

FORMULERING AV KORTISONPREPARAT TIL BRUK VED BINYREBARKSVIKT

av

Oddny Elin Bratholt

Masteroppgave i farmasi



Senter for farmasi/Institutt for indremedisin

Universitetet i Bergen

Juni 2008

Oppgaven er utført ved

Farmasøytisk institutt, UiO

FORORD

Denne hovedfagsoppgaven er utført ved Avdeling for galenisk farmasi, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo i perioden august 2007 til juni 2008.

En takk til min veileder professor Sverre Arne Sande, UiO for faglig veiledning. Spesielt for uvurderlig hjelp i analysedelen av oppgaven. En stor takk fortjener også min hovedveileder dr.med Kristian Løvås, Haukeland sykehus for inspirasjon og motivasjon når det trengtes og for utfyllende medisinsk bakgrunnsinformasjon.

Avdelingsingeniør ved galenisk avdeling Helge Gundersen fortjener å påskjønnnes for veiledning og hjelp i bruk av laboratorieutstyr og generell assistanse underveis. Uten din hjelp hadde veien blitt tung. Også hovedfagstudent Terje Skøien og andre ansatte som deltok på de ukentlige avdelingsmøtene berømmes for nyttige innspill i løpet av dette året.

Takker dessuten min familie som lot meg få denne muligheten og som på kort varsel måtte innstille seg til en hverdag uten mamma hjemme. Min datters samboer som har reddet meg fra noen små datakriser underveis, fortjener også en takk.

Blindern, juni 2008

Oddny Elin Bratholt

SAMMENDRAG

Kortisol produseres fra precursoren kolesterol i zona fasciculata i binyrebarken. Sekresjonen kontrolleres av den indre biologiske klokke, og modereres av feedbackmekanismer av sirkulerende kortisol på hypothalamus og hypofyse. Også stress, traumer og andre faktorer kan påvirke sekresjonen. Hos friske finner ca 70% av kortisolsekresjonen sted sein natt/tidlig morgen med en plasmakonsentrasjonstopp rundt oppvåkning og et minimum sein kveld/tidlig natt.

Binyrebarksvikt klassifiseres som primær og sekundær. Primær svikt skyldes sykdom i selve binyrene mens sekundær svikt skyldes sykdom i organer som regulerer binyrene. Dagens behandling av binyrebarksvikt er lite optimal for mange pasienter, fordi den ikke resulterer i en fysiologisk plasmakortisolprofil. Oppgavens målsetning er å formulere et preparat som tas om kvelden og hvor rask frisetting starter etter en 3-4 timers lagtid.

Jeg valgte en multiple unit formulering fordi magesekkens tømning av disse enhetene til tynntarmen er mindre påvirket av samtidig matinntak og interindividuelle variabler enn single unit enheter. Jeg valgte å formulere et granulat fordi tidligere student Bergseng fant at pellets ga en for langsom frisetting.

Forsinket frisetting ble forsøkt oppnådd ved å coate granulatet med poly(meth)acrylat polymeren Eudragit® RS 30 D. Granulatet ble coatet i fluidbed. Polymeren ga en uventet langsom frisetting av virkestoffet i standard medium, men noe raskere i vann.

Både i litteraturen og egne forsøk fant jeg at anioner i polymerens nære omgivelser modifierer frisettingen. Jeg forsøkte å tilsette natriumacetat til selve granulatmassen, men dette påvirket sterkt granulatets produksjonstekniske egenskaper. Deretter coatet jeg mitt opprinnelige granulat med et indre lag av natriumacetat før jeg påførte polymeren. Dette ga en svært rask frisetting, men ingen lagtid.

Jeg genererte et forsøksdesign for å finne ut om jeg ved å justere natriumacetatmengden i det innerste coatinglaget og polymertykkelsen i det ytterste, kunne oppnå ønsket frisettingsprofil. Jeg testet også ut bindemiddeltpe og -konsentrasjon i natriumacetatløsningen. Jeg fant signifikante samspill for flere av designparametrene. Siden jeg hadde valgt et faktorielt design

med oppløsning IV, fikk jeg ikke fullt ut atskilt og analysert hvilke samspill som har størst betydning. Jeg kom heller ikke i mål med oppgaven, men mine forsøk viser at:

- natriumacetat i polymerens nærhet åpner opp polymeren.
- hovedfaktoren som bestemmer lagtiden i standard medium er polymermengden, samt samspillet mellom bindemiddeltype i natriumacetatløsningen og polymermengden.
- HPMC som bindemiddel gir lengre lagtid ved tykt polymerlag enn PVPtypen og mengden bindemiddel i Na acetat-løsningen påvirker frisettingen, men i ulik grad i standard medium og vann.

INNHOLDSFORTEGNELSE

SAMMENDRAG.....	3
INNHOLDSFORTEGNELSE	5
1 FORKORTELSER.....	6
2 INNLEDNING.....	7
2.1 Bakgrunn.....	7
2.2 Målsetning.....	8
3 MEDISINSK TEORI OG TEORI SOM ANGÅR FORMULERINGEN	8
3.1 Binyrebarksvikt.....	8
3.2 Kortisonformer som er brukt i behandlingen.....	16
3.3 Forhold i GI-traktus	18
3.4 Granulat.....	27
3.5 Coating.....	29
3.6 Statistisk forsøksplanlegging	37
3.7 Multivariat dataanalyse	38
4 MATERIALE OG UTSTYR	41
4.1 Materiale	41
4.2 Oppløsninger brukt som frisettingsmedium og til pH justeringer.....	42
4.3 Utstyr.....	42
5 METODER	43
5.1 In vitro frisetting	43
5.2 Tillaging av kjernepartikler.....	43
5.3 Coating.....	45
5.4 Forsøksdesign.....	46
6 EKSPERIMENTELT	47
6.1 Frisettingsforsøk.....	47
6.2 Kjernepartikkelens sammensetning og egenskaper	48
6.3 Coating.....	50
6.4 Hovedforsøk.....	52
7 RESULTATER.....	54
7.1 Frisettingsforsøk.....	54
7.2 Granulatets sammensetning og egenskaper	55
7.3 Coating.....	59
7.4 Hovedforsøk.....	63
8 DISKUSJON.....	72
8.1 In vitro frisetting	72
8.2 Granulatets egenskaper	73
8.3 Fluidbed coating.....	74
8.4 Hovedforsøk.....	75
8.5 Hva ville jeg gjort hvis jeg skulle arbeidet videre med oppgaven?	76
8.6 Fremtidsvisjoner.....	77
9 KONKLUSJON	78
10 REFERANSELISTE.....	78
11 VEDLEGG.....	83

1 FORKORTELSER

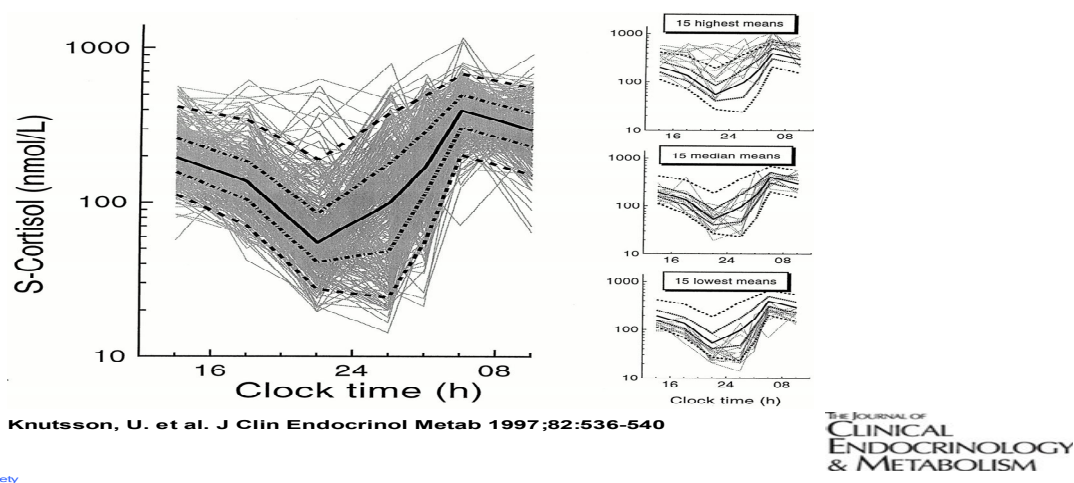
ACTH	Adrenokortikotropt hormon
β	Parameter i Weibulls metode som beskriver en kurves fasong.
CRH	Corticotropinfrisettende hormon
CBG	Kortikosteroid bindende globulin = transcortin
DHEA(S)	Fellesbetegnelse for dehydroepiandrosteron og –sulfat.
11-DOC	11- deoxykortikosteron
GR	Glukokortikoidreseptor
11 β -HSD1	11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 = enzymet som konverterer kortison til kortisol
11 β -HSD2	11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 = enzymet som konverterer kortisol til kortison.
HPMC	Hydroksypropylmetylcellulose
Na Acetat	Natriumacetat = poreåpner for Eudragit RS 30 D
MFT	Minimum film forming temperature
MSH	α -melanocytstimulerende hormon
MLR	Multiple linear regresjon
MMC	Migrating myoelectric complex
MR	Mineralkortikoidreseptor
MU	Multiple unit
P-gp	P-glykoprotein
PCA	Principal component analysis
PLS	Partial least squares regression
PVP	Polyvinylpyrrolidin
RAS	Renin-angiotensin systemet
SITT	Small intestinal transit time
SU	Single unit
T _d	Tid hvor 63,2% av mengden legemiddel i en formulering er frisatt.
T _{max}	Tid for C _{max} dvs. tid når maksimal konsentrasjonen er oppnådd
T ₀	Tid hvor formuleringen ikke frigir noe legemiddel overhodet
T _{10%}	Lag-tid dvs. tid når 10% av legemidlet er frisatt fra formuleringen
TEC	Trietylцитрат = mykgjører brukt i Eudragitdispersjonen

2 INNLEDNING

2.1 Bakgrunn

Binyrebarksvikt kan være primær eller sekundær. Primær svikt er sjelden - prevalens 14 per 100 000 innbyggere [1] - mens sekundær svikt er noe vanligere. Begge former krever livslang kortisolsubstitusjon. De fleste binyrebarksviktpasienter oppnår en god livskvalitet ved dagens tradisjonelle kortisonbehandling. Løvås og medarbeidere [2] har imidlertid vist at for et mindretall av pasientene med primær svikt gir ikke dagens behandlingsregime optimal behandlingseffekt. Hensikten med oppgaven er å utvikle et nytt kortisonpreparat med en frisettingsprofil som i størst mulig grad etterligner kroppens fysiologiske kortisolfrisetting. Se figur 1. En normal fysiologisk døgnprofil antas å kunne bidra til bedre livskvaliteten til disse pasientene [2-4].

Figur 1 Døgnprofil hos friske gutter og jenter [5].



To tidligere hovedfagstudenter har jobbet med tilsvarende oppgave - Bergsens og Salbu [6, 7]. Bergsens formulerte ulike coatede pellets. Hun testet ut flere coatingformuleringer og -metoder. Fluidbedcoating ga et mer forutsigbart resultat enn pancoating og ble derfor foretrukket. Frisettingen av virkestoffet fra pelletskjernene ble imidlertid for langsom, - uansett valgt formulering. Salbu forsøkte å oppnå en raskere frisetting ved å velge granulat i stedet for pellets i tablettkjernen, men hun fikk verken ønsket lagtid eller rask frisetting [7].

2.2 Målsetning

Oppgavens mål er å utvikle en formulering som, når den tas om kvelden, speiler de normale svingningene i plasmakortisol: minimal plasmakonsentrasjon sein kveld/tidlig natt, frisettingsstart rundt klokken tre om morgenen og serumtopp rundt oppvåkning. Jeg ville at frisettingen av legemidlet skal være tidsstyrt for å unngå at den påvirkes av inter- og intraindividuelle variabler som for eksempel magens innhold, hvor lenge legemidlet blir i magesekken, hvor lang transittiden i tarmen er og pH i magen/tyntarmen. Jeg ønsket at mest mulig av den aktive substansen skulle frisettes i tyntarmen. Rask frisetting antas å være viktig fordi det er vist i en studie av Schedl fra 1963 at hydrokortisonabsorpsjonen er størst proximalt, og avtar nedover i tyntarmen [8].

3 MEDISINSK TEORI OG TEORI SOM ANGÅR FORMULERINGS

3.1 Binyrebarksvikt

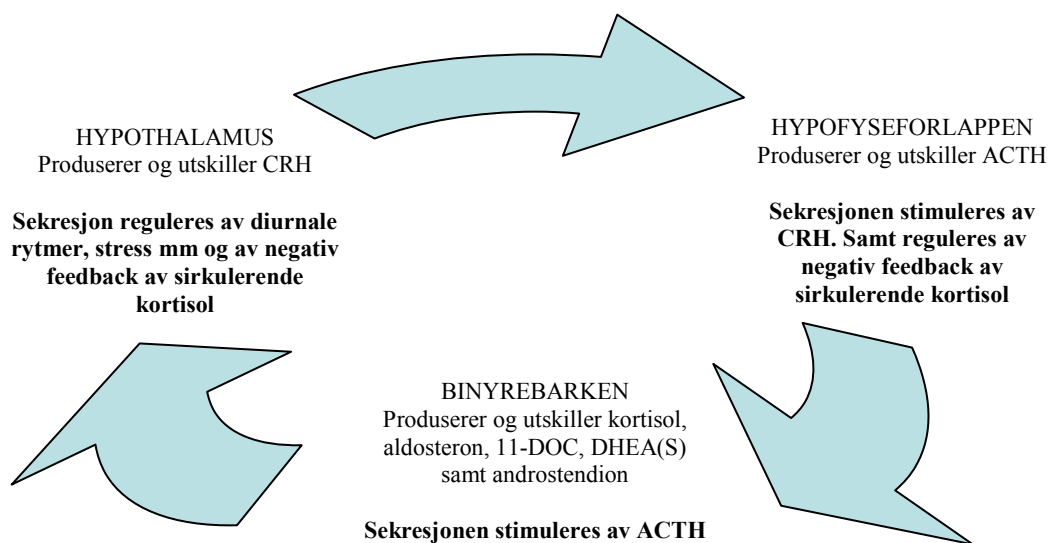
Binyrene består av bark og marg. Binyrebarken utgjør ca 80% av binyrevekten og er oppbygd av tre hormonproduserende lag. Forløperen til alle hormonene som produseres i binyrebarken er kolesterol. De tre lagene har ulik enzymdistribusjon og produserer derfor ulike steroider fra kolesterol. Det ytterste laget heter zona glomerulosa og produserer mineralkortikoider – aldosteron og 11-deoxykortikosteron (11-DOC). Laget i midten er det største og heter zona fasciculata. Her produseres hovedmengden av glukokortikoider samt noe androgener. Det innerste laget - zona reticularis - produserer primært androgener. Her omdannes kolesterol til dehydroepiandrosteron og -sulfat (DHEA og DHEAS) og mindre mengder androstendion [9].

Primær binyrebarksvikt ble første gang beskrevet i 1855 av Thomas Addison og kalles også Addisons sykdom. Hos pasienter med denne sykdommen fungerer ingen av de tre hormonproduserende lagene i binyrebarken. Ved sekundær binyrebarksvikt er mengden ACTH for lav pga sykdom eller skade i hypothalamus-hypofyse akselen, og det er denne lave ACTH-konsentrasjonen som resulterer i for lav kortisolsekresjon fra binyrebarken. Androgenutskillelsen stimuleres også av ACTH. Denne vil derfor være redusert både ved primær og sekundær svikt.

3.1.1 Hypotalamus-hypofyse-binyre aksen

Kortisolsekresjonen reguleres av negativfeedback systemer som involverer både hypothalamus og hypofysen. Den stimuleres av sirkulerende ACTH produsert i hypofysen. ACTH sekresjonen reguleres av corticotropin releasing hormon (CRH). CRH produseres i hypothalamus og påvirkes av faktorer som tid på døgnet og stress. Både ACTH og CRH-sekresjonen hemmes via negativ feedback av sirkulerende kortisol [9].

Figur 3.1 Hypotalamus – hypofyse – binyreaksen



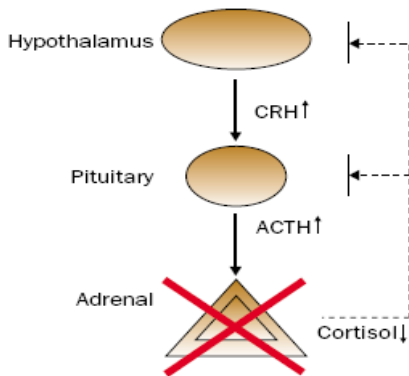
Veldhuis og medarbeidere fant at sekresjonen av ACTH skjer i korte pulser med jevn frekvens, men med ulik amplitude. Mengden som frigis i hver puls viser karakteristisk døgnvariasjon og forårsaker dermed en døgnvariasjon i kortisolproduksjonen [10]. Hovedmengden utskilt kortisol sirkulerer bundet til kortikosteroid bindende globulin (CBG). Det er fritt, ubundet kortisol som er den biologisk aktive og det er denne som elimineres. Plasmakonsentrasjon av fritt kortisol varierer normalt fra 1 nmol/l på basalnivå, til opp mot 100 nmol/l etter et frisettingsmaksimum som for eksempel ved stress [11].

3.1.2 Fysiologiske endringer ved binyrebarksvikt.

Primær binyrebarksvikt = Addisons sykdom

Figur 3.2 Primær binyrebarksvikt

Primary adrenal insufficiency



Ved primær binyrebarksvikt er binyrenes produksjon av steroidhormoner hemmet eller opphørt. Mengden CRH og ACTH er som en konsekvens forhøyet. Klinisk manifestasjon på Addisons sykdom sees ofte når ca 90% av binyrebarken er ødelagt [12]. Pasienter med primær svikt må få erstattet manglende endogen kortisol- og aldosteronproduksjon. Substitusjonsbehandling med androgener kan også være aktuelt – spesielt hos pasienter som også har redusert androgenproduksjon i gonadene.

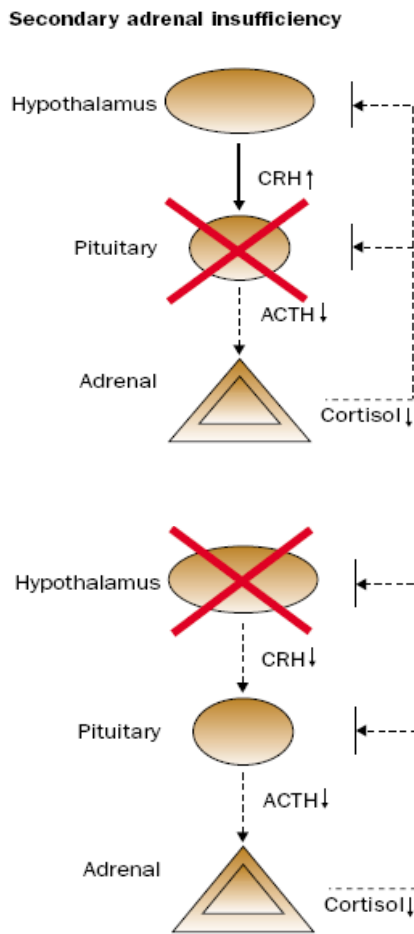
Illustrasjon er tatt fra [13].

I industrialiserte land er hovedårsaken til primær binyrebarksvikt autoimmun [13]. Myhre og medarbeidere [14] fant i 2003 antistoff mot enzymet 21-hydroxylase som deltar i binyrenes steroidbiosyntese, hos 82-95% av pasientene i Norge. Også andre antistoffer sees ved primær binyrebarksvikt. I utviklingsland er trolig hovedårsaken tuberkulose. Andre sykdommer som AIDS, cytomegalavirus, og svulster kan også ødelegge binyrene og gi binyrebarksvikt.

Addisons sykdom kan være eneste sykdom, eller den kan være knyttet til syndromer hvor flere endokrine kjertler er påvirket. De mest vanlige autoimmune sykdommer som finnes sammen med Addisons sykdom, er diabetes mellitus type 1 og autoimmun sykdom i skjoldbruskkjertelen. Men også cøliaki finnes noe hyppigere hos disse pasienter enn hos befolkningen som ikke har denne sykdommen [15]. Ca 50% av pasientene i Norge har autoimmune polyglandulære syndromer (APS1 eller APS2) [16].

Sekundær binyrebarksvikt

Figur 3.3 Sekundær binyrebarksvikt



Kortisolproduksjonen er her nedsatt som følge av for lav plasmakonsentrasjonen av ACTH. Lav ACTH skyldes enten svikt i sekresjon av ACTH fra hypofysen eller svikt i sekresjon av CRH fra hypothalamus. Hyppigste årsak til sekundær binyrebarksvikt (bortsett fra iatrogen binyrebarksvikt, dvs. steroidbehandling) er tumorer i hypothalamus eller hypofyse, men også autoimmun hypofysitt forekommer. Isolert ACTH-mangel kan ses sammen med andre autoimmune lidelser. Svært sjelden kan mutasjoner i genene som er nødvendig for hypothalamus utvikling eller dens produksjon av CRH ses [13].

Aldosteronproduksjonen kontrolleres primært av renin-angiotensin systemet (RAS) og av mengden K^+ i plasma, og er mindre avhengig av sirkulerende mengde ACTH. Disse pasientene trenger derfor sjelden aldosteronsubstitusjon [17].

Illustrasjoner er tatt fra [13].

3.1.3 Symptomer på primær og sekundær binyrebarksvikt

Kortisol passerer cellemembranen ved passiv diffusjon og binder seg deretter til glukokortikoidreseptorer (GR) i cellens cytosol. Kortisolreseptorkomplekset forflytter seg til så til cellekjernen og hemmer eller stimulerer der transkripsjon av et stort antall gener [18]. Disse genene inngår i reguleringen av energiomsetningen, dvs. omsetningen av karbohydrater, fett og proteiner. Glukokortikoider har også viktige effekter på blant annet beinmetabolismen, immunceller og nervesystemet. Symptomer på for lite kortisol er slapphet, utmattelse, nedsatt stresstoleranse, anoreksi og nedsatt vekt, magesmerter og muskelsmerter.

Hos kvinner som av ulike grunner ikke lengre produserer androgener i eggstokkene (for eksempel etter menopausen eller fjerning av eggstokkene), kan bortfall av binyrebarkens androgenproduksjon gi symptomer som påvirker livskvaliteten. Det er indikasjoner på at testosteronsubstitusjon øker libido hos kvinner med androgenmangel [19]. Binyrebarkens

produksjon av androgener har mindre betydning for menn, fordi 50-70% av testosteronproduksjonen hos menn etter puberteten finner sted i testiklene.

Nesten alle med primær svikt produserer for lite aldosteron. Dette forårsaker hyponatremi pga nedsatt reabsorpsjon av natrium i nyretubuli og resulterer i hyperkalemi. Symptomer på mineralkortikoidmangel er salthunger, forstyrret hjerterytme og blodtrykksfall - spesielt ortostatisk [9, 17].

Ved primær svikt er ACTH sterkt forhøyet. Økt ACTH stimulerer melanocytene i huden slik at huden blir mørk - spesielt i partier som er utsatt for sollys eller sterk slitasje [17, 20]. Ved sekundær svikt er ACTH lav og en slik hyperpigmentering av huden vil ikke finne sted. Derimot vil pasienten her være blek med alabasthud.

Tabell 1 Symptomer, laboratoriefunn og behandling av hhv primær og sekundær binyrebarksvikt.

		Primær binyresvikt	Sekundær binyresvikt
Symptomer og funn	trøtthet/utmattelse	+	+
	muskelsmerter	+	+
	hyperpigmentering	+	-
	vekttap	+	+
	mageproblemer	+	+
	salthunger	+	-
	blodtrykksfall	+	-
Laboratorie - funn	kvininner med samtidig nedsett kjønnshormonproduksjon: nedsatt libido	+	+
	morgenkortisol < 165 nmol/L	+	+
	ACTH-stimulert kortisol*	-	-
	ACTH	↑↑	↓
	CRH	↑	↓ eller normal
	antistoff mot 21-hydroxylase	+ (hos 82-95%)[14]	-
	aldosteron	↓	normal
renin	↑	normal	
Behandling	glukokortikoid	+	+
	fludrokortison	+	-
	DHEA(S) evt androgener	ved behov	ved behov

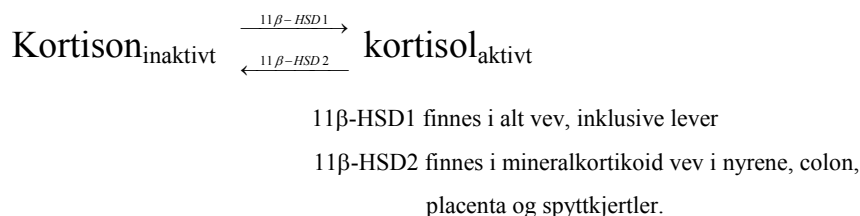
* Provoserings ACTH-test (Standard short corticotropintest) > 500 nmol/L [13].

3.1.4 Behandling av binyrebarksvikt

Behandling av binyrebarksvikt innebærer å substituere de hormonene kroppen selv ikke produserer i tilstrekkelig mengde. Aktuelle legemiddelgrupper er glukokortikoider, mineralkortikoider og DHEA eventuelt andre androgene hormoner.

Målet med glukokortikoidbehandlingen er å oppnå en døgnprofil som er mest mulig lik den fysiologiske. Se figur 1. En ideell profil er ikke mulig med dagens behandling [21-23], med unntak av ved kontinuerlig subkutan hydrokortisoninfusjon [3, 4].

Figur 3.4 Likevekt mellom kortison og kortisol



I kroppen eksisterer en likevekt mellom biologisk inaktiv kortison og aktiv kortisol. Endogen produksjon er av formen kortisol. Distribusjonen av enzymsystemet 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 og 2 (11 β -HSD1 og 2) regulerer hvilken form som dominerer i de ulike organer/vev og dermed også kortisoleffekten i vevet [11, 18]. Tradisjonell oral døgndose har tidligere vært 30 mg hydrokortison eller 37,5 mg kortisonnacetat, delt i to eller tre daglige doser med hovedmengden som morgendose. Nyere forskning antyder at denne doseringen er for høy og kan ha uheldige bivirkninger. Både Howlett og Peacey foreslo i 1997 – og uavhengig av hverandre – at en riktigere dose hydrokortison er 10 mg + 5 mg + 5 mg [24, 25]. Dette tilsvarer 12,5 mg + 6,25 mg + 6,25 mg kortisonnacetat. Både for hydrokortison og kortisonnacetat gir tre daglige doser en riktigere døgnprofil enn færre doser, men serumtoppen etter morgendosen viser store individuelle variasjoner [24-27]. Flere forfattere har anslått endogen produksjon til 5,3-6,1 mg/m²/dag [28, 29]. Mah og medarbeidere fant at ved å ta hensyn til kroppsoverflate/vekt minsket variasjonene i maksimal serumkonsentrasjon fra person til person etter en gitt dose hydrokortison, fra 31% til 7%. De fant også at mat før tablettinntaket medførte forsinket absorpsjon og lavere serumtopp og anbefalte derfor vektjustert døgndose delt opp i tre daglige doser og at dosen skulle tas fastende [21].

Tabell 2 Naturlige og syntetiske kortikosteroider til systemisk bruk ved binyrebarksvikt:

I Norge finnes følgende formuleringer registrert:

Kortikosteroider	Ekvivalente doser i mg	Produkter brukt i Norge	Aktuell bruk ved binyrebarksvikt
Naturlige			
Hydrokortison = kortisol	20	Solu-Cortef® inj	Ved akutt svikt, ekstra behov og ved kriser
Kortisonacetat	25	Cortison® tabl	2-3 daglige doser som substitusjonsbehandling
Syntetiske			
Prednisolon	5	Prednisolon® tabl	1 daglig dose evt sammen med Cortison® for å oppnå bedre døgnprofil
Dexamethason		Decadron. Er ikke lengre registrert i Norge	Brukes diagnostisk/i forskning for å undertrykke endogen kortisolproduksjon

Fra Felleskatalogen 2007/Legemiddelhåndboken

Kortisonacetat (Cortison® tabl)

Dette er en konvensjonell formulering uten modifisert frisetting.

Døgndosen gis vanligvis oppdelt i to eller tre daglige doser. Ved feber økes behovet for hydrokortison. Tommelfingerregel er: dobbel døgndose ved feber over 38,0 °C og tredobbel dose ved feber over 39,0 °C [30].

Hydrokortison = kortisol (Solu-Cortef® inj).

Brukes i Norge ved akutt binyrebarksvikt og ved ekstrabelastninger som sykdom/feber med oppkast eller ved operasjoner. Gis i enkeltdoser på 100-300 mg, eventuelt som flere gjentatte doser. Brukes også til kontinuerlig subkutan infusjon i bærbar pumpe ved Addisons sykdom [3].

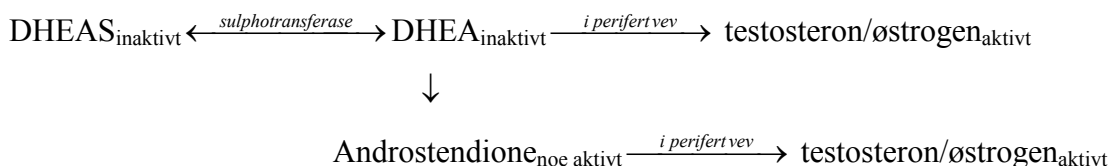
Prednisolon (Prednisolon®)

Har kraftig og mer langvarig effekt. Har fem ganger hydrokortisonets glukokortikoide effekt, men mindre mineralkortikoid effekt [30]. Lite brukt ved binyrebarksvikt i Norge. Når denne tas som monoterapi om morgenen, gir den en riktigere glukokortikoid effekt om natten, på bekostning av en lavere serumtopp om morgenen.

Mineralkortikoider gis ved de fleste tilfeller av primær binyrebarksvikt, men vanligvis ikke ved sekundær svikt. De naturlige mineralkortikoidene aldosteron og 11-DOC har en vanskelig syntese og har kort halveringstid ($t_{1/2}$). De er derfor ikke egnet til substitusjonsbehandling. I stedet gis det syntetiske fludrokortison (Florinef®) i doser på 0,05-0,2 mg. Denne har lengre $t_{1/2}$ og doseres én gang daglig [17]. Mineralkortikoider binder seg til mineralkortikoid reseptorer (MR) og den følgende genreguleringen fremmer natrium reabsorpsjon og kalium

ekskresjon. Også kortisol bindes til MR-reseptorer. Mineralkortikoid vev inneholder imidlertid 11 β -HSD2 som oksyderer kortisol til kortison. Kortison har liten affinitet til denne reseptoren [18, 31, 32]. Dosen av mineralkortikoider innstilles etter forekomst av symptomer eller når elektrolyttmålinger viser et behov. Ved unormalt stort salttap kan dosen eventuelt økes.

Figur 3.5 DHEA(S) og androgener



I binyrebarkens innerste lag omdannes kolesterol til store mengder DHEA, DHEAS og mindre mengder androstendione. Hvilken form disse transformeres til i perifert vev avhenger av hvilke enzymsystemer som finnes i cellene [33]. Behandlingen med DHEA er kontroversiell og publiserte artikler har motstridende resultater med hensyn på nytte av behandlingen og bivirkninger. Gebre-Medhin og medarbeidere fant i 2000 at daglige doser på 50 mg DHEA er tilstrekkelig til å oppnå normale androgennivåer, uten å ha ugunstig effekt på glukosetoleransen eller fettmetabolismen [34]. Løvås og medarbeidere fant imidlertid i 2003 at 25 mg doser av DHEA ikke signifikant økte livskvaliteten hos kvinnelige Addison-pasienter og at det ga uheldige bivirkninger [35]. Dette ble i 2008 bekreftet i en større studie av Gurnell og medarbeidere hvor 50 mg DHEA daglig i tolv måneder ikke signifikant bedret livskvaliteten [36].

3.1.5 Mulige alternative behandlingsregimer

Hos pasienter hvor man ved tradisjonell kortisolsubstitusjon ikke oppnår et akseptabelt behandlingsmål kan det være aktuelt å forsøke kontinuerlig subkutan hydrokortisoninfusjon ved bruk av bærbar pumpe. Man kan innstille pumpehastigheten til å levere varierende mengde i løpet av døgnet og dermed oppnå en tilnærmet ideell diurnal kortisolkurve [3, 4]. Løvås og medarbeidere har utført kliniske studier med slik pumpebehandling for Addisons sykdom, men dette er ikke et vanlig behandlingstilbud i Norge i dag [3].

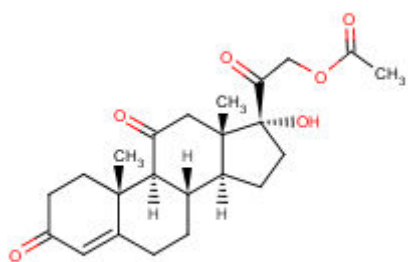
3.2 Kortisonformer som er brukt i behandlingen

Kortisonacetat har fra 1949 vært tilgjengelig for terapeutisk bruk og har lenge vært primærvalget ved substitusjonsbehandling av binyrebarksvikt. Senere har hydrokortison blitt reinfremstilt, og dette er den foretrukne tablettbehandlingen i de fleste vestlige land. Nyere modified release tablettformuleringer av hydrokortison (Cronocort og DuoCort) er for tiden under utprøving [37, 38]. I Norge er det kun kortisonacetat som er registrert i tablettform. Hydrokortison-tabletter på registreringsfritak brukes imidlertid i en viss utstrekning.

3.2.1 Fysikalsk-kjemiske egenskaper

Figur 3.6 Kortisonacetat

Kortisonacetat (Kortison)



Smeltepunkt: 222⁰C

Log P_{oktanol/vann}: 2,1

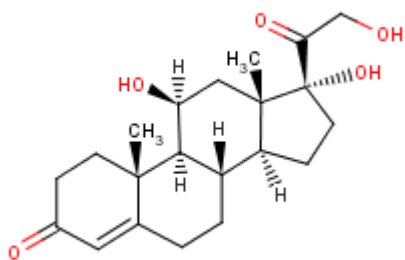
Vannløselighet: 20 mg/l.

Dette er den mest fettløselige formen.

Nesten all kortisonacetat gjenfinnes som hydrokortison etter førstepassasje effekten i leveren [11]. Kortison omdannes til det aktive hydrokortison ved hjelp av enzymet 11 β -HSD1 som finnes rikelig både i tarmepitel og i lever. I nyrene vil imidlertid enzymet 11 β -HSD2 gjendanne noe kortisol til kortison. Dette kortisonet sirkulerer hovedsaklig i ubundet form og utgjør et mulig substrat for 11 β -HSD1 i perifert vev. Mengden fri, ubundet kortison viser kun liten døgnvariasjon og sirkulerer i mengder rundt 50-100nmol/liter [11, 39].

Figur 3.7 Hydrokortison

Hydrokortison (kortisol)



Smeltepunkt 220⁰C

Log P_{oktanol/vann} 1,61

Vannløselighet 320 mg/l.

Hydrokortison klassifiseres som klasse II legemiddel i The Biopharmaceutical Classification System (BCS) dvs. lav oppløselighet men høy cellemembran-permeabilitet [40, 41]. Lav oppløselighet \approx høyeste doseringsenhet krever $>$ 250 ml væske for å løses. Høy permeabilitet $\approx >$ 90% av administrert dose absorberes [42]. $T_{1/2} = 1,7 \pm 0,5$ t (kort), $V_d = 34 \pm 5$ l (lite), $Cl = 18,2 \pm 4,2$ l men viser ikke lineær kinetikk ved høyere doser [43, 44]. Sirkulerende kortisol er hovedsaklig bundet til CBG og noe til albumin. Kun 5-10% av kortisol i plasma finnes i fri, ubundet form [11].

Modulering av steroideffekten i de ulike vevstyper skjer ved hjelp lokale forskjeller i distribusjon av enzymene 11 β -HSD1 og 2 [11, 31, 32]. Likeledes har GR og MR ulik affinitet til kortisol og vil kunne aktiveres ved forskjellige plasmanivåer av fri kortisol [23]. Kortisol metaboliseres til kortison og videre til dihydrokortison, tetra-hydrokortison og en mengde andre metabolitter. Ekskresjonen er hovedsaklig renal [18, 45].

3.2.2 Farmakokinetikk

Absorpsjonen av glukokortikoider skjer trolig hovedsaklig ved passiv diffusjon [18]. Det er ikke funnet transportører som aktivt transporterer disse inn i cellen. Både hydrokortison og kortison er imidlertid substrat for efflux-protenet P-glycoprotein (P-gp) som det finnes rikelig av på apikal side av tarmepitelet [46, 47].

Farris og medarbeidere fant alt i 1978 at når kortisonacetat og hydrokortison gis per os, har de lik effekt på plasmakortisolnivå og lik ACTH-suppressiv effekt. Kun hydrokortison hadde effekt når gitt som injeksjon [48]. Heazelwood og medarbeidere sammenlignet i 1984 absorpsjon av oral kortisonacetat og hydrokortison, og kom fram til at førstnevnte gir en mindre kraftig og noe forsinket serumtopp sammenlignet med kortisol. Det ble funnet store variasjoner med hensyn på biotilgjengelighet fra person til person, men hos den enkelte var biotilgjengeligheten for hydrokortison og kortisonacetat sterkt korrelert. Dette antyder at det ikke er 11 β -HSD1-forskjeller som gir variasjonene [49]. Også Toothaker og medarbeidere fant manglende proporsjonalitet mellom sirkulerende hydrokortison og administrert dose. En tredobling i dose fra 10 mg til 30 mg resulterte bare i en dobling i AUC og T_{max} [50].

Patel og medarbeidere undersøkte in vivo biotilgjengelighet og farmakokinetikk av kommersielle hydrokortisonformuleringer i en suspensjon og fire tablettformuleringer med ulike in vitro oppløsningskarakteristikker. Alle tablettene ga like plasmaprofiler på tross en av tolv gangers forskjell i oppløsningshastighet. De fant heller ingen signifikant forskjell på AUC for suspensjonen og de ulike tablettformuleringene. De konkluderte med at ufullstendig absorpsjon av hydrokortison sannsynligvis skyldtes absorpsjonsforhold, førstepassasjeeffekt eller begge, og at oppløsningshastigheten ikke er det bestemmende trinn i absorpsjonen [51].

Hydrokortisons ikke-lineære farmakokinetikk over et vidt dosespekter (5-200 mg/d) kan være en funksjon av flere ulike årsaker som metning av enzymene 11 β -HSD1 eller 2, eller metning av transportproteinet CBG. Fordi det kun er fri, ubundet fraksjon som er farmakologisk aktiv og som elimineres, vil en metning av CBG kunne resultere i økt fri fraksjon av kortisol og dermed kunne gi økt hepatisk førstepassasje effekt [52]. CBG's bindingskapasitet kan overskrides ved doser over 20 mg hydrokortison [18]. Genetisk polymorfisme eller hemming/induksjon av effluxproteinet P-gp kan også være en årsak til de store individuelle variasjonene i kortisols farmakokinetiske egenskaper [46, 53]. Det samme kan sannsynligvis polymorfismer av enzymene 11 β -HSD1 eller 2. Men doseavhengige plasmanivåer kan også skyldes begrenset absorpsjon av peroral doseringsform [54], spesielt er dette en aktuell problemstilling hvis det gjelder en sustained release (SR) formulering – en formulering beregnet til å avgi virkestoff i en forlenget periode [37].

3.3 Forhold i GI-traktus

3.3.1 Hvorfor målstyrt frisetting?

Vi ønsker at alle pasientene skal få frisatt legemidlet mest mulig uavhengig av variable faktorer som mageinnhold, pH, enzymaktivitet og magetømmingshastighet. Vi ønsker at frisettingen skal være tidsstyrt og starte ca klokken tre om natten hos alle pasientene. Når denne forsinkelsen er oppnådd ønsker vi en rask frisetting som resulterer i en serumtopp rundt oppvåkning.

3.3.2 Hvorfor målstyrt frisetting i tynntarmen?

Størstedelen av legemiddelabsorpsjonen foregår i tynntarmen fordi dette er den delen av tarmen hvor den absorberende flaten er størst. Overflaten er her 200 m², mot magens 0,1-0,2 m². Denne store overflaten skyldes tarmepitelets folding og tallrike mikrovilli som dekker

overflaten av de absorberende cellene. Se figur 3.8. Det antas at hele tynntarmens lengde utnyttes til absorpsjon av legemidler. Graden av absorpsjon avhenger av hvor godt og lenge legemidlet kommer i kontakt med absorberende slimhinner. Tynntarmens transittid er ganske konstant fra person til person. Hvis man ønsker absorpsjon i tynntarmen er tiden man har til rådighet normalt maksimum seks til åtte timer fra formuleringen tas [55].

Figur 3.8 Tynntarmens overflate

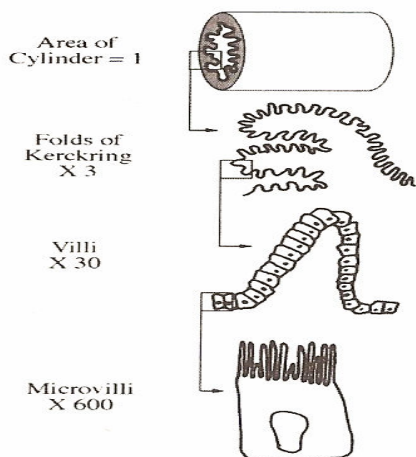


Figure 6.2 Increases in surface area in the small intestine due to folding

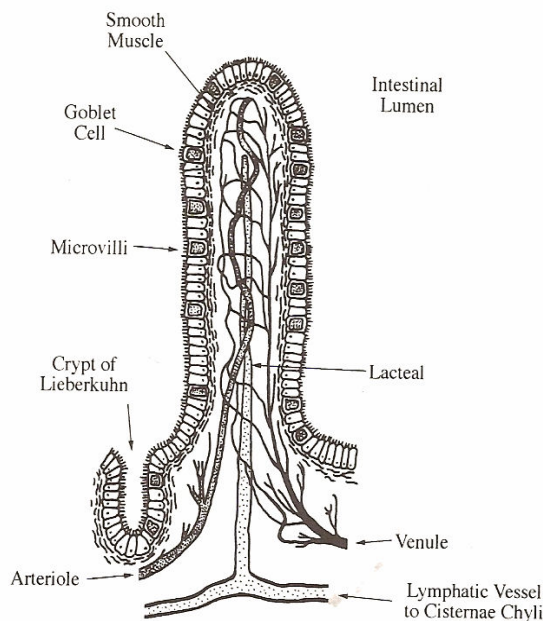


Figure 6.3 Structure of a villus. Note blood and lymph flow

Kilde: Physiological pharmaceuticals- Barriers to drug absorption [55].

Tynntarmen inndeles i tre ikke anatomisk atskilte deler i følgende rekkefølge: Duodenum (20-30 cm lang), jejunum (2,5 m) og ileum (3,5 m). De ulike partiene har ulik absorpsjonskapasitet, ulik fordeling og type av kjertler, og derfor ulik sekresjon. Duodenum og jejunum har bedre absorberende kapasitet enn ileum. Dette skyldes dels større absorpsjonsoverflate per lengdeenhet, dels større og mer tallrike porer i øvre deler [55]. Det finnes spesifikke bærere for kjemiske substanser i duodenum og jejunum, og andre i ileum. Humane perfusjonsstudier har vist avtagende absorpsjon av hydrokortison nedover i tynntarmen [8].

I colon er absorberende overflate mindre, porene mindre, og væskemengden så liten at lite løselige stoffer vil kunne løses dårlig [55, 56]. Fordi gallesaltene reabsorberes i ileum, er mengden overflateaktive stoffer mindre i colon enn i tynntarmen. I tillegg er transittiden i colon svært variabel og avhengig av tid på døgnet og måltider [57]. Bakterieinnholdet i tarmen øker fra tynntarmen til colon. Bakteriefloaraen er ulik fra person til person og viser også geografiske forskjeller. Disse bakterienes enzymsystemer vil kunne omdanne legemidler

til inaktive stoffer, mer aktive stoffer eller stoffer som absorberes forskjellig fra det opprinnelige stoffet. Det er også mulig at slike metabolitter reabsorberes via det enterohepatiske kretsløp [58]. Disse faktorene samlet kan gi en uforutsigbar absorpsjon i colon.

3.3.3 Fysiologiske og anatomiske forhold i GI-trakten

Aktiviteten i GI-traktus kontrolleres av eksitatoriske og inhibitoriske signaler fra det enteriske nervesystem. Disse nervesignalene moduleres av input fra CNS og av gastrointestinale hormoner.

For å få en tablett til å frigi dosen i tynntarmen kan man utnytte pH-forskjellen mellom mage og tynntarm eller tidsforskyvningen. Også forskjeller i enzymaktivitet eller tilstedeværelse av overflateaktive stoffer kan potensielt utnyttes.

H⁺-ioner produseres av metabolsk aktivitet i parietalceller i midtre og øvre regioner av magesekken. pH i magesekken avhenger av kjønn, varierer fra person til person og varierer hos den enkelte person avhengig av om det er mat i magen eller ikke, matens sammensetning og tid på døgnet. Sykdomstilstander som atrofisk gastritt og bruk av protonpumpehemmere opphever syreproduksjonen. Fastende pH i magesekken er gjennomsnittlig 1-2, og i tynntarmen 6-7. Når man spiser stiger pH øverst i magesekken til 4-5 eller høyere, men samtidig fremmes syresekresjon. Allerede 2,5 timer etter et måltid er pH tilbake til utgangspunktet i øvre regioner. pH i området nær pylorus (antrum) er nesten konstant [55]. Når det småpartikulære eller flytende innholdet i magesekken – chymen - tømmes i tynntarmen vil bukspyttkjertelen stimuleres til å frisette væske med høyt bikarbonatinnhold til duodenum. Dette nøytraliserer den sure chymen, inntil pH når 5,5 ved starten av jejunum. Deretter stiger pH sakte i løpet av hele tynntarmspassasjen til pH 6-7 [59]. Sammen med bikarbonat produseres og frigis bukspytttenzymer. Sekresjonen av bikarbonat reguleres hovedsaklig av chymens pH når denne tømmes fra magesekken til duodenum. Mengden utskilt enzym reguleres primært av mengde fett og proteiner i chymen.

Flere faktorer påvirker hvor raskt et legemiddel når stedet hvor absorpsjon skal finne sted og de fleste legemidler må forlate magesekken før de absorberes. Magens tømmingshastighet er den faktoren som gir den største variasjon i hele mage-tarmpassasjen. Men også døgnvariasjoner i tømming og tarmaktivitet har betydning [55]. Magetømming har en døgnrytme og når identiske måltider gis klokken 8.00 og 20.00 vil kveldsmåltidet tømmes

saktere over i tarmen enn morgenmåltidet [60]. Tynntarmspassasjen er mye mindre variabel enn magetømmingen og er angitt til 180 min (SD± 60 min) [55]. Intraindividuelle variasjoner er små, men forskjellen fra person til person kan være stor. Hastigheten til migrating myoelectric complex (MMC) – den kontraktile bølgen som kontrollerer tynntarmens transit av store enkeltheter, viser også døgnvariasjon [61]. Migrasjonshastigheten i løpet av dagen er dobbelt så stor som den om natten [62]. Tynntarmens passasjetid av multiple enheter er tilsynelatende uaffisert av fysisk aktivitet, fysisk form og om formuleringen er tatt fastende eller med mat. Coupe og medarbeidere fant at i de fleste tilfeller ble pellets overført til colon som én bolusdose, etter en lokal oppsamling før overgangen mellom ileum og coecum [63].

3.3.4 Faktorer i magetarmkanalen som påvirker absorpsjonen.

Magesekken

Magesekkens motilitet er individuell og sterkt avhengig av matinntak, matens kalorimessige innhold, fysisk aktivitet og tid på døgnet. Andre faktorer som påvirker magetømming i mindre grad er stress og kroppens posisjon [55].

Gastrisk motilitet styres av to bevegelsesmønstre:

- Peristaltiske bevegelser - når magesekken/tynntarmen inneholder næringsstoffer
- MMC- migrating myoelectric complex - når tynntarmen ikke lengre inneholder næringsstoffer.

Under et måltid settes peristaltiske kontraksjoner i gang. Denne skyvende bølgen starter i midten av magen som grunne kontraksjoner og øker i intensitet nedover mot tynntarmen. Når den kontraherende bølgen når et området 3-4cm før pylorus kontraherer det gjenværende segmentet og pylorus samtidig. Denne muskelkontraksjonen moser og knuser store partikler mens flytende materiale og små partikler presses tilbake til høyereliggende deler av magesekken slik at innholdet blandes bedre med magesaft [55]. I tiden mellom slutten av én peristaltisk kontraksjon og begynnelsen på den neste, når både anthralt segment, pylorus og duodenum relaxerer, tømmes 1-5 ml av den flytende chymen over i tynntarmen. Små partikler med tetthet tilnærmet lik chymens, vil tømmes over i tynntarmen sammen med chymen. Store partikler, ufordøyelige rester og slim forblir i magesekken.

Det tar ca to timer fra chymen tømmes over i tynntarmen til næringsstoffene i den er absorbert. Nå vil magens motilitetsmønster endres og styres av MMC. MMC resulterer i at

alle restpartikler i magesekken tømmes over i tynntarmen – via en åpen pylorus. Dette fastende motilitetsmønsteret består av fire faser og er syklisk. En syklus varer i ca to timer. De ulike fasene migrerer nedover GI-traktens lengde fra distalt i magesekken til terminalt i ileum. Under et måltid avbrytes MMC-syklusen og erstattes av peristaltiske bevegelser. Et normalt måltid forstyrrer MMC-syklusen i tre til fire timer. Pylorus lukkes når magesekken mottar mat.

Figur 3.9 MMC's ulike faser

Fase 1: Periode uten kontraksjon.

Fase 2: Periode med uregelmessige, gradvis økende kontraksjoner.

Fase 3. Kort periode med kraftige kontraksjoner som varer i 5-15 minutter. I magesekken leder denne fasen til at pylorus åpnes. Disse kontraksjonene i magesekken kalles "housekeeper waves" og resulterer i at tilnærmet hele magens innhold tømmes over i tynntarmen.

Fase 4: Kort overgangsperiode mellom fase 3 og 1.

Tabletter/kapsler kan enten desintegre i magen til små partikler eller være lagd for å forbli hel i magesekken. Tradisjonelt sett har det vært antatt at partiklene må være i størrelse <2 mm for å passere en lukket pylorus. Washington og medarbeidere sier at ufordøyde partikler mellom 1 og 5 mm vil tømmes over i tarmen i postprandial fase, sammen med chymen. Store ikke-desintegrerende enheter som har en diameter over relaksert pylorusåpning vil derimot først tømmes over i tynntarmen i forbindelse med fase 3 MMC [55]. Khosla og medarbeidere fant i 1989 at diameter på åpningen i hvilende pylorus varierte fra person til person og anslo denne til $12,5 \pm 7$ mm [64].

To hovedfaktorer påvirker derved hvor lenge et legemiddel forblir i magen:

- Formuleringens størrelse og om den desintegrerer i magesekken eller ikke.
- Om formuleringen tas fastende eller med mat og måltidets størrelse/sammensetning.

Fastende tømning av innholdet i en kapsel eller en tablett er avhengig av hvor raskt kapselen eller tablettens desintegrerer og hvor lett innholdet blandes med den lille væskemengden som finnes i en fastende magesekk. Det faktum at MMC ikke er blandende men kun skyvende, medfører at en kapsel med ikke-løselige korn som gis fastende, kan tømmes over i tarmen som en bolusdose [65]. Når kapselen tas med mat vil kornene blandes med mageinnholdet og dermed spres over et større volum som tømmes i små porsjoner over i tynntarmen. Dette

medfører en forsinket og forlenget levering av den totale mengden små enheter til tynntarmen [55]. Magetømmingen av slike små partikler er imidlertid mye mindre influert av om det er mat til stede eller ikke, enn større enheter. Casey og medarbeidere fant at harde gelatinkapsler med magesaftuløselige korn hadde desintegrasjonstid 30 minutter når de ble tatt fastende og 100 minutter med mat. Hvis kapselen inneholdt løselig materiale var desintegrasjonstiden 6 minutter [66].

Store, ikke-desintegrerende enheter tømmes fra magen og over i tarmen sammen med ufordøyde næringsmidler i fase 3 av MMC. Hvis enheten tas fastende vil magetømmings-hastigheten være avhengig av når enheten tas i forhold til fase 3 i MMC-syklus. Fastende tømmingshastighet for slike store enheter kan derfor variere fra få minutter til inntil tre timer etter inntak [55]. Når enheten tas med et lett måltid blir tømmingen forutsigbar og rundt to til tre timer. Dette fordi måltidet avbryter MMC-syklus og syklusen erstattes av ikke-fastende motilitetsmønster inntil det lette måltidet er tømt over i tynntarmen. Deretter starter en ny MMC syklus og den første fase 3 tømmer enheten over i tynntarmen ca to timer etter at chymen er tømt over. Også kaloriholdige væsker vil avbryte MMC-syklus, og dermed gi en mer forutsigbar magetømming selv når magen ellers er tom. Hvis enheten tas sammen med et stort måltid og pasienten deretter spiser gjentatte måltider kan enheten forbli i magen i opptil åtte timer fordi MMC stadig undertrykkes [55]. I ekstreme tilfeller kan natten være den eneste perioden på døgnet hvor mønsteret endres til fastende motilitetsmønster.

Tynntarmen

Tynntarmkontraksjonenes hovedfunksjon er å blande chymen med enzymer som fremmer fordøyelsen, med overflateaktive stoffer slik at absorpsjonen fremmes, samt å skyve uabsorbent materiale mot endetarmen.

Under fastende forhold vil kortvarige periodiske pulser av gallestoff utskilles til duodenum i fase 3 av MMC. Etter et måltid vil selve galleblæren kontrahere og tilføre chymen store mengder gallester med overflateaktive/emulgerende egenskaper [55].

Tynntarmen har som magesekken, to ulike motilitetsmønstre:

- Segmentale og peristaltiske kontraksjoner – i ikke-fastende tilstand
- MMC – når tarmen ikke lenger inneholder absorberbare næringsstoffer.

Segmentale og peristaltiske kontraksjoner i tarmen er en litt uregelmessig motorisk aktivitet. Grupper på en til tre påfølgende kontraksjoner, følges av 5-40 sekunders lange perioder med inaktivitet. Chymens fysiske og kjemiske sammensetning avgjør antallet kontraksjoner. For eksempel vil mat i fast form utløse dobbelt så mange kontraksjoner som mat i væskeform. Karbohydrater stimulerer til flere kontraksjoner enn proteiner og lipider [55].

- Segmentale kontraksjoner er hyppigst. Når ett segment kontraherer vil de tilstøtende segmenter relaksere osv. Dette fører til blanding av chymens innhold og økt kontakt med tarmens absorberende overflater, men ingen netto bevegelse av chymen mot tykktarmen siden frekvensen av denne typen kontraksjoner avtar nedover i tynntarmen.
- Peristaltiske kontraksjoner inntreffer sjeldnere enn segmentale kontraksjoner, og skjer suksessivt i de ulike segmenter. Hver kontraksjon medfører at chymen flyttes noen få cm mot tykktarmen.

MMC er tarmens fastende motilitetsmønster. Når en MMC-puls når ileum starter en ny MMC i duodenum. En ny puls starter hver 90-150 minutt. I tynntarmen er hastigheten til denne kontraktile bølgen 4.2-5.2cm/min. MMC resulterer i at tarminnholdet beveges 1-4 cm/min mot ileum. Hastigheten avtar når bølgen når ileum og bølgen når sjelden helt til terminal ileum [55, 67]. MMC skyver chymen fremover men fører alene til liten blanding av tarminnholdet.

Washington og medarbeidere fant ved å sammenligne ulike data at tynntarmens passasjetid er ca fire timer for både for oppløsninger, pellets og single unit formuleringer. Fysikalske egenskaper som formuleringens fasong, tetthet eller bioadhesive egenskaper var uten signifikant effekt. Heller ikke fastende/ikke-fastende tilstand hadde betydning. Høyt kaloriinnhold i chymen forlenget den totale GI-transittiden noe, men hovedeffekten var på magens tømmingshastighet og ikke på tarmpassasjetiden [55]. Fysisk aktivitet er vist å ha liten betydning for fastende tynntarmspassasjen av små pellets. For større enheter er det imidlertid vist at den totale GI-transittid øker når det utøves moderat fysisk aktivitet som jogging eller sykling [68].

Viskositetsøkende polysakkarider som pektin og guar gummi er vist å kunne øke absorpsjonen fra en riboflavinoppløsning [69]. Men store mengder uabsorberbare karbohydrater eller store mengder væske kan også akselerere transittiden i tynntarmen noe og således minske absorpsjonen fra en formulering med kontrollert frisetting.

Lymfesystemet i tarmen kan ha betydning for spesielt lipofile midler. Ekstremt lipofile midler kan tas opp i lipidmiceller som omdannes til chylomikroner av epitelcellene hvorpå det tømmes i venesystemet. Dette kan utnyttes kommersielt ved at legemidlet løses for eksempel i fett.

3.3.5 Hvordan oppnå målstyring av legemidler til tynntarmen?

Man kan benytte flere ulike metoder for å oppnå frisetting i tynntarmen som for eksempel bioadhesivitet, pH-styrt frisetting, tidsstyrt frisetting eller stedstyrt frisetting ved hjelp av magnetisme.

Bioadhesive stoffer er stoffer som kleber seg til biologiske substrater som for eksempel slimhinner eller annet vev. Tilsetning av bioadhesive stoffer kan øke legemidlets transittid i magen eller i tynntarmen ved å:

- minske clearance fra absorpsjonsstedet, slik at tiden som er tilgjengelig til absorpsjon forlenges.
- øke lokal konsentrasjon, eller redusere fortykning.

Fordi bioadhesive midler er svært klebrige vil partiklene også klebes til hverandre, til matrester, kapselrester eller lignende. Denne ikke-spesifikke adhesjon reduserer ifølge Washington reproduserbarheten for slike formuleringssystemer beregnet til peroral absorpsjon [55].

Ved pH-styrt frisetting utnytter man at pH i magen og i tynntarmen er svært ulike. En polymer som er ladet vil ved en gitt pH vil være åpen fordi like ladninger frastøter hverandre. Denne frastøtningen resulterer i poredanning forutsatt at deler av polymerens molekyl er bevegelig, og leder til økt frisetting av et legemiddel som er coatet av polymeren. Ett eksempel på en polymer som er uladet og dermed tettest i magens lave pH (pH 1-5) er etylcellulose. Polymeren kan dermed brukes som en magesaftresistent coating som først åpnes opp når pH blir høyere (som for eksempel i tynntarmen) fordi antall ladede grupper i polymeren her øker. Siden transittiden i magesekken er svært ulik fra person til person, og hos den enkelte er avhengig av aktivitet, kroppsstilling, når det tas i forhold til måltider og måltidets sammensetning, vil en slik coating resultere i varierende tid før legemidlet frisettes fra formuleringen.

Ved tidsstyrt frisetting utnytter man andre parametere som for eksempel polymerlagets tykkelse og/eller i hvilken grad den sveller for å kontrollere frisettingen. Hvis man for et slikt system ønsker frisetting over lengre tid uten bruk av bioadhesivitet, er man avhengig av at legemidlet i noen grad absorberes i tykktarmen og av at det ikke degraderes av bakterier her. Hvis man graderer legemiddelkonsentrasjonen innover i tablettens kjerne med økt konsentrasjon innerst i kjernen kan man allikevel oppnå lineær frisetting i colon, såfremt overforstående forutsetninger er oppfylt.

Stedstyrt frisetting ved hjelp av magnetisme er foreløpig lite brukt. Doseringssystemet består av et magnetisk materiale i tablettkjernen og en eksternt plassert magnet som skal fikse tablettkjernen til den ønskede del av mage-tarmkanalen. Ifølge Washington er det problematisk å få plassert magneten på riktig sted og bedre metodikk kreves før dette kan kommersialiseres [55].

Man kan også utnytte andre faktorer som påvirker magesekkenes tømming av formuleringen over i tynntarmen. Lette enheter som flyter på toppen av mageinnholdet eller svært tunge enheter som legger seg helt i bunnen av magesekken vil ikke så lett tømmes over i tynntarmen. Likeledes kan man lage doseringsformer som folder seg ut eller ekspanderer i magesekken slik at de ikke kan passere pylorus. Disse sistnevnte formuleringene må imidlertid også være biodegraderbare fordi de ellers vil hope seg opp i magesekken. Felles for disse metodene er at de vil gi en forsinket og/eller forlenget frisetting sammenlignet med tradisjonelle tablettformuleringer.

Man kan også tilsette andre legemidler til formuleringen eller velge hjelpestoffer som påvirker magesekkenes tømming eller frisettingen fra formuleringen. Gastrisk motilitet kan hemmes ved tilsetning av en syrepumpehemmer til formuleringen. Valg av bindemiddel i selve granulatet eller eventuelt i tablettens kjerne, vil også kunne påvirke frisettingen. Et hydrofobt bindemiddel forsinker frisettingen, mens for eksempel polyvinylpyrrolidin (PVP) som er hydrofilt, gir en raskere frisetting. Også tilstedeværelse av hydrofobe fyllstoffer eller glattemidler vil kunne virke på samme måte. Siden gallen tilsettes til chymen øverst i duodenum vil en alternativ vinkling kunne være å utnytte gallens emulgerende effekt på fett til å løse opp en fettrik coating.

3.4 Granulat

3.4.1 Hvorfor granulere?

Granulering er en prosess hvor primærpartikler danner større multipartikulære enheter - aggregater. Man velger granulering for å forhindre at bestanddelene i pulverbassen segregerer, for å bedre pulverflyt i produksjonsmaskinene, for å bedre pulverets komprimerbarhet i tablettmaskinen, for å hindre at pulveret klumper seg under lagring eller for å minske dets volum. Det dannede granulatet vil ha bedre produksjonstekniske egenskaper enn primærpartiklene og kan påføres et ytre lag (coates) for å modifisere legemiddelfrisettingen.

3.4.2 Ulike granuleringsmetoder

Fakta i dette kapitlet baserer seg, når ikke andre kilder er oppgitt, på Aultons lærebok: Pharmaceutics [70].

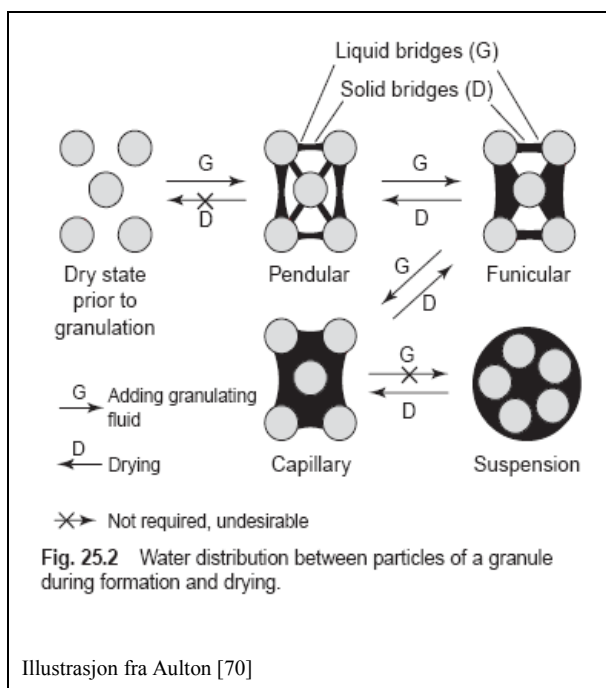
Granuleringsmetodene inndeles vanligvis i tørrgranulering og våtgranulering inkl smeltegranulering.

Ved tørrgranulering dannes partikkelaggregater fordi primærpartiklene (pulveret) presses sammen under høyt trykk. Pulveret kan presses sammen mellom to valser (roller compaction) eller presses til en stor tablett (slugging). Det dannede produktet males deretter til mindre enheter som siktes for å få ønsket størrelse på granulat Kornene. Noen velger å gjenbruke pulverfraksjonen i neste kjøring, andre mener dette gir et mindreverdige sluttprodukt. Denne metoden velges for legemidler som ikke tåler fukt eller hvor granulatet ikke lar seg komprimere etter våtgranulering.

Våtgranulering innebærer at primærpartiklene fuktes. Tradisjonelt blir tørrstoffene først fuktet med en passende mengde flyktig væske hvorpå den fuktige massen presses gjennom en sikt med passende porestørrelse [71]. Man kan bruke manuelle siktemetoder eller Jensen granulater hvor massen skyves frem og tilbake over en perforert plate ved hjelp av en skovle som drives av et drivverk. Etter påfølgende tørking grovsiktes granulatet for å løse opp store aggregater. Ulike metoder for våtgranulering benyttes i farmasøytisk industri: "shear-", "high speed-", "fluidized bed-" og rotorgranulatorer. Hovedforskjellen mellom disse er tiden det tar og hvor effektiv blandeprossessen er. Det resulterende granulatets egenskaper påvirkes av metoden. Granulering ved spraytørring skiller seg fra de andre ved at både legemidlet og hjelpestoffene er oppløst i granuleringsvæsken. Her dannes de faste partiklene fordi oppløsningsmidlet fordamper i selve spraytørkeren.

Alle våtgranuleringsmetodene forutsetter at granuleringsvæsken er flyktig og ikke toksisk. Væsken er vanligvis vann, etanol eller isopropanol evt blandinger av to eller tre av disse. Ofte brukes et bindemiddel løst eller svelt i væsken - for eksempel hydroksypropylmetylcellulose (HPMC) eller gelatin. Hvis granuleringsvæsken inneholder et bindemiddel vil dette hardne og/eller utkrystalliseres når granuleringsvæsken fordamper og granulatet tørker. Dette resulterer i at det dannes sterkere bindinger mellom partiklene. Ethvert annet materiale som utkrystalliseres vil også fremme dannelsen av slike sterkere bindinger. Dette gjelder for eksempel laktose i granulatmassen. Det er imidlertid uheldig hvis selve legemiddelet er løselig i granuleringsvæsken, da dette kan resultere i dannelse av andre krystallformer av legemidlet. Disse krystallformene kan ha endret oppløselighet, og dermed resultere i endret absorpsjon av legemidlet.

Figur 3.9 Vannfordeling mellom ulike bindingsfaser



Under våtgranuleringen vil væsken fordele seg som en film rundt og mellom partiklene. Ulike bindingsfaser inntreffer når væske tilsettes til faste partikler. I pendular fase holdes partiklene sammen av linseformede ringer av væske mellom partiklene. Antall væskebroer øker inntil kapillær fase hvor tilnærmet alle hulrom er væskefylt og kapillærkrefter i luft/væske- interfasen holder partikkelen sammen [70]. Det er her fri væske i overflaten og partikkelens deformbarhet øker slik at når to partikler kolliderer vil det kunne dannes større partikler ved koalescens

[71], - forutsatt at bindingskreftene i kontaktflaten er større enn de mekaniske kreftene som drar dem fra hverandre. Partikkelvekst kan også skje ved at små primærpartikler fester seg til overflaten av partikkelen (adhescens). Det fuktige granulatets bruddstyrke øker med økende væskemengde. Bruddstyrken tredobles fra pendular fase til kapillær fase. Ytterligere væsketilførsel til et granulat i kapillærfasen vil medføre overfukting og deretter dråpedannelse inntil det dannes en suspensjon. Massen blir deigaktig og danner spagettitråder under granuleringen og ikke som ønskelig små, ensartede, sfæriske partikler. Denne fasen er uønsket ved våtgranulering men utnyttes ved spraytørring.

Også andre parametere enn væskemengden påvirker granulatdannelsen, - for eksempel pulverets fukttegenskaper, bindemiddelets viskositet, temperatur, røretid, utstyret som brukes og hvilke flater som kommer i kontakt med massen [72]. Mekanisk bearbeiding medfører at primærpartiklene pakkes tettere sammen. Det blir da mindre plass til granuleringsvæsken mellom partiklene, og væske presses ut mot partikkeloverflaten som blir mer fuktet. Økt mekanisk bearbeiding disponerer dermed for partikkelvekst, selv uten at mer væske blir tilsatt.

Smeltegranulering er en alternativ våtgranulering som velges hvis massen ikke tåler komprimering under trykk og/eller ikke tåler væsken som brukes ved våtgranulering. Det velges her et bindemiddel som smelter ved lav temperatur (50-80 °C) men som er fast ved romtemperatur. Bindemiddel i fast form settes til pulverblandingen og smeltes i granulatorene. Dermed fuktes pulverblandingen. Når den fuktige massen er ferdigbehandlet avkjøles den til romtemperatur. Dette resulterer i dannelsen av faste granulat-korn som deretter siktes.

3.5 Coating

3.5.1 Hvorfor coate?

Ved coating påføres det et ytre lag utenpå en kjerne. Som regel påføres en polymer. Valg av polymer avhenger av hvilke årsaker det er til at man coater, polymerens fysiske egenskaper og dens toksisitet.

Coating benyttes av ulike årsaker. For eksempel for å

- modifisere frisettingen
- minske bivirkninger som skyldes direkte kontakt mellom doseringsform og slimhinner
- maskere ubehagelig lukt eller smak
- lette identifisering
- forbedre utseendet
- lette svelging
- forbedre mekanisk styrke slik at formuleringen tåler pakking og transport
- unngå at pasientens klær og hender kommer i direkte kontakt med aktiv substans
- bedre kjemisk eller fysisk stabilitet ved å beskytte legemidlet mot omgivelsene – det være seg påvirkninger fra luften eller forhold i magetarm-kanalen

3.5.2 Ulike coatingmetoder

Det finnes mange ulike måter for å påføre kjerner et polymerlag.

- Immersjonscoating er nedsenking av formuleringen i drasjeringsmediet og påfølgende tørking.
- Presscoating er påføring av et ytre lag på kjerneenheten i selve tablettmaskinen.
- Pancoating er oppvarming av kjernene ved bruk av varmluft i en varmet stålkolbe og tilføring av flytende polymerblanding eller forsiktig tilføring av polymer i pulverform samtidig som et bindemiddel sprayes på. Kjernene holdes i konstant bevegelse bestemt av kjelens rotasjon og kolbens helning i forhold til rotasjonsaksen. Det finnes tette kolber hvor luften kun sirkulerer inne i selve kolbe, og helt eller delvis perforerte kolber som tillater at luften passerer gjennom kolbevegg, innholdet i kolben og ut igjen gjennom motsatt sides perforerte vegg. Disse siste har mye større tørkekapasitet og kan automatiseres helt.
- Fluidbedcoating er tilføring av flytende polymeroppløsning eller -dispersjon via en høytrykksdyse, samtidig som kjernene holdes ”svevende” og i bevegelse lenge nok til at væsken fordamper. Kammeret hvor sprayingen skjer er derfor oppvarmet. Dysen kan være plassert i bunnen (Würsterinnsats) eller i toppen av selve kammeret. Se vedlegg 1. Ved riktig bruk og justering av variabler som sprayhastighet og innluftens temperatur og trykk, kan man forhindre at granulatkornene aggregerer eller danner kompakte enheter i bunnen av fluidbed kammeret.

3.5.3 Ulike coatingformuleringer

Polymere brukt som filmdannere må være i stand til å stivne og danne sammenhengende filmer. I farmasien brukes midler hvor løsemidlet eller dispersjonsmediet fordamper. Ulike polymerer har forskjellige egenskaper avhengig av deres innhold av funksjonelle grupper, løselighet og glasstransisjonstemperatur (T_g). T_g er det temperaturintervall hvor et amorft materiale går fra å være i en sprø, ufleksibel tilstand hvor molekylets bevegelse er ”frosset”, via økende bevegelse av først sidekjeder og deretter hovedkjeder inntil det er dannet en elastisk, gummiaktig tilstand. For dispersjonen av ikke-løselige polymerer har også de disperse partiklenes størrelse betydning for filmdannelsen [73].

Filmdannere som brukes innen farmasien og som egner seg til coating [74]:

- Cellulosederivatene er naturprodukter og deres fysiokjemiske egenskaper kan derfor variere noe fra batch til batch og fra leverandør til leverandør. Dette kan påvirke frisettesegenskapene slik at disse blir mindre reproducerbare.

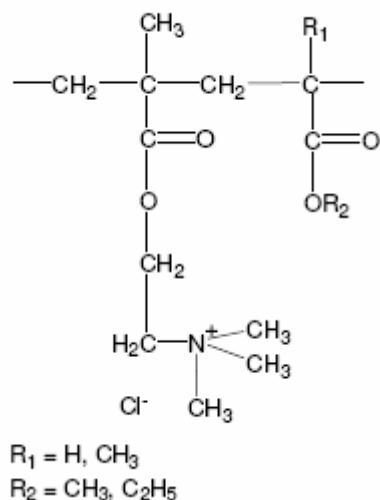
Tabell 3 ulike cellulosederivater og deres løselighet

Navn og vanlig brukt forkortelse	Løselighet i		
	Vann	Organiske løsemidler	Kun i basisk miljø
methylcellulose MC	+		
hydroxyethylcellulose HEC	+		
hydroxypropylmethylcellulose HPMC	+	+	
hydroxypropylcellulose HPC	+	+	
ethylcellulose EC		+	
hydroxypropylmethylcellulose acetat succinat HPMC-AS			+
celluloseacetat phtalat CAP			+
hydroxypropylmethylcellulose phtalat HPMCP			+
carboxymethyl ethylcellulose CMEC			+

Kilde [74]

- Flere leverandører leverer syntetisk fremstilte poly(meth)acrylat copolymerer. Fordelen med disse er at copolymeren dannes ved fri-radikal polymerisasjon og at det derfor kan bygges inn monomerer med ønskede egenskaper i den lange polymerkjeden. Innholdet av funksjonelle grupper i poly(meth)acrylat polymeren og mengden av disse avgjør produktets legemiddelfrisettende egenskaper, og også dets løselighet. Polymeren leveres i flere ulike kvaliteter beregnet til å frisette legemidlet under forskjellige forutsetninger. Produktene oppløses i angitte løsemidler og noen leveres som dispersjoner beregnet til fortykning med vann. Produsenten Degussa leverer flere poly(meth)acrylat polymerer under merkenavnet Eudragit: Eudragit® E, Eudragit® L, Eudragit® S, Eudragit® NM, Eudragit® NE, Eudragit® RL og Eudragit® RS [73]. Sistnevnte produkt er kun løselig i organiske løsemidler men finnes også som dispersjon.

Figur 5.1 Oppbygging av poly(meth)acrylatpolymeren Eudragit® RS



Figur fra leverandøren – Degussa [73].

polymerens svellbarhet og permeabilitet [73, 76]. Fordi RS-formuleringen inneholder få kvartinære ammoniumsgrupper sveller de mindre enn for eksempel RL-formuleringen hvor forholdet er 1:20. RS-filmen er bare litt permeabel for legemidler. Gitt at polymeren danner en sammenhengende film, vil justeringer av lagtykkelsen kunne gi forsinket frisetting av legemidlene dvs. en lagtid. T_g for polymeren Eudragit® RS er 65-70 °C. For dispersjonen Eudragit® RS 30 **D** er gjennomsnittlige partikkelstørrelse 100 nm og MFT er oppgitt til å være 45-47 °C [73].

- Naturlige coatinger som skjellak og ulike typer voks er mindre vanlig brukt i dag.
- Polyvinyl pyrrolidon (PVP) og polyvinyl acetat phtalat (PVAP) kan også brukes til coating. Førstnevnte er løselig i vann og organiske løsemidler. Sistnevnte er kun løselig i basisk miljø.

3.5.4 Filmdannelsesmekanisme for en polymeroppløsning

Når polymeren er i oppløst form finnes den som isolerte kveiler. Forutsatt at i det minste noen deler av polymeren er mobil, vil polymerkjedene begynne å penetrere hverandre hvis løsemidlet fordampes sakte nok. Filmlagets egenskaper avhenger av størrelsen på maskenettet som dannes når polymerkjedene penetrerer hverandre, graden av slik penetrering og av bindingsstyrken til de intermolekylære bindingene som dannes i knutepunktene mellom polymermolekylene. Både krystallinske og amorfe strukturer kan dannes. I amorfe områder finnes svakt sammenbundne, løse coiler av polymerpartikler som kan interagere og danne et

fleksibelt nett. Krystallinske områder er svært ordnet og rigide. Hvis det kun dannes slike bindinger vil resultatet lett bli avskalling, sprekkdannelse og andre fysiske defekter på filmlaget.

Vannløselige polymerer – spesielt cellulosederivatene – brukes for å beskytte kjernen mot omgivelsene eller bedre lukt, smak eller utseende. Alle cellulosederivater danner transparente, elastiske filmer avhengig av celluloseeterens løselighet og polymermolekylets oppbygning dvs. mengdeforholdet mellom celluloseeter og cellulose. Lavviskøse former er ofte foretrukket siden disse gir minst problemer med klebrighet. Det kan være en fordel å tilsette en mykgjører, - spesielt hvis formuleringen inneholder skarpe hjørner/kanter.

Vannuløselige polymerer løses ofte i organiske løsemidler. Polymermembranens tykkelse bestemmer legemiddeldiffusjonen. Pga av de organiske løsemidlenes toksisitet og eksplosjonsfare er bruk av dem underlagt restriksjoner. Ved coating med slike polymerer brukes derfor ofte vandige polymerdispersjoner [71]. Polymeren tilsettes ofte hydrofile stoffer eller mykgjørere for å manipulere frisettingen. Generelt gjelder at hydrofile mykgjørere resulterer i coatinger med høyere permeabilitet enn lipofile mykgjørere.

3.5.5 Filmdannelsesmekanisme for en poly(meth)acrylat dispersjon

Det finnes ulike fabrikkproduserte dispersjoner av vannuløselige polymerer som ikke krever tilsetning av organiske løsemidler. Dispers fase er den vannuløselige polymeren. Slike dispersjoner består av polymersfærer og ikke individuelle løste polymermolekyler. En dispersjon med dispers fase i størrelsesorden 10-1000 nm kalles en latexdispersjon [71]. Minimum filmdannende temperatur (MFT) er den laveste temperatur hvor det dannes en sammenhengende homogen film. MFT er for en dispersjon avhengig av selve polymeren, coatingprosessen, polymerens T_g og de dispergerte partiklenes størrelse. Forutsatt at polymersubstansen er tilstrekkelig bløt og temperaturen er over den minimale filmdannelsestemperaturen (MFT) vil følgende skje:

Figur 3.10 Filmdannelse for en poly(meth)acrylatdispersjon

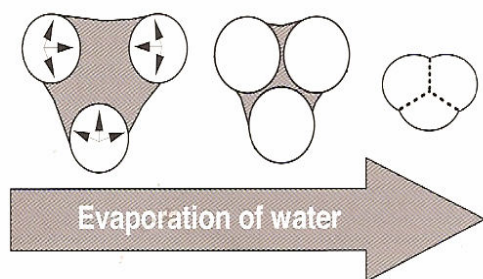


Figure 3: Film formation from a dispersion

Fra trinn 1 fordamper vannet inntil partiklene i trinn 2 kun er atskilt av et tynt vannlag. Ved fortsatt fordamping deformeres latexpartiklene pga overflatespenningen inntil det i trinn 3 er dannet en sammenhengende film - forutsatt at polymersfærene er tilstrekkelig elastiske [73].

Det er en hovedregel at produkttemperaturen under coatingprosessen må være 10-20 °C høyere enn MFT for å sikre et uniformt polymerlag. I praksis medfører dette ofte at en mykgjører (plastizicer) må tilsettes. Tilsetning av en mykgjører minsker MFT slik at det dannes et fleksibelt og tett lag ved lavere temperatur. Lavelastiske poly(meth)acrylat-polymer typer som Eudragit® RS krever 5-20% (w/w av tørr polymervekt) tilsetningen av mykgjører. Et eksempel på en slik mykgjører er triethylcitrat (TEC). 10% TEC i den bruksferdige polymeren senker MFT fra 47°C til 20°C, og 20% TEC senker MFT til 5°C [73]. Også andre mykgjørere kan tilsettes men ikke alle reduserer MFT nok.

3.5.6 Curing

Curing er oppbevaring av coatet granulat ved en høyere temperatur i en gitt periode. Dette gjøres for å bedre koalescence av polymerdråpene på granulatoverflaten. Dermed elimineres faren for et imperfekt coatinglag og det oppnås lettere en sammenhengende film på partikkeloverflaten. Dette sikrer en forutsigbar frisetting over polymerlaget.

En poly(meth)acrylats legemiddelfrisettende egenskaper påvirkes av lagring [77, 78]. Curing i en temperatur over T_g medfører at polymerens egenskaper påvirkes i mindre grad. H. S. AlKhatib og medarbeidere fant i 2003 at ved å øke Eudragitdispersjonens curingtid (ved 50 °C) fra 12 til 24 timer, ble både 2- og 4-timers frisetting fra Eudragitcoatede teofyllintabletter redusert. (For frisetting etter 4 timer hadde også polymerens sammensetning og membrantykkelsen betydning. Fra 8 timer var det kun selve polymerens permeabilitet for legemidlet som avgjorde frisettingsgraden) [77].

3.5.7 Frisettingsmekanismer fra coatede formuleringer

Vi snakker om to ulike mekanismer for legemiddelfrisetting over en polymer:

Løselighetsbarrieremekanismen og poremekanismen. I praksis avgjøres permeabiliteten ofte en kombinasjon av disse to mekanismene hvor den ene av dem dominerer.

Når den coatede formuleringen eksponeres for frisettingsmediet dannes en gel som utgjør en diffusjonsbarriere rundt formuleringen. I løselighetsbarrieremekanismen løses legemidlet i polymerstrukturen og diffunderer derfra ut gjennom gelen. Tykkere geler øker diffusjonslengden og reduserer dermed frisettingen.

I poremekanismen skjer frisettingen av legemidlet ved diffusjon gjennom porer i polymermembranen. Hastigheten er hovedsaklig bestemt av porestørrelsen i membranen og molekylstørrelsen på stoffet som skal diffundere ut.

Også andre faktorer kan ha betydning for frisettingen over filmlaget: polymerens ioniseringsgrad, graden av kryssbinding og eventuelt andre interaksjoner i selve polymeren.

Eudragit® RS er en kationisk polymer pga sitt innhold av kvartinære ammoniumgrupper. I fast form er ammoniumsgruppene kloridbundet. Disse kvartinære ammoniumsgruppene gjør polymeren ladet og frie mobile deler av polymeren vil frastøte hverandre slik at det dannes porer hvor en diffusjon av legemiddelet kan skje. Ifølge Wagner og medarbeidere [79] penetrerer vann raskt inn i membranen. I den hydratiserte polymeren byttes klorid-ionene ut med anioner i frisettingsmediet. Desto sterke anionene bindes til ammoniumsgruppene, desto mindre ladet blir den. Både anionenes størrelse og om de er mono- eller divalente har betydning. Divalente anioner vil kunne kryssbinde ammoniumsgruppene og er derfor mindre effektive poredannere enn monovalente anioner [79].

Figur 3.11 Teori for poredannelse i poly(meth)acrylat polymeren Eudragit® RS

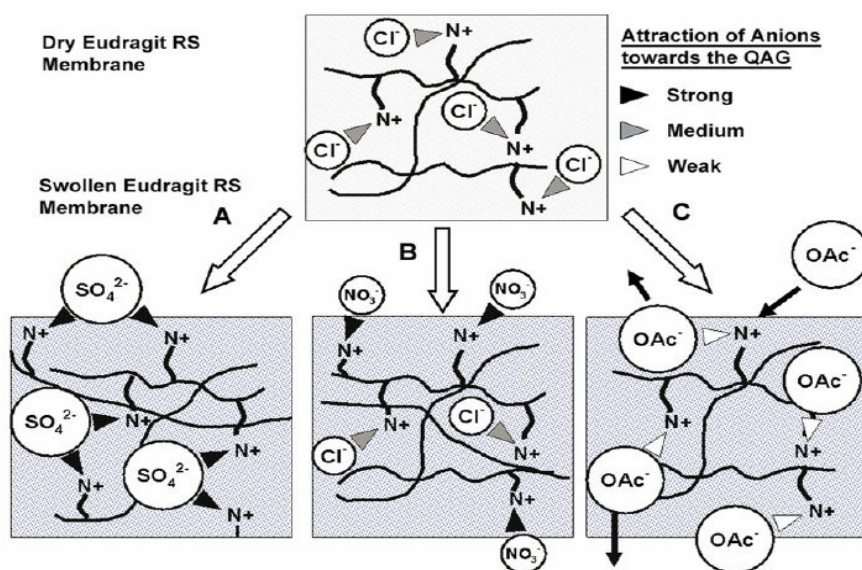


Figure 5. Plasticizer leaching from Eudragit RS 30D membranes (Table 1, film III) (n = 6, mean ± 95% confidence interval, media: ● = 0.01 M sodium acetate, Δ = 0.01 M sodium sulfate, ○ = 0.01 M sodium nitrate).

Illustrasjon fra [79].

Frissetingen over polymeren kan modifieres hvis det er et overskudd av lettbindende anioner i umiddelbar nærhet av de kvartinære gruppene. Slike lettbindende anioner vil ifølge Wagner kontinuerlig men kortvarig, bindes til og deretter løsne fra ammoniumsgruppene. Denne fluxen av anioner fra polymerens ammoniumsgrupper gir en ladning som åpner den opp. Når anionene dras inn i polymeren og mot de positive ladningene vil anionenes hydratiseringslag resultere i økt vanntilstrømning inn i polymeren [79].

3.5.8 Annet

Glattemiddeltilsetning

Både polymerløsninger og -dispersjoner gjennomgår en klebrig fase under tørkingen. Når man har brukt mykgjørere for å senke MFT kan dette bli et problem under selve coatingprosessen, den påfølgende curingen og ved lagring av produktet. For å forhindre at partiklene klebes sammen tilsettes ofte glattemidler til coatingvæsken. Ofte velges talkum i mengder på 25-100% (w/w) av tørr polymervekt [73]. Talkumtilsetningen er vist ikke å påvirke frissetingen [80]. Andre glattemidler som glycerolmonostearat, silika eller magnesiumstearat kan også brukes [81].

3.6 Statistisk forsøksplanlegging

Fakta i dette kapitlet baserer seg, når ikke andre kilder er oppgitt, på Esbensens lærebok: Multivariate data analysis – in practice [82].

3.6.1 Hvorfor bruke statistisk forsøksplanlegging

Statistisk forsøksplanlegging er et verktøy for systematisk undersøkelse av ulike parameteres innvirkning på et produkts egenskaper. Verktøyet muliggjør å variere flere faktorer samtidig slik at man får mer informasjon fra færre forsøk.

Screeningdesign brukes for å finne hvilke parametere som påvirker produktet. Til gruppen screeningdesign hører: faktordesign, fraksjonelt faktordesign og Plackett-Burman design.

Ved optimaliseringsdesign finnes den optimale sammensetningen av de faktorene man fant hadde betydning i screeningdesignforsøkene. Til optimaliseringsdesign brukes: faktordesign med 3 eller flere nivå, central composit design eller Box-Behnken design.

3.6.2 Screeningdesign

I et faktordesign – fullfaktorielt og fraksjonelt faktorielt – undersøkes det om det å forandre X-variabler har effekt på responsen(e) Y. I et fullfaktorielt design undersøkes samtlige kombinasjoner av n variabler på x nivåer med x^n eksperimenter. Antall nivåer velges ut ifra om man forventer en lineær sammenheng eller ikke. Forventes lineær sammenheng velges 2 nivåer - for eksempel høy og lav konsentrasjon. Hvis sammenhengen ikke er lineær må man velge flere nivåer. I et fullfaktorielt design kan man estimere hovedeffektene av alle designparametrene og alle samspillseffektene hver for seg. Det kalles samspill hvis den kombinerte effekten av to X-variable ikke er lik summen av hovedeffektene til de samme variablene hver for seg. I et fraksjonelt faktorielt design bruker man færre forsøk på å undersøke de samme X-variablene. Noe informasjon kan gå tapt og noen effekter kan sammenblandes. Men dette kan gjøres fordi man i mange problemstillinger kan anta at samspilleffekter mellom 3 eller flere variabler er forsvinnende små. Fordi samspillseffekter ikke kan analyseres atskilt bør man prøve å designe slike forsøk på en måte som eliminerer at samspill som har betydning blandes sammen. Hvis hver faktor har to nivå er antall forsøk i et fraksjonelt faktorielt design 2^{n-k} , hvor n er antall designvariabler og k er en reduksjonsfaktor.

For å beskrive graden av samspill klassifiserer faktorielle design med oppløsning VI-III:

- Oppløsning VI: ingen hovedeffekter eller samspillseffekter er blandet \approx fullfaktorielt.
- Oppløsning V: verken hovedeffekter og 2-faktorsamspill er blandet.
- Oppløsning IV: 2-faktorsamspillene er blandet med hverandre og hovedeffekter er blandet med 3-faktorsamspill.
- Oppløsning III: hovedeffekter er sammenblandet med 2-faktor samspill.

Plackett-Burman design gir en redusert forsøksplan og brukes ofte innledningsvis i et sceeningsdesign for å finne om variablene har betydning. Man kan her ikke studere samspill og hver hovedeffekt er sammenblandet med flere samspill.

3.6.3 Optimaliseringsdesign

Foruten faktordesign med mer enn tre nivåer kan man velge central composite design som tilsvarer en utvidet fullfaktordesign hvor antall nivåer er fem dvs. som inneholder ekstreme verdier. Man kan også benytte Box-Behnken design som inneholder tre nivåer av hver faktor, men helt mangler ekstreme kombinasjoner.

3.7 Multivariat dataanalyse

Multivariat dataanalyse består av ulike metoder hvor det lages en modell som beskriver hvordan variasjonene i respons (Y) relateres til flere X-variabler [83]. Metodene brukes for å analysere og visualisere data funnet ved alle typer forsøk. Eksempel på slike analysemetodene er MLR, PCA, PCR, PLS og ANOVA. Hvilken metode man velger avhenger av designmetode og av hvilke resultater man har fått.

PCA, PCR og PLS er bilineare metoder. Dette betyr at de kan brukes når det er co-linearitet mellom X-variablene. To variabler X_1 og X_2 er co-lineære når det er et lineært forhold mellom dem dvs. når $X_1 = \lambda X_2$. MLR kan kun brukes når det ikke er co-linearitet.

Det er vanlig å dele analysen i to trinn: kalibrering (lage en modell) og validering (teste hvor god modellen er).

3.7.1 Kalibrering og validering

Å kalibrere vil si å finne den modellen som best beskriver sammenhengen mellom X og Y. Dette gjøres ved å benytte regresjonsmetoder. Modellen kan deretter brukes på fremtidige X-verdier for å predikere nye responser dvs. Y-verdier. På denne måten kan man redusere behovet for å måle mange responsvariabler og dermed spare både tid og penger.

Validering betyr å teste modellens prediksjonsevne. En modell som bare inneholder systematisk variasjon og lite støy, vil predikere nye prøver med stor nøyaktighet.

Ulike valideringstyper finnes: testsett-validering, kryssvalidering og leverage corrected validering.

- Ved testsett-validering kreves det et fullstendig nytt datasett. Den kalibrerte modellen predikerer (spår) Y-verdiene og disse predikerte verdiene blir deretter sammenlignet med testsettets Y-verdier.
- Kryssvalidering kan være full eller segmentert. Her fjernes ett og ett objekt eller ett og ett segment fra modellen, og dette ene brukes til å teste den kalibrerte modellen. Dette gjøres for alle objekt/segment.
- Leverage corrected validering brukes i begynnelsen av modelleringen fordi den er svært rask. Datasettet fra kalibreringen brukes også til validering, men verdiene korrigeres for hvor stor påvirkning (leverage) de har på modellen. Ved validering av endelig modell velges enten kryssvalidering eller helst testsettvalidering, fordi disse er mer pålitelige valideringsmetoder.

3.7.2 Metoder for multivariat modellering

Multiple lineær regresjon (MLR) er en regresjonsmetode basert på minste kvadraters metode. Metoden relaterer variasjoner i én responsvariabel(Y) til variasjoner i flere X-variabler. Metoden forutsetter at det ikke er korrelasjon mellom X-variablene og at det er flere variabler enn prøver. Viktige plott er:

- predikert mot målt - for å undersøke hvor god modellen er til å predikere nye verdier. En god modell har korrelasjon og stigningstall nær 1.
- regresjonskoeffisient – designvariabler eller samspill som har høy regresjonskoeffisient forklares bra av modellen. Faktorer med lav verdi kan forsøksvis fjernes én etter én, for å se om dette bedrer modellens signifikans. Signifikans finnes ved å velge analysis of variance - ANOVA.
- responsflate – gir en lettfattelig visualisering av hvilke designvariabler som påvirker de ulike responsvariablene. Er spesielt nyttig hvis det er signifikante samspill.

Analysis of variance (ANOVA) brukes for å teste signifikansen til de ulike faktorene som er inkludert i modellen. ANOVA-resultatene presenteres i form av sum of squares (SS), antall frihetsgrader (DF) -, mean squares (MS), F-verdi og signifikansnivå (p-verdi).

Principalkomponent analyse (PCA) brukes for å få et overblikk over datastrukturen. Her synliggjøres mønstre, grupperinger, likheter og ulikheter i tallmaterialet. Det skilles ikke mellom designvariabler og responser. I PCA blir informasjonen i de originale variablene projisert ned på et mindre antall underliggende variabler kalt prinsipalkomponenter.

Principalkomponent 1 (PC 1) dekker så mye av variasjonene i dataene som mulig dvs. legges i retningen med maksimal variasjon, PC 2 velges vinkelrett på PC 1 og legges i retningen som dekker mest mulig av gjenværende variasjon som mulig osv. Ved å plote principalkomponentene mot hverandre kan man studere grupperinger av prøvene, avsløre uteliggere dvs. enkeltprøver som skiller seg veldig fra alle de andre, samt undersøke om variablene er korrelerte eller uavhengige av hverandre. Viktige plot i PCA er

- scoreplot - viser grupperinger, uteliggere og trender.
- loadingplot - viser sammenheng mellom variablene.
- forklart varians – viser hvilke PC som forklarer en gitt X.

Principal komponent regresjon (PCR) er en sammensatt metode som relaterer variasjoner i responsvariablene (Y) til variasjoner i X-variablene. Dette er en to-trinns metode: Først brukes PCA på X-variablene. De resulterende principalkomponentene brukes så til modellering i MLR.

Partial least squares regression (PLS) er også en regresjonsmetode basert på minste kvadraters metode og relaterer variasjonene i én (PLS 1) eller flere (PLS 2) Y-variable til variasjonene i flere X-variable. Metoden resulterer i latente variabler (PLS-komponenter) i ordnet rekkefølge. PLS 1 er den som er mest egnet til å spå Y-variablene. Metoden er spesielt nyttig hvor det er mye korrelasjon eller co-linearitet. Signifikans finnes ved å velge uncertainty test og signifikansnivå 0,05. Viktige plott i PLS er:

- scoreplot - angir hvor mye en prøve bidrar.
- loading plot – angir hvor mye en variabel bidrar.
- influence plot - viser i hvor stor grad modellen påvirkes av prøven (leverage), plottet mot i hvilken grad prøven påvirkes av modellen (residual). Uteliggere oppdages lett fordi disse ligger langt ute og oppe til høyre.

- loading weights - viser hvor mye hver X-variabel bidrar med for å spå Y-variablene)
- regresjonskoeffisient (se ovenfor).
- responsflate: (se ovenfor).

4 MATERIALE OG UTSTYR

4.1 Materiale

Tabell 4.1 Materiale brukt i forsøkene

Materiale	Distributør
Hydroclorid acid fuming 37%	Merck, Tyskland
Natriumhydroksyd	Merck eurolab, Norge
Natriumtrifosfat	Merck
Riboflavin	Sigma-Aldrich, Norge
Lactose anhydricus 0,15 mm	Norsk medisinaldepot
Methocel® 2208 viskositet 4000 = hydroksypropylmethylcellulose 90SH-4000SR	Shin-Etsu Chemical Co. Ltd. Japan
Destillert vann	
PVP = polyvinylpyrrolidin	BDH Laboratories England
Natrium acetat anhydricus	Merck KGoA, Tyskland
Eudragit® RS 30 D	Degussa, Tyskland
Talkum	Norsk medisinaldepot
Triethylcitrat	Merck
USP standard dissolution disintegrating test tablets: Prednisone 50 mg non disintegrating test tablets: Salicylic acid	USP Rockville MD Cat.no. 55950 Lot L

4.2 Oppløsninger brukt som frisettingsmedium og til pH justeringer.

0,1M saltsyre:

49,26 g saltsyre ble innveid og destillert vann ble tilsatt til 5 liter. Løsningen ble regulert til pH 1 ved hjelp av 2M HCl eller 2M NaOH.

0,2M natriumfosfatbuffer:

76 g natriumtrifosfat ble veid inn og løst i destillert vann til 1 liter. Løsningen ble satt på omrøring i ca 2 timer.

2M saltsyre til pH justering:

197,1 g saltsyre ble innveid og destillert vann tilsatt til 1 liter.

2M natriumhydroksyd til pH justering:

80 g natriumhydroksyd ble innveid og destillert vann tilsatt til 1 liter.

0,01M natriumacetat:

8,16 g vannfri natriumacetat ble innveid og destillert vann tilsatt til 6 liter. pH ble justert til 6,8. Denne oppløsningen ble kun brukt som frisettingsmedium i innledende forsøk.

4.3 Utstyr

Vekter, Mettler PE 3600 og Sartorius ME235S.

Kenwood electronic major blandemaskin, England.

Jensen granuleringsmaskin.

Magnetrører.

Uni-Glatt fluidbed med Würsterinnsats dvs. bunnsspraying.

Watson Marlow V 1505S peristaltisk pumpe – brukt til levering av coatingvæske.

Tørkeskap.

Varmeskap m automatisk temperaturregulering Thermaks 6000.

Sikt 0.3, 0.7, 1.0 og 1.7 mm.

Paddle-apparatut: Sotax AT6 dissolutiontester med Sotax CY6 pumpe.

Ultraspec III UV/Vis spectrophotometer. Resultatene registreres av dataprogrammet TDS (tablet dissolution system) fra LBK Biochrom.

Shimadzu 160A spektrofotometer - brukt til UV-Vis spekter.

IEC Centra MP4 ultralydbad , USA.

5 METODER

5.1 In vitro frisetting

Frisettingforsøkene ble utført som beskrevet i paddlemetoden i Den europeiske farmakopé [84]. Paddleapparatet består av seks frissettingskar plassert i et vannbad med justerbar temperatur og seks ”paddlere” hvis hastighet styres av en motor. Hastigheten kan justeres trinnløst. Frissettingskarene har kapasitet på 1 liter væske og er utstyrt med lokk som forhindrer fordamping. Frisettingmediene ble oppvarmet til, og temperaturen holdt, på $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ under hele frissettingsforsøket. ”Paddle”hastigheten ble innstilt på 100 dvs. 100 runder pr minutt.

Frisettingsmedier:

- Standard frissettingsmedium = 2 timer i 750 ml HCl justert til pH 1, deretter heves pH til 6,8 ved tilsetning av 250 ml fosfatbuffer, hvorpå endelig pH-justering skjer ved tilsetning av NaOH eller HCl.
- 1000 ml destillert vann
- 1000 ml 0,01M Na-acetatløsning (kun i forforsøkene).

Pumpen Sotax CY6 pumper med et forhåndsbestemt intervall en gitt mengde frissettingsmedium over i spektrofotometeret. For å sikre at væsken som testes kommer fra frissettingskammeret og ikke er rester etter forrige måling som har blitt liggende i slangen eller kyvetten, startes pumpen automatisk fem minutter før prøven avleses, Pumpen leverer den testede væsken tilbake til frissettingskaret, slik at totalvolumet ikke endrer seg i løpet av tiden forsøkene kjøres.

Absorbansmålingene registreres i dataprogrammet TDS (tablet dissolution system). Dataene registreres automatisk, lagres i en datafil og overføres via en diskett til et regneark for videre databehandling og resultatpresentasjon.

5.2 Tillaging av kjernepartikler

5.2.1 Pulverblanding

De tørre stoffene ble avveid og blandet volumetrisk i en stålbolle før de ble maskinelt blandet i Kenwood electronic major blandemaskin i 15 minutter. For å sikre homogen blanding ble

maskinen stoppet og pulver skrapet ned fra veggene og opp fra bunnen tre ganger i løpet av denne perioden. (Ved hhv ca 4, 6 og 8 minutter).

I innledende forsøk ble kun laktose og riboflavin blandet. I seinere forsøk ble også 1% tørr HPMC tilsatt til massen før granuleringen, for å gjøre granulatet mer robust.

5.2.2 Bindemiddel

Vid stålbolle ble forvarmet over damp. Aqua purificata ble avveid i en kolbe, kolben påført et folielokk og innholdet varmet opp til over 80 °C på vannbad. Vannet ble helt over i stålballen mens denne fortsatt stod over damp. Innveid bindemiddel ble siktet over vannet (sikt 0.3 mm) og raskt blandet i til jevn klumpfri konsistens. Stålbolle m innhold og rørerredskap ble tarert. Væsken stivnet raskt til en stiv gel når den kom opp mot kaldere partier av stålballen og hvis tilsetningen gikk for sakte. Jeg måtte derfor beregne stort svinn og lagde dobbel mengde av det jeg trengte for å få nok HPMC-væske i rimelig tyntflytende kvalitet.

5.2.3 Granulering

En 70-80 °C varm løsning av valgt bindemiddel ble i løpet av 1-2 minutter tilført, inntil ønsket konsistens på pulvermassen. Forbruk av løsning ble notert. Massen ble deretter bearbeidet i Kenwood electronic major blandemaskinen i ytterligere 8-10 minutter inntil riktig konsistens. Riktig konsistens var følelse av kram snø når man lett klemte pulveret sammen. Klumpen som ble dannet når man klemte blandingen sammen måtte tåle noe belastning før den smuldret opp. Granulatmassen ble så lagt til svelling i dobbelt lag plast i 1-2 døgn (mørkt og ved romtemperatur). Massen ble deretter tømt i granuleringskaret i Jensen granulator. Her skyver en skovl massen fram og tilbake over en perforert plate med valgt hulldiameter.

5.2.4 Tørrking

Granulatet ble tørket på papir i tørkeskapets bakker. Tørrkingen foregikk ved romtemperatur og i 1-2 døgn. Granulatet ble deretter grovsiktet med sikt 3 mm for å løse aggregater.

5.2.5 Bestemmelse av granulatets kvalitet

Kvaliteten på vått granulat ble i innledende forsøk (for å finne optimal væske- og bindemiddeltilsetning) bedømt visuelt ut fra parametere som spagettidannelse og synlig pulvermengde i det våte granulatet. Da jeg fant fram til et akseptabelt granulat, ble kvaliteten vurdert ut fra prosentvis utbytte av granulat i riktig størrelse. Fraksjonene ble beregnet som %

av innveid tørrstoffmengde. Det tørkede granulatet ble siktet manuelt. Porestørrelse på siktene: 0.3, 0.7, 1.0 og 1.7 mm.

Kvaliteten på tørt granulat ble i initielt bedømt ut ifra hvor mye belastning de tørkede granulat-kornene tålte når jeg klemte det mellom fingrene. Da jeg kom fram til en sammensetning som tålte mye belastning, testet jeg granulatet i fluidbed for å se om det var robust nok til å tåle coatingprosessen.

5.3 Coating

5.3.1 Tillaging av coatingvæske

HPMC+ Na acetat:

Hhv 6,25 og 12,5% Na acetat og HPMC ble blandet og tilsatt vannfasen.

1% HPMC: Løsningen ble oppvarmet til ca 80 °C, deretter avkjølt til 60 °C og coatingen foretatt med oppløsningen stod på magnetrører.

5% HPMC løsning: For å unngå klumper stod løsningen på magnetrører over natten. Før bruk ble den varmet opp og behandlet som ovenfor.

PVP + Na acetat:

Hhv 6,25 og 12,5% Na acetat ble løst i vann og 1% eller 5% PVP (polyvinylpyrroliden) tilsatt. Blandingen ble oppvarmet til 60 °C og coatingen foretatt mens den stod på omrøring.

Eudragit RS 30 D:

Bruksferdig Eudragit®RS 30 D ble tillaget etter retningslinjer fra produsenten [85].

Tabell 5.1 Eudragit®RS 30 D sammensetning

Innholdsstoffer	Mengde til 300g bruksferdig løsning	Prosedyre
Talkum	17,7 g	Avveid i et begerglass og homogenisert med Bamix stavmikser i 10 minutter
Triethylcitrat	7,2 g	
Vann	157,4 g	
Eudragit® RS 30 D	117,6 g	Tilsatt til begeret ovenfor. Begeret ble satt på omrøring (ca 100 omdreininger pr minutt) i 15 minutter før løsning ble sprayet på

5.3.2 Fluidbed coating

Coatingen ble utført i Uni-Glatt fluidbed med Würsterinnsats (= bunnsspraying). Se vedlegg 1. Følgende innstillinger ble valgt: inlet air 1, inlet temp 40 °C, luftstrøm 35. Innersylindere var hevet til 1 cm over den perforerte bunnplaten. Luftstrømmen måtte justeres opp ved tegn til aggregering og ned hvis partikkelstørrelsen var liten. Luftstrømmen ble justert til uniform bevegelse av kjernene. Kjernene ble først oppvarmet i fluidbedkammeret til 40 °C. Deretter ble coatingvæsken tilført ved hjelp av en Watson Marlow V 1505S peristaltisk pumpe. Valgt pumpehastighet: 2. Dette tilsvarer ca 3 ml væske pr minutt. Mengden forbrukt coatingvæske ble notert.

5.3.3 Curing av granulat

Det coatede granulatet ble i de innledende forsøkene tørket på papir i tørkeskapets bakker. Effekt 2000W ble valgt, - noe som tilsvarer ca 48 °C. Granulatet ble curret i 12 timer. Tørkeskap med termostat var på det tidspunktet ikke tilgjengelig. I forsøksdesignet ble granulatet curret i varmeskap med automatisk temperaturstyring i 24 timer. Minimums- og maksimumstemperaturen var hhv 49 °C og 52 °C.

5.3.4 Bestemmelse av vektøkning

En liten mengde granulat ble siktet. Fra fraksjonen mellom 0,7 mm og 1 mm ble 200 korn vilkårlig valgt, telt og veid. Dette ble gjort tre ganger og et gjennomsnitt beregnet for hver batch. Ut ifra dette resultatet ble det bestemt hvor mye jeg skulle veie av i frisettingsforsøkene.

5.4 Forsøksdesign

Forsøksdesign ble generert i Unscrambler og inneholdt fire faktorer på to nivåer.

6 EKSPERIMENTELT

6.1 Frisettingsforsøk

6.1.1 Estimering av mengde

I innledende forsøk ble det ikke korrigert for varierende polymermengde og absorbansmålingene presenteres derfor pr testmengde. For å kunne sammenligne resultatene på ucoatet, tynt coatet og tykt coatet granulat testet jeg hvilke mengder som ga tilnærmet lik absorbans dvs. som inneholdt like mye riboflavin.

6.1.2 Validering av frisettingsanalysemetoder.

Stamløsning:

0,1 g riboflavin ble løst i 3000 ml av det aktuelle frisettingsmediet dvs. vann, 0.1M HCl eller en blanding av 2250 ml 0.1M HCl og 750 ml 0.2M fosfatbuffer hvor pH er justert til 6,8.

Standardløsninger:

Hhv 5,10,15,25,50,65 og 75 ml av stamløsningene ble tatt ut og fortynnet med det aktuelle frisettingsmediet til 250 ml. Konsentrasjonene på standardløsningene ble valgt ut ifra mengden riboflavin i mitt granulat. Den sterkeste konsentrasjonen tilsvarer mengden riboflavin i frisettingsmediet når 100% frigis fra granulatet. Løsningene ble oppvarmet til 37°C og absorbans ble målt ved å plassere alle seks pumpe slangene i én kolbe av gangen. Absorbans ble notert når verdiene var stabile. Absorbans ble målt for alle standardløsningene.

For å kontrollere at ikke riboflavin ble spaltet av behandlingen i ultralydbadet tok jeg absorbansmåling på en oppløsning av 0,02 g riboflavin i 2 liter rensset vann før og etter ultralydbad. For å få løst riboflavin måtte løsningen først stå noen timer på magnetrører. Det første spekteret ble tatt fem minutter etter avsluttet omrøring. Løsningen ble deretter plassert i ultralydbad. Nytt spekter ble tatt etter ti minutter i badet.

For å kontrollere at det ikke lekket ut bestanddeler fra polymerblandingen eller granulatmassen som hadde absorbans i samme område som riboflavin, tok jeg et fullt UV-Vis spekter for en 0,001% riboflavinoppløsning før og etter ultralydbad, og for ucoatet granulat og

granulat med hhv tynn og tykk coating etter 30 minutter i ultralydbad. Måleområdet jeg valgte inkluderte hele UV-Vis området dvs. 380-780nm.

For å sjekke om spektrofotometeret var riktig kalibrert ble 6 test-tabletter (USP Standard dissolution disintegrating Prednisone 50 mg og non disintegrating Salicylic acid test tablets) testet i vann ved 37°C og absorbansmålinger foretatt i en gitt periode.

6.2 Kjernepartikkelens sammensetning og egenskaper

Jeg ønsket å lage en multiple unit (MU) enhet dvs. en enhet som raskt henfaller i magen til coatede korn. Dette fordi det er antatt at multiple unit enheter har en mindre inter- og intravariabel passasjetid i mage og tarm enn en single unit formulering. (se kap 3.3.4) MU-doseringsformer kan bestå av pellets, nonpareil eller granulat. Jeg ønsket en formulering som raskt frisetter modellsubstansen, etter en innledende lagtid på tre til fire timer. Granulat ble valgt fordi Bergseng [6] fant at pellets ga en for langsom frisetting.

Hydrokortison/kortisonacetat er helseskadelig og krever strenge sikkerhetstiltak med hensyn til helse, miljø og sikkerhet. Jeg valgte riboflavin som modellsubstans fordi den har kjemiske egenskaper som ligner hydrokortisons men er mye mindre toksisk. Den er dessuten lett å analysere siden den er gul dvs. absorberer lys i området 435-480nm.

Pga rask halveringstid, hurtig clearance og usikker absorpsjon i tykktarmen er det urealistisk med dosering 1 gang daglig hvis man vil ha en tilnærmet fysiologisk døgnkortisonprofil. Jeg valgte et tenkt behandlingsregime med to til tre daglige doser. Egnert dosestørrelse for formuleringen er derfor satt til 10 mg. Som en konsekvens av dette ble granulat med 5% riboflavin laget. Dette ville gitt en doseringsvekt for det coatede granulatet tilsvarende 200 mg ucoated granulat + polymervekt + eventuelt hjelpestofftilsetninger som er nødvendig for å bedre produksjonstekniske egenskaper. Dette er en håndterbar mengde stoff både i tablettmaskin og fylt i kapsler.

Problemstillingen i granulatproduksjonen var todelt: pulvermassen må egne seg til granulering i Jensen granulator og det dannede granulatet må være robust nok til å tåle coating i fluidbed. Salbu fant at tilsetningsstoffer utover laktose og riboflavin enten forringet granulatets egenskaper i fluidbed eller ikke hadde signifikant betydning. Hun fant at HPMC

var mest egnet som granuleringsvæske [7]. Min HPMC-kvalitet var i motsetning til hennes, høyviskøs (viskositet 4000). Jeg testet ut ulike bindemiddelkonsentrasjoner og også om jeg fikk akseptabelt granulat ved kun å bruke tørr HPMC i granulatpulveret før fukting med granuleringsvæsken som i disse tilfellene var rent vann. Se tablett 7.1: batch 1-5. I disse første rundene siktet jeg granulatet manuelt. Gikk så over til å bruke Jensen granulator. Se tabell 7.1 fra batch 6 og ut. Ved å bearbeide massen litt mer i blandemaskinen, og ved å legge produktet til svelling før granulering i Jensen granulator, ble egenskapene i granulatoren bedret, men det tørkede granulatet ble for sprøtt. Høyere konsentrasjoner enn 8% HPMC-løsning i vann var uegnet som granuleringsvæske. For å bedre granulatets robusthet endte jeg opp med å tilsette 1% HPMC w/w (av tørrstoffmengden) i pulverform til granulatmassen, før massen ble våtgranulert med 8% HPMC-løsning. Når denne massen ble lagt til svelling før den ble kjørt i Jensen granulator, var det dannede produktet mer robust.

I et forsøk på å øke frisettingen fra det coatede granulatet tilsatte jeg Na acetat til pulvermassen før granulering. Tilsats av hhv 10% og 30% natriumacetat til selve granulatmassen påvirket imidlertid sterkt de interpartikkelære bindingene i produktet. Kun 10%-blandingen lot seg granulere og kunne coats. Men dette granulatet hadde dårlige egenskaper i fluidbed og denne fremgangsmåten for å manipulere frisettingsegenskapene ble forlatt.

Et granulats egenskaper påvirkes av den maskinelle bearbeidingen av massen [71, 72]. Mengden granuleringsvæske kunne ikke automatisk oppskaleres tilsvarende som pulvermengden når jeg til sluttforsøkene hadde behov for større batcher. Dette fordi effektiviteten av den maskinelle bearbeidingen endres når pulvermengden øker. Større produksjonsbatcher medfører at pulvermassen yter større motstand i blandemaskinen og dermed at partiklene presses tettere sammen under blandingen. Stor mengde krever derfor en prosentvis mindre mengde granuleringsvæske enn de mindre testbatchene.

Jeg ønsket en partikkelstørrelse under 1,0 mm og valgte derfor sikt 1,0 mm på platen i Jensen granulator.

Det dannede granulatet ble tørket og deretter siktet for å få partikler med mest mulig lik overflateareal til coatingen i fluidbed. Valgte å bruke størrelsesfraksjonene mellom 0,3 og 1 mm fordi utbyttet her var stort, og fordi en større forskjell på partikkelstørrelsen kunne gi

vansker med å oppnå en jevn partikkelbevegelse i fluidbedapparatet og gi for stor variasjon i coatinglagets tykkelse.

For å teste om granulatet var robust nok til å tåle coatingprosessen kjørte jeg 400 g granulat fra batch 14+15 i fluidbed i 30 minutter, - med samme innstillinger som om jeg skulle coate, men uten at coatingvæske ble sprayet på partiklene.

6.3 Coating

6.3.1 Valg av virkemiddel for å modifisere frisettingen fra granulatet

Jeg ønsker en gitt forsinket frisetting av legemidlet dvs. en definert lagtid. Man kan utnytte ulike virkemidler for å oppnå en slik forsinket frisetting fra perorale formuleringer. Min veileder og jeg kom fram til at vi i mitt tilfelle skulle konsentrere oss om å påføre primærpartiklene et polymerlag som ga en rask, pH-uavhengig frisetting av virkestoffet. Et annet alternativ ville vært å teste ut bioadhesjon til slimhinnene i magen kombinert med en enteric coating. Ved en slik formulering vil mucus-turnover dvs. hvor raskt mucuslaget skrelles av eller fornyes, være den faktoren som bestemmer lagtiden. Ifølge Washington er mucus-turnover i magesekken i gjennomsnitt fire til fem timer [55].

6.3.2 Valg av coatingmetode

Vannfri laktose viste seg tidlig å være svært fuktfølsom. Ved immersjonscoating ville laktosen kunne løses opp i coatingvæsken i løpet av tiden granulatet var nedsenket i coatingmediet. Dette var derfor ikke et godt alternativ. Presscoating forutsetter utstyr som ikke er tilgjengelig ved UiO og var ikke et reelt valg. Bergseng testet ut pancoating. Hun fant at dette med det utstyret som UiO har tilgjengelig, var en svært variabel metode og med sterkt brukeravhengig resultat [6]. Det egnet seg derfor ikke til vårt bruk. Fluidbedcoating forutsetter at kjernene er noe robuste. I samråd med min veileder ved UiO fant jeg at dette var den best egnede metoden, forutsatt at kjernene tålte belastningen. UiO har to gode fluidbedapparater. Fordi det minste var i bruk av en annen mastergradsstudent ble det bestemt at jeg skulle bruke: Uni-Glatt fluidbed med Würsterinnsats. Se vedlegg 1. Watson Marlow V 1505S peristaltisk pumpe ble brukt for å levere polymerdispersjonen til spraydysen i ønsket hastighet.

6.3.3 Valg av coatingformulering

Jeg ønsket å coate med en polymer som UiO hadde tillatelse til å bruke. Utstyret og regelverket ved UiO tillater ikke bruk av organiske løsemidler ved fluidbedcoating pga eksplosjonsfaren. Jeg måtte derfor velge blant vannløselige filmdannere, vann-alkoholblandinger eller dispersjoner av vannløselige polymerer.

Polymeren skal gi en lagtid på tre til fire timer og deretter raskt frisette dosen slik at absorpsjonen hovedsaklig finner sted i tynntarmen. I en artikkel fra leverandøren av poly(meth)acrylat polymeren Eudragit®RS, ble det beskrevet en frisettingsprofil som var lovende med hensyn på tynntarmsleveranse av hydrokortison [85]. Polymeren er kun løselig i organiske løsemidler, men finnes i en 30% dispersjon beregnet til fortykning med vann før bruk: Eudragit® RS 30 D. I dette tilfellet var nonpareil kjerner pancoatet med virkestoff og deretter fluidbedcoatet med dispersjonen. Polymeren skal gi en pH-uavhengig frisetting og er egnet til multiple unit coating ifølge produsents beskrivelse [75]. Abbaspour og medarbeidere [86] sier i en publisert artikkel at frisetting fra kjerner coatet med denne polymeren er lik, enten de er trykket til tabletter med inntil 80% kjerner eller ikke. Dette fordi Eudragithinnen forble inntakt, selv om kjernene gjennomgikk plastisk deformering og trykkinduserte endringer i fasongen under tabletingen. Den endelige formuleringen kan dermed enten bestå av granulater i en løselig kapsel eller av en tablett som raskt desintegrerer i magen til små coatede granulatkorn. Jeg valgte derfor å bruke denne polymeren i formen dispersjon til coating av mitt granulater.

Jeg testet både ut coating med Eudragit® RS alene og coating med Eudragit® RS utenpå ett indre coatinglag bestående av Na acetat løst i en bindemiddelløsning. De Na acetatcoatede kjernene ble tørket ved å kjøres i fluidbedapparatet uten væsketilførsel, like lenge som selve coatingen foregikk. Deretter ble det ytterste coatinglaget – den bruksferdige Eudragitdispersjonen – sprayet på de nå tørre kjernene.

Polymeren danner en ikke-vannløselig hinne som også vil kunne feste seg til produksjonsutstyrets vegger. For å unngå at spraydysen i Würsterinnsatsen gikk tett, la jeg selve dysen i ultralydbad mellom hver polymercoating, avbrutt av gjentatte perioder med rensing med sprit. Hvis dysen gikk tett, ble fluidbedapparatet demontert og dysen åpnet ved hjelp av trykkluft. Etter rekonstruksjon ble både apparatet og innholdet varmet opp til driftstemperaturen, dvs. ca 40 °C, før coatingprosedyren ble startet.

6.4 Hovedforsøk

På bakgrunn av forforsøkene ble det generert et forsøksdesign hvor de best egnede kjernene ble coatet med et indre lag av Na acetat, før Eudragitpolymeren ble påført. Designet inneholdt fire faktorer på to nivåer. Et fullfaktorielt design ville medført produksjon av 16 batcher (2^4) som hver skulle testes 24 timer både i vann og i standard medium og med minimum tre (helst seks) paralleller. Dette var i praksis umulig med tiden jeg hadde til rådighet. Designet ble derfor redusert til et fraksjonelt faktorielt design med oppløsning IV dvs. 8 (2^3) ulike formuleringer [82]. Dette medfører at hovedeffektene er atskilt, men at 2-faktorsamspillene er sammenblandet. Samspillseffektene kan dermed ikke analyseres hver for seg.

Kenwood Major viste seg å ha en kapasitet som var for liten til at jeg fikk nok granulat av én produksjon. Til disse forsøkene måtte jeg derfor produsere tre batcher a 1,46 kg med tilnærmet lik prosentvis sammensetning og deretter blande disse. Jeg brukte størrelsesfraksjonen < 1 mm og $> 0,3$ mm i frissettingsforsøkene. Pga operatørfeil måtte én av de 8 kubene (kube 3) forkastes og granulatet produseres på nytt. Se tabell 7.1 - batch 23. Jeg brukte samme blandingsforhold på granulatstørrelsen for denne kubene som for de andre dvs. 1 del 0,7-1,0 mm og 3 deler 0,3-0,7 mm.

6.4.1 Valgte designvariabler (X)

Tabell 6.2 Designvariabler (X) og deres valgte nivåer.

Designvariabler og nivåer (mengder pr 250 g granulat)	Lavt nivå	Høyt nivå	Kontinuerlig/ kategorisk
Mengde av bruksklar polymerdispersjon	300g	600g	Kontinuerlig
Na acetatmengde i det indre coatinglaget	6,25g	12,5g	Kontinuerlig
Bindemiddeltype tilsatt til Na-acetatløsningen	HPMC	PVP	Kategorisk
Bindemiddelkonsentrasjon i Na-acetatløsningen	1 %	5 %	Kontinuerlig

Polymermengdene ble valgt ut fra manglende lagtid i innledende forsøk hvor < 300 g Eudragit ble påført.

Mengden Na acetat ble beregnet ut ifra antatt partikkeloverflate ($1,4 \text{ mm}^2$ overflateareal for sfæriske partikler med gjennomsnittlig diameter $0,65 \text{ mm}$ [73]) og mengder oppgitt i artikkelen fra produsenten.

Jeg antok at bindemiddeltilsetning til Na acetatløsningen var nødvendig for å sikre et jevnt lag på partikkeloverflaten, og for å forhindre at laget ble slitt vekk under selve coateprosessen. Fordi min HPMC-kvalitet var svært viskøs, ønsket jeg også å teste et mindre viskøst og mer vannløselig bindemiddel - polyvinylpyrrolidin (PVP). Den høyeste bindemiddelkonsentrasjonen måtte gi en tilstrekkelig tyntflytende HPMC-oppløsning til at ikke dysen i fluidbedapparatet gikk tett. Jeg valgte derfor 1% og 5% som hhv lav og høy konsentrasjon for begge bindemiddeltyper.

I forsøksdesignet ønsket jeg en kvantifisering av hvor mye riboflavin de ulike testmengdene totalt inneholdt, slik at jeg kunne beregne % frisatt. Når 24 timers frisettingstesting var ferdig, ble total absorpsjon for den testede granulatmengden bestemt etter først å ha knust granulatet i ultralydbad (IEC Centra MP4, USA). For å unngå at testslangene gikk tett under målingen, ble et filter påmontert slangene i denne fasen av forsøket. Når målingene var stabile ble absorpsjonen notert. Denne målte absorpsjonsverdien tilsvarer absorpsjon for den totale mengde riboflavin i granulatet (=100%) i dette aktuelle forsøket.

6.4.2 Responsvariabler (Y) som ble målt/beregnet

Jeg beregnet verdier for alle frisettingskurvene hver for seg og satte deretter inn medianverdien for hver av de ulike kubene i Unscrambler for å beregne signifikante effekter. Jeg valgte medianverdi og ikke gjennomsnittsverdi for å gjøre modellen mer robust for uteliggere.

Valgte responsvariabler (Y) er: en parameter for karakterisering av frisettingskurven, en parameter som beskriver frisettingshastigheten, samt to ulike uttrykk for lagtid.

Parameter som beskriver av frisettingskurven:

En kurves utseende kan beskrives ved ulike parametere. I programvaren Excel kan stigningstallet kun bestemmes i et lineært område av kurven. Dette ga ikke et representativt bilde av resultatet i mitt tilfelle fordi kurven for kube 7 var sigmoid og deretter flatet helt ut. Sverre Arne Sande hjalp meg derfor med å beregne et annet parameter som beskriver frisettingskurvens fasong, ved hjelp av en statistisk modell Weibull reoppdaget i 1951 [87]. I denne modellen beskrives kurvens fasong av β .

Modellen ble første gang brukt på in vitro frisettingsdata av Langenbucher i 1972 [88]. Et dataprogram laget av Sande og Karlsen i 1989 beregner verdier for en teoretisk kurve som best dekker den aktuelle frisettingskurven, ved hjelp av minste kvadraters metode [87].

$$M = M_u \cdot (1 - e^{-[(t-T_0)/T_d]^\beta}) \quad \text{hvor:}$$

M er mengden legemiddel frisatt ved tiden t .

M_u er mengden frisatt ved uendelig tid. Denne er satt til 1 fordi vi kjenner 100% innhold i granulatet.

T_0 er parameter for lagtid.

T_d er en hastighetsparameter (= tiden for frisetting av 63,25% av dosen)

β er en parameter som beskriver kurvens fasong:

$\beta = 0-1$ tilsvarer en rask initiell frisetting fulgt av en saktere frisetting.

$\beta = 1$ tilsvarer en 1.ordens frisetting.

$\beta > 1$ tilsvarer en sigmoid frisettingskurve. Desto større β desto brattere kurve.

Parameter for frisettingshastigheten fra formuleringen.

Jeg valgte å bruke T_d som parameter for frisettingshastigheten. Se Weibulls metode.

Parameter for fastsettelse av lagtid

I USP-NF er definisjonen for formuleringer med forsinket frisetting satt til maksimum 10% frisetting etter to timer i syre [89]. Jeg valgte derfor å bruke både T_{10} (tiden hvor 10% er frisatt) og T_0 (en parameter for lagtid i Weibulls metode) som mål på lagtid. 10% frisatt fant jeg ved å interpolere mellom siste måling under 10% og første måling over 10%.

7 RESULTATER

7.1 Frisettingsforsøk

7.1.1 Estimering av mengde

0,2 g ucoatet granulat fra batch 14+15 viste seg å ha noenlunde lik absorbans som 0,22 g granulat med tynn coating og 0,24 g med tykk coating. I innledende forsøk er derfor dette testmengdene jeg har valgt for de ulike granulatene.

7.1.2 Validering av frisettingsanalysemetoder

Kontroll av spektrofotometeret.

Absorbansen var lineær for standardløsningene i alle tre frisettingsmedier. Dette betyr at spektrofotometeret egner seg til måling av absorbans ved den aktuelle mengden av riboflavin som 0,2 g granulater inneholder. Se vedlegg 2.

Forsøk med testtabletter for å kontrollere kalibreringen viste at spektrofotometeret var riktig kalibrert. Dette indikerer at det er andre årsaker til de til dels store variasjonene i enkeltkubers frisetting – inntil 20% forskjell i samme frisettingsforsøk. Ujevnt coatinglag er en mulig årsak til sprikende resultater. Se også diskusjon. Dette forsøket viste også at karusellen som plasserer kyvettene riktig under absorbansmålingen noen ganger hengte seg opp, slik at absorbansen registreres som identisk for alle kyvettene.

Kontroll av om riboflavin ble spaltet av kjøring i ultralydapparatet.

Absorbansen var litt høyere i riboflavinoppløsningen etter ultralyd enn før. Dette antok jeg skyldtes at det ved absorbansmålingen før oppholdet i ultralydbadet, fortsatt var uløste partikler i oppløsningen.

Kontroll av om polymeren eller granulatet frisetter stoffer med absorbans i samme område som riboflavin før og etter bruk av ultralydbad.

Spektrene for riboflavinoppløsning, coatet og ucoatet granulater ga like toppe ved de samme bølgelengder. Det var lik innbyrdes forskjell mellom toppene og heller ingen ekstra toppe hos det coatede produktet sammenlignet med det ucoatede eller oppløsningen i det testede UV-Vis området. Dette bekreftet at knusing ved bruk av ultralyd ikke spalter riboflavinet i detektbar grad, og at heller ikke selve polymeren eller granulatet frisetter stoffer i samme UV-område som riboflavin: Denne måten å fastsette 100% innhold i granulatet er velegnet.

7.2 Granulