učinkovine (ZU), zmanjšanje odmerkov. Pri tem vzdržujejo optimalno koncentracijo učinkovine v plazmi, s čimer se zmanjša pogostost in jakost neželenih učinkov, ki so povezani z nihanjem plazemskih koncentracij »klasičnih« farmaceutskih oblik.

Za večino peroralno apliciranih zdravil prebavni trakt ni primarno mesto delovanja, temveč je le mesto prehoda ZU v sistemski krvni obtok in druga tkiva. Za njihovo oblikovanje so zelo pomembni fizikalno-tehnološki in biološki parametri. Peroralni ogrodni sistemi s podaljšanim sproščanjem se med seboj razlikujejo predvsem po mehanizmih sproščanja zdravilnih učinkovin. Največkrat ne gre le za en sam mehanizem, ki nadzira sproščanje, temveč za kombinacijo različnih, ki potekajo sočasno.

## 1.1 VPLIVI HIDROFILNIH TABLETNIH OGRODIJ NA PODALJŠANO SPROŠČANJE UČINKOVIN

V najenostavnejši obliki so hidrofilne ogrodne tablete stisnjena zmes praškaste ZU in polimera, ki v vodi nabreka, ter drugih pomožnih snovi (1). V stiku z vodo ali telesnimi tekočinami (medijem) ne razpadejo, ampak na površini nastane hidratirana plast, ki upočasni nadaljnje prodiranje medija in nadzoruje sproščanje ZU. Ko medij prodira v tableto, se polimerne verige najprej hidratirajo in nato relaksirajo, pri čemer nastanejo tri različna območja. Osrednji del sprva še suhega polimera je rezervoar ZU. Polimer je v »steklasti obliki« (*glassy state*), saj je pod temperaturo steklastega prehoda ( $T_g$ ).  $T_g$  se z večanjem deleža medija niža, tako da ob zadostni prisotnosti medija v tableti polimer preide iz steklastega v elastično stanje. Nastaja elastični gel, znotraj katerega razlikujemo dve plasti: nabrekajočo in erodirajočo. Nabrekajoča plast upočasnjuje prodor medija v notranjost tablete in s tem raztapljanje in difuzijo učinkovine iz nje. Erodirajoča plast je na površini tablete, od koder se polimerne verige odpletejo in prehajajo v okolni medij. Med posameznimi plastmi ločimo štiri različne fronte (2): penetracijsko na meji med suhim in hidratiranim polimerom, nabrekajočo na meji med polimerom v steklasti obliki in gelom, difuzijsko na meji med neraztopljenim in raztopljenim ZU v gelski plasti ter erodirajočo na meji med



Slika 1: Shematski prikaz (a) nabrekanja in sproščanja ZU (N – nabrekajoča, D – difuzijska, E – erodirajoča fronta; pike: učinkovina, bela barva: suha tableta, siva barva: gelska plast) ter (b) plasti in fronte, ki nastajajo med nabrekanjem.

Figure 1: Schematic representation of (a) swelling and drug release (N – swelling, D – diffusion, E – erosion front; circles: drug, white: dry tablet, grey: gel layer and (b) different layers and fronts.

površino tablete in okolnim medijem (slika 1). S časom se meje med posameznimi plastmi spreminjajo. Na začetku, ko prevladuje proces nabrekanja, se nabrekajoča fronta pomika proti sredini tablete, difuzijska in erodirajoča pa navzven. Ko koncentracija medija preseže kritično vrednost, se začnejo polimerne verige na površini odpletati, difuzijska in erodirajoča plast pa se postopno pomikata proti sredini tablete, dokler vsa tableta ne razpade.

## 1.2 SPREMLJANJE NABREKANJA HIDROFILNIH POLIMERNIH TABLET

Pri ocenjevanju ustreznosti gela za oblikovanje tablet s podaljšanim sproščanjem sta pomembna zlasti (i) način nabrekanja in (ii) permeabilnost mreže. Obe značilnosti sta seveda odvisni tako od kemijske narave polimera, ki tvori gel, kot od zgradbe in lastnosti nastale mreže, ki nadzira sproščanje učinkovin. Rezultat so različni mehanizmi sproščanja (3), ki vodijo v razdelitev ogrodnih tablet, pri katerih je sproščanje nadzorovano:

- z difuzijo ZU skozi gelsko plast (*diffusion-controlled*);
- z nabrekanjem (*swelling-controlled*);
- kemijsko (*chemically-controlled*) pri tabletah iz biorazgradljivih polimerov;
- z odzivi na okolne spremembe (*environmentally responsive*), kot so temperatura, pH, koncentracija polimera.

Velikost prostorov z vodo med polimernimi molekulami v gelu vpliva na difuzijo ZU, ki je izredno pomemben dejavnik

za napovedovanje ustreznosti dostavnega sistema. Velikost por v gelu lahko določimo z različnimi eksperimentalnimi tehnikami (3). Poleg razmerja med hidrodinamičnim volumnom ZU in velikostjo pore je za učinkovito difuzijo ZU odločilnega pomena tudi količina proste vode v gelski strukturi, ki omogoča njeno raztapljanje in difuzijo (4). Zato so natančne raziskave o količini vode znotraj hidrofilnih ogrodnih sistemov, ki je na voljo za raztapljanje ZU, osnova za optimizacijo in napoved kinetike sproščanja iz njih. Vodo, ki je ujeta v tridimenzionalni gelski mreži, lahko v grobem razdelimo v dva razreda, in sicer v (i) prosto ali nevezano vodo, ki je porazdeljena v vmesnih prostorih med polimernimi verigami (v porah), in (ii) vezano vodo, ki je vezana s hidrofilnimi skupinami polimera. Metod za proučevanje vrste vode je več. Med njimi je najbolj uporabna diferenčna dinamična kalorimetrija (DSC) in pa nekoliko zahtevnejša jedrska magnetna resonanca (NMR). Poleg strukture je pomembna tudi debelina gelske oziroma difuzijske plasti. Za spremljanje nabrekanja hidrofilnih tablet je na voljo veliko metod, vendar so bodisi destruktivne in ne omogočajo meritev *in situ* (reometrija), zahtevajo dodajanje različnih označevalcev, ki lahko vplivajo na nabrekanje in lastnosti gelske plasti (optično slikanje), bodisi ne omogočajo natančnega razločevanja različnih front (ultrazvok, mikro CT – mikro računalniška tomografija). Nasprotno pa slikanje z magnetno resonanco (MRI) omogoča neinvazivno spremljanje procesov nabrekanja hidrofilnih tablet in tvorbo gelske plasti (5). V nadaljevanju bomo predstavili pomen MR-metod za načrtovanje učinkovitih ogrodnih tablet, ki jih že veliko let uspešno razvijamo v kombinaciji z drugimi analiznimi metodami. Rezultati se kažejo v vrsti člankov, ki smo jih pripravili skupaj s profesorico Sašo Baumgartner in so dobro sprejeti tudi v mednarodnih tehnoloških krogih.

## 2 METODI NMR IN MRI ZA PROUČEVANJE STRUKTURE GELOV OGRODNIH TABLET PO HIDRATACIJI

NMR spada med spektroskopske metode, ki uporabljajo elektromagnetno sevanje za proučevanje lastnosti snovi. Metoda izkorišča radiofrekvenčni (RF) del elektromagnetnega spektra, iskano informacijo pa posreduje interakcija tega sevanja z magnetnim momentom jeder, ki so sestavni del preiskovane snovi. V nadaljevanju podajamo osnove metod NMR in MRI, ki smo ju uporabljali pri proučevanju

strukture in debeline gelske plasti hidrofilnih ogrodnih tablet.

### 2.1 OSNOVE MR

Jedra, ki imajo magnetni moment, se v magnetnem polju obnašajo podobno kot magnetna igla. Za uporabo MR v biologiji, medicini in farmaciji so najzanimivejša jedra  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{13}\text{C}$ , med katerimi je vodikovo zaradi najmočnejšega MR-signala in običajno največje zastopanosti najpogosteje uporabljano jedro, še posebej pri MR-slikanju. Vodikova jedra imajo v magnetnem polju dve različni energijski stanji, med katerima lahko prehajajo z absorpcijo oziroma z oddajanjem RF-polja točno določene frekvence, ki jo imenujemo resonančna oziroma Larmorjeva frekvenca in je enaka  $\omega = \gamma B_0$ , pri čemer je  $B_0$  gostota statičnega magnetnega polja, v katerem so jedra, in giromagnetno razmerje jedra  $\gamma$ , ki je značilna konstanta za dano vrsto jeder. V močnem magnetnem polju se več magnetnih dipolnih momentov jeder usmeri v smeri magnetnega polja (stanje z nižjo energijo), kar povzroči nastanek jedrske magnetizacije v vzorcu. NMR-signal dobimo tako, da z RF-magnetnim poljem z Larmorjevo frekvenco jedrom dodamo energijo. Po končanem RF-sunkku se sistem vrača v ravnotežno stanje s karakterističnim časom, ki ga imenujemo spin-mrežni ( $T_1$ ) relaksacijski čas in označuje povprečno življenjsko dobo jeder v vzbujenem energijskem stanju. Pri tem se vzbujena jedra vračajo v termično ravnotežno stanje z oddajanjem energije lokalni mreži sklopjenih atomov. Zato je  $T_1$  odvisen od mrežnih gibanj pri Larmorjevi frekvenci. Poleg tega pride do zmanjševanja NMR-signala tudi zaradi lokalnih nehomogenosti magnetnega polja. Te učinke opišemo s spin-spinskim ( $T_2$ ) relaksacijskim časom, ki je merilo izgube fazne koherence jeder po RF-sunkku in meri počasna gibanja v vzorcu. Tako sta  $T_1$  in  $T_2$  v mediju (tekočinah) približno enaka, v suhi tableti (trdnih snoveh), kjer so molekulska gibanja počasna in se vpliv dipolarnih sklopitev med spini ne izpovpreči, pa je  $T_1$  veliko daljši kot  $T_2$ .

Na NMR-signal (oblika in širina črt v NMR-spektru) poleg relaksacijskih časov ter seveda gostote opazovanih jeder vpliva tudi difuzija jeder v vzorcu in njihovo kemično okolje. Z uporabo posebnih zaporedij RF-sunkov lahko izmerimo relaksacijska časa  $T_1$  in  $T_2$  ter difuzijski koeficient ( $D$ ) opazovanih jeder (6). Ti parametri nam dajo koristne informacije o okolici opazovanih jeder in tako omogočajo določitev lastnosti preiskovanega vzorca na molekularni ravni.

Z uporabo gradientov magnetnega polja dosežemo, da čutijo jedra v različnih delih vzorca različno magnetno polje. To nam omogoča, da dobimo NMR-signal iz posameznega dela vzorca in s tem prostorsko informacijo o sistemu ozi-



roma magnetnoresonančno (MR) sliko vzorca (6). Z uporabo različnih zaporedij RF- in gradientnih sunkov dobimo različen kontrast v MR-sliki. Najpogosteje uporabljamo metodo spinskega odmeva, pri kateri je intenziteta MR-signala  $S$  enaka

$$S = k \cdot \rho \cdot \left(1 - e^{-TR/T_1}\right) \cdot e^{-TE/T_2} \quad (1)$$

Tukaj je  $k$  konstanta, odvisna od detekcijskega sistema spektrometra,  $\rho$  gostota opazovanih jeder v vzorcu,  $TE$  čas spinskega odmeva (čas med vzbuditvijo jeder in detekcijo signala) in  $TR$  čas med ponovitvami pulzne sekvence. S spreminjanjem parametrov slikanja  $TE$  in  $TR$  lahko spremenimo kontrast v MR-sliki med deli vzorca, ki imajo različne relaksacijske čase. Tako dobimo z uporabo:

- Dolgih  $TE$ -časov  $T_2$  obteženo sliko: iz delov vzorca, ki imajo kratek  $T_2$ , dobimo malo signala (temna področja na MR-sliki), iz delov vzorca, ki imajo dolg  $T_2$ , pa veliko signala (svetla območja na MR- sliki);
- Kratkim  $TR$ -časov  $T_1$  obteženo sliko: iz delov vzorca s kratkimi časi  $T_1$  dobimo veliko signala (svetla območja na MR-sliki) in malo signala iz delov vzorca z dolgim  $T_1$  (temna področja na MR- sliki);
- Kratkim časov  $TE$  in dolgim časov  $TR$  gostotno sliko, ki nam pokaže gostotno porazdelitev opazovanih jeder v vzorcu.

Žal pa je dolžina časa  $TE$  določena z dolžino gradientnih sunkov. Zato so časi  $TE$  reda velikosti ms, kar onemogoča MR-slikanje vzorcev s časi  $T_2$ , ki so krajši od nekaj 100  $\mu$ s. Za MR-slikanje vzorcev s kratkimi časi  $T_2$  moramo zato uporabiti posebna MR-pulzna zaporedja, ki pa so običajno zelo počasna. Z uporabo posebnih MR-zaporedij lahko dobimo difuzijsko obteženo MR-sliko (PGSE-zaporedje), sliko kemijskega premika jeder v vzorcu, lahko pa izmerimo tudi prostorsko porazdelitev relaksacijskih časov in difuzijskega koeficienta v vzorcu.

## 2.2 UPORABA NMR PRI DOLOČANJU LASTNOSTI GELA

Strukturo gelske plasti lahko proučujemo z NMR-meritvami relaksacijskih časov  $T_1$  in  $T_2$  ter difuzijskega koeficienta medija kot tudi vgrajene učinkovine, iz katerih dobimo informacije o interakcijah med polimernimi molekulami in medijem ter o mobilnosti medija in polimernih verig. Vrednosti  $T_1$  in  $T_2$  sta določeni z modulacijo intra- in intermolekularnih dipolarnih interakcij med medijem in molekulami polimera (7). V mediju so gibanja molekul hitra, kar povzroči hitre spremembe lokalnih magnetnih polj in izpovprečenja lokalnih polj na mestih opazovanih jeder. Zato vsa vodikova

jedra čutijo približno enaka lokalna polja, kar povzroči dolg  $T_2$ . Ker je frekvenca gibanj molekul veliko višja od Larmorjeve frekvence vodikovih jeder, je dolg tudi  $T_1$ . Ko mediju dodamo polimer, ta preko vodikovih vezi interagira z medijem, kar upočasnjuje fluktuacije molekul medija, lokalna polja se ne izpovprečijo in  $T_2$  se krajša. Frekvenca gibanj je bližje Larmorjevi frekvenci, kar vodi tudi h krajšanju časov  $T_1$ . Z nadaljnjim večanjem koncentracije polimera se gibanja vodikovih jeder tako upočasnijo, da postanejo počasnejša od Larmorjeve frekvence, kar vodi k daljšanju časov  $T_1$ . Tako dobimo v koncentracijski odvisnosti minimum  $T_1$  pri  $\omega\tau \approx 1$ , kjer je  $\tau$  korelacijski čas gibanj mreže.

V hidrofilnem gelu običajno poteka hitra izmenjava med prostimi in vezanimi molekulami medija na časovni skali  $T_1$ , zato merimo povprečen relaksacijski čas  $T_1$  vseh vodikovih jeder v vzorcu. Ker je  $T_2$  krajši kot  $T_1$ , je lahko izmenjava med prostimi in vezanimi molekulami medija na časovni skali  $T_2$  počasna, kar pomeni, da lahko ločeno izmerimo vrednosti  $T_2$  prostih molekul medija, molekul medija, vezanih na polimerno verigo, in polimera. Iz meritev  $T_1$  in  $T_2$  lahko določimo:

- Mobilnost molekul medija v gelu in s tem tudi homogenost gelske strukture:
  - Odvisnost  $T_1$  in  $T_2$  od koncentracije polimera: krajšanje  $T_1$  in  $T_2$  z večanjem koncentracije polimera zaradi upočasnitve gibanj. Krajšanje  $T_2$  je bolj izrazito; pri velikih koncentracijah polimera opazimo  $T_1$  minimum (8-10);
  - Odvisnost  $T_1$  in  $T_2$  od premreženja (*cross-linking*) polimernih verig: pri večjem premreženju sta relaksacijska časa krajša, kar je posledica bolj trdega in nehomogenega gela (11);
  - Odvisnost  $T_1$  in  $T_2$  od pH in ionske moči medija: pri ionskih polimerih je pričakovati odvisnost strukture gela od prisotnosti ionov v mediju. To se kaže predvsem v bistveno krajših vrednostih  $T_2$  v mediju z nižjim pH in višjo ionsko močjo, kar kaže na bolj omejeno mobilnost polimernih verig in torej trši gel kot v vodnem mediju (10);
  - Odvisnost  $T_1$  in  $T_2$  od substitucije polimera: razlike relaksacijskih časov pri različnih substitucijah polimera so posledica različnih interakcij med polimerom in medijem (8);
  - Vpliv ZU na vrednosti  $T_1$  in  $T_2$ : učinkovina lahko spremeni mobilnost medija oziroma delež vezanih molekul medija na polimerno verigo (10, 12);
- Povprečno število molekul medija, vezanih na monomerno enoto polimera (8);
- Velikosti por v gelu: z uporabo modela, ki opisuje  $T_2$  in povprečno velikost por v gelu (13);

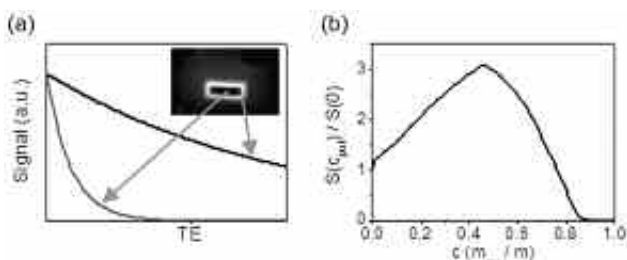


- Dinamiko gibanja polimernih verig v gelu: iz frekvenčne odvisnosti  $T_1$  (14);
- Temperaturo faznega prehoda iz steklastega v gelsko stanje  $T_g$ : v temperaturni odvisnosti  $T_1$  opazimo minimum pri  $T_g$ , kjer se spremeni tudi naklon  $T_2$  (15).

Z NMR lahko merimo tudi difuzijski koeficient medija, ki je odvisen od interakcij medija s polimernimi verigami (16), in difuzijski koeficient vgrajene ZU, ki je odvisen od mikrovizkoznosti gela (17). Z meritvami difuzijskega koeficienta vgrajene ZU dobimo informacije o sproščanju ZU iz gela, medtem ko je difuzija medija merilo za penetracijo medija, ki določa kinetiko tvorbe gelske plasti. V gelu lahko ločeno merimo difuzijo ZU in medija, saj imajo vodikova jedra ZU in medija zaradi kemijskega premika različno NMR-frekvenco (razlike so tipično nekaj Hz), kar omogoča razlikovanje njihovih spektralnih črt.

## 2.3 UPORABA MR-SLIKANJA PRI DOLOČANJU DEBELINE GELA

Pri spremljanju nabrekanja hidrofilnih tablet lahko s spreminjanjem parametrov slikanja spreminjamo kontrast v MR-sliki. S poznavanjem relaksacijskih časov pri različnih koncentracijah polimera v mediju lahko določimo parametra MR-slikanja, tako da dobimo najboljši kontrast med suho tableto in gelsko plastjo ter med gelom in medijem, iz česar lahko natančno določimo debelino gelske plasti. Poleg tega lahko določimo tudi koncentracijske profile polimera v tableti ob različnih časih. Suha tableta ima zelo kratek relaksacijski čas  $T_2$ , zato pri MR-slikanju s spinskim odmevom ne dobimo njenega signala. Ko medij prodira v tableto, se relaksacijska časa spreminjata s koncentracijo



**Slika 2:** (a) Odvisnost velikosti NMR-signala od časa med vzbuditvijo jeder in detekcijo signala (TE) (enačba 1) in primer MR-slike polimerne tablete med nabrekanjem, (b) primer normiranega MRI-signala kot funkcije koncentracije polimera  $c$  (velikost signala  $S(c)$  je normirana na velikost signala vode  $S(0)$ ).

**Figure 2:** (a) NMR signal decay together with a MR image of a polymer tablet during swelling, (b) an example of normalized MRI signal as a function of polymer concentration  $c$  (MRI signal intensity  $S(c)$  is normalized to the water signal  $S(0)$ ).

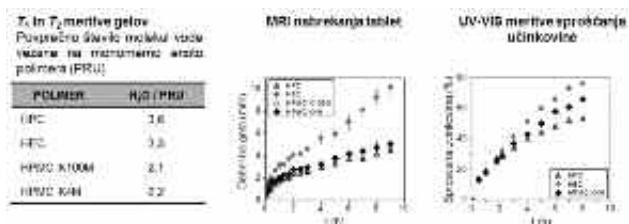
medija, kar vpliva na MR-signal (slika 2). Pri velikih koncentracijah polimera ne zaznamo signala spinskega odmeva zaradi kratkih časov  $T_2$ . Zato moramo za določitev penetracijske fronte uporabiti posebno metodo MR-slikanja, ki omogoča slikanje vzorcev s kratkim relaksacijskim časom  $T_2$ , na primer metodo SPI (*Single Point Imaging*) (10).

V primeru polimernih ogrodnih tablet nas seveda zanima kinetika sproščanja ZU. Za razumevanje tega je treba poznati debelino in strukturo gelske plasti. Vendar pa se je treba zavedati, da moramo debelino gelske plasti in količino sproščene ZU meriti v enakih razmerah, saj lahko na primer mešanje medija vpliva na erozijo gela, s tem pa na debelino gelske plasti in mehanizem sproščanja ZU iz tablete. To lahko z MR-slikanjem dosežemo na različne načine. Porazdelitev polimera in ZU, ki vsebuje fluor, lahko sočasno merimo z MR-slikanjem  $^1\text{H}$  in  $^{19}\text{F}$  jeder, kar nam omogoča sočasno spremljanje nastajanja gelske plasti ter porazdelitve ZU v gelski plasti in mediju (18). Enako lahko dosežemo z MR-slikanjem kemijskega premika, kjer lahko iz različnih spektroskopskih črt medija in ZU določimo koncentracijo polimera in ZU v gelski plasti in mediju (19). Poleg tega so za sočasno določanje gelske plasti in sproščene ZU s spektrometrom UV-VIS razvili pretočno celico za MR-slikanje, povezano z USP-4 aparatom (20).

Za boljše razumevanje mehanizma sproščanja ZU iz polimernih tablet so razvili številne matematične modele, ki opisujejo nabrekanje polimernih tablet in sproščanje ZU iz njih (4, 21). S primerjavo izmerjenih vrednosti debeline gelske plasti in kinetike sproščanja lahko s pomočjo matematičnega modela določimo ključne parametre za dinamiko sproščanja ZU in s tem mehanizem sproščanja iz hidrofilnih tablet.

## 2.4 UPORABA MR-METOD ZA PROUČEVANJE OGRODNIH TABLET Celulozni etri HPC, HEC in HPMC

Celulozne etre pogosto uporabljamo za različne ogrodne sisteme za prirejeno sproščanje. Pri različnih vrstah in stopnjah substitucije je sposobnost hidratacije različna (22), kar vpliva na obnašanje polimera med nabrekanjem. S primerjavo različnih celuloznih etrov (HPC, HEC in HPMC) z različno molekularno maso (HPMC K4M in K100M) smo določili vpliv vrste polimera in molekulske mase na debelino gela in kinetiko sproščanja ZU (slika 3) (8, 9, 22). Preiskovani celulozni etri so neionski polimeri, katerih nabrekanje ni odvisno od ionov v mediju. Najprej smo z meritvami relaksacijskih časov ugotovili, da na  $T_1$  vpliva predvsem vrsta polimera in ne njegova molekularna masa, na  $T_2$ -relaksacijo



Slika 3: Primer uporabe MR-metod pri raziskavah ogrodnih tablet iz celuloznih etrov (6, 7, 20).

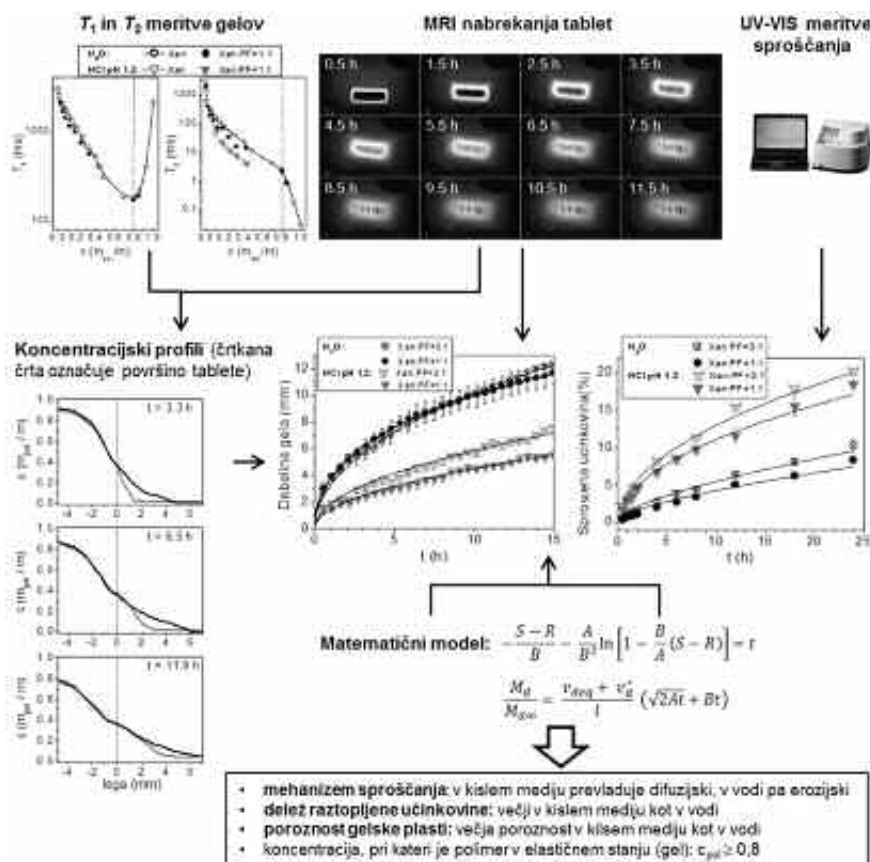
Figure 3: The use of MR methods in study of matrix tablets of cellulose ethers (6, 7, 20).

pa tudi različna vrsta polimera nima vpliva. Mobilnost vodnih molekul v gelu je različna zaradi različnih interakcij s polimerno mrežo: pri HPC polimeru je stik molekul vode s polimernimi verigami najboljši, zato je količina vezane vode največja, kar vodi k najkrajšim časom  $T_1$  med preiskovanimi polimeri. Iz izmerjenih razmerij  $T_1 / T_2$  smo ugotovili, da bolj kot je polimer substituiran s hidrofilnimi stranskimi sku-

pinami, več vode se veže nanj. Z MR-slikanjem smo določili koncentracijske profile polimera v gelski plasti ter njeno debelino za različne čase nabrekanja. Najdebelejši gel nastane pri HEC polimeru, ki je najbolj higroskopen; pri ostalih polimerih je gel tanjši in približno enako debel. S časom se spreminja tudi koncentracijski profil polimera v gelski plasti, katerega oblika je odvisna od vrste polimera in časa nabrekanja. Sproščanje ZU je najhitrejše pri HEC in najpočasnejše pri HPC (22).

### Ksantan

Ksantan (Xan) je v farmaciji široko uporabljan naravni polimer. Zaradi anionske narave je nabrekanje ogrodnih tablet iz njega odvisno od pH in ionske moči medija. Z MR-meritvami tablet Xan brez dodatka in z dodatkom dobro topne modelne učinkovine pentoksifilina (PF) v vodi in mediju HCl pH 1,2 z ionsko močjo 0,28 M smo karakterizirali nastali gel ter dinamično nastajanja gelske plasti in sproščanja (slika 4) (10, 23).



Slika 4: Primer uporabe MR-metod pri raziskavah ogrodnih tablet iz ksantana (8, 10).

Figure 4: The use of MR methods in study of matrix tablets of xanthan polymer (8, 10).

- Z meritvijo relaksacijskih časov gelov z znano koncentracijo polimera smo ugotovili:
  - Da se  $T_2$  gelov v kislem mediju veliko hitreje krajša z večanjem koncentracije Xan kot v vodnem mediju, kar kaže na bolj omejeno mobilnost Xan-verig in trši gel v kislem mediju kot v vodi;
  - Da PF ne vpliva bistveno na relaksacijska časa in s tem na strukturo gela;
  - Parametre MR-slikanja, ki nam dajo najboljši kontrast med suho tableto, gelom in medijem.
- Spremljanje nabrekanja Xan z MR-slikanjem pripelje do zaključkov:
  - Da je v kislem mediju gel tanjši kot v vodi: ioni v mediju HCl pH 1,2 zasenčijo negativni naboj COO-skupin in s tem zmanjšajo elektrostatski odboj med verigami Xan. Zato so te v kislem mediju bolj stisnjene, gel pa tanjši (24);
  - Da prisotnost dovolj velike koncentracije PF-ja v tableti povzroči tvorbo tanjše gelske plasti v kislem mediju, v vodi pa ne vpliva na debelino gela. Razlike debeline gelske plasti so posledica različnega širjenja erodirajoče fronte, medtem ko se lega nabrekajoče fronte ne spremenijo, kar lahko vidimo tudi iz koncentracijskih profilov, kjer koncentracija Xan v kislem mediju pri majhnih koncentracijah polimera veliko hitreje pada kot v vodi.
- Meritve sproščanja PF-ja z UV-VIS v enakih razmerah kot MRI-meritve:
  - Sproščanje je počasnejše v vodi kot v kislem mediju in je odvisno od koncentracije PF-ja v tableti.
- Uporaba matematičnega modela:
  - V kislem mediju prevladuje difuzijski, v vodi pa erozijski mehanizem sproščanja;
  - V kislem mediju je več raztopljenih učinkovine kot v vodi, kar je posledica različne topnosti Xan;
  - Vztrajnostni polimer, ki je merilo za velikost polimernih verig, je v kislem mediju manjši kot v vodi, kar so potrdili tudi z meritvami z mikroskopijo na atomsko silo (AFM) (25). Zato v kislem mediju nastajajo področja nizke mikroviskoznosti, ki povečajo poroznost gela;
  - Pri manjšem deležu učinkovine v tableti je sproščanje hitrejše pri obeh medijih. V vodi je to posledica manjšega deleža raztopljenega PF-ja v tableti, v kislem mediju pa posledica večje poroznosti gela, kar omogoči hitrejšo difuzijo učinkovine iz gelske plasti in s tem hitrejše sproščanje kljub debelejši gelski plasti.

Z MR-meritvami, ki smo jih opisali z matematičnim modelom, smo pokazali, da za sproščanje učinkovine ni pomembna samo debelina gelske plasti, ampak je pomembna tudi njena struktura.

## 3 SKLEP

Z NMR lahko določimo strukturo gelske plasti, MR-slikanje pa je nedestruktivna in dovolj hitra metoda, da nam omogoča *in situ* spremljanje nabrekanja ogrodnih tablet. Kombinacija dobljenih rezultatov skupaj z rezultati drugih analizičnih metod omogoča razumevanje polimernih sistemov na molekularni, mikroskopski in makroskopski ravni ter s tem pripomore k razvoju učinkovitih sistemov z želeno kinetiko sproščanja ZU.

## 4 ZAHVALA

Avtorji se zahvaljujemo Ministrstvu za izobraževanje, znanost in šport Republike Slovenije in Javni agenciji za raziskovalno dejavnost RS za finančno podporo programov P1-0189 in P1-0060 ter projekta J1- 6746.

## 5 LITERATURA

1. Melia CD. *Hydrophilic matrix sustained release systems based on polysaccharide carriers*. *Crit Rev Ther Drug Carrier Systems* 1991; 8: 395-421.
2. Colombo P, Bettini R, Santi P et al. *Analysis of the swelling and release mechanisms from drug delivery systems with emphasis on drug solubility and water transport*. *J Control Release* 1996; 39: 231-237.
3. Lowman AM, Peppas NA. *Hydrogels*. In Mathiowitz E. ed. *Encyclopedia of controlled Drug Delivery*. Wiley, 2000: 397-417.
4. Lin CC, Metters AT. *Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling*. *Adv Drug Deliv Rev* 2006; 58: 1379-1408.
5. Mikac U, Kristl J, Baumgartner S. *Using quantitative magnetic resonance methods to understand better the gel-layer formation on polymer-matrix tablets*. *Exp Opin Drug Deliv* 2011; 8: 677-692.
6. Demšar F, Jevtič V, Bačić G. *Slikanje z magnetno resonanco*. Založba Littera picta, 1996.
7. Hills PB. *The proton exchange cross-relaxation model of water relaxation in biopolymer systems*. *Molec Phys* 1992; 76: 489-508.
8. Baumgartner S, Lahajnar G, Sepe A et al. *Investigation of the state and dynamics of water in hydrogels of cellulose ethers by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy*. *AAPS PharmSciTech* 2003; 3: 36.

9. Baumgartner S, Lahajnar G, Sepe A et al. Quantitative evaluation of polymer concentration profile during swelling of hydrophilic matrix tablets using  $^1\text{H}$  NMR and MRI methods. *Eur J Pharm Biopharm* 2005; 59: 299-306.
10. Mikac U, Sepe A, Kristl J et al. 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. *J Control Release* 2010; 145: 247-256.
11. Calucci L, Forte C, Ranucci E. Water/polymer interactions in poly(amidoamine) hydrogels by  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance relaxation and magnetization transfer. *J Chem Phys* 2008; 129: 064511.
12. Vittadini E, Dickinson LC, Chinachoti P. NMR water mobility in xanthan and locust bean gum mixtures: possible explanation of microbial response. *Carbohydr Poly* 2002; 49:261-269.
13. Turco G, Donati I, Grassi M et al. Mechanical spectroscopy and relaxometry on alginate hydrogels: A comparative analysis for structural characterization and network mesh size determination. *Biomacromolecules* 2011; 12: 1272-1282.
14. Kimmich R, Anardo E. Field-cycling NMR relaxometry. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc* 2004; 44: 257-320.
15. Ruan RR, Long Z, Song A et al. Determination of the glass transition temperature of food polymers using low field NMR. *Lebensm Wiss Technol* 1998; 31: 516-521.
16. Masaro L, Ousalem M, Baille WE et al. Self-diffusion studies of water and poly(ethylene glycol) in solutions and gels of selected hydrophilic polymers. *Macromolecules* 1999; 32: 4375-4382.
17. Gao P, Fagerness PE. Diffusion in HPMC gels. I. Determination of drug and water diffusivity by pulsed-field-gradient spin-echo NMR. *Pharm Res* 1995; 12: 955-964.
18. Fyfe CA, Blazek AI. Investigation of hydrogel formation from hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) by NMR spectroscopy and NMR imaging techniques. *Macromolecules* 1997, 30: 6230-6237.
19. Knoos P, Topgaard D, Wahlgren M et al. Using NMR chemical shift imaging to monitor swelling and molecular transport in drug-loaded tablets of hydrophobically modified poly(acrylic acid): methodology and effects of polymer (in)solubility. *Langmuir* 2013, 29: 13898-13908.
20. Nott KP. Magnetic resonance imaging of tablet dissolution. *Eur J Pharm Biopharm* 2010; 74: 78-83.
21. Siepmann J, Siepmann F. Mathematical modeling of drug delivery. *Int J Pharm* 2008; 364: 328-343.
22. Baumgartner S, Planinšek O, Kristl J. Analysis of surface properties of cellulose ethers and drug release from their matrix tablets. *Eur J Pharm Sci* 2006; 27: 375-383.
23. Mikac U, Sepe A, Baumgartner S et al. The influence of high drug loading in xanthan tablets and media with different physiological pH and ionic strength on swelling and release. *Mol Pharmaceutics* 2016; 13:1147-1157.
24. Baumgartner S, Pavli M, Kristl J. Effect of calcium ions on the gelling and drug release characteristics of xanthan matrix tablets. *Eur J Pharm Biopharm* 2008; 69: 698-707.
25. Govedarica B, Sovany T, Pintye-Hodi K et al. Addressing potent single molecule AFM study in prediction of swelling and dissolution rate in polymer matrix tablets. *Eur J Pharm Biopharm* 2012; 80: 217-225.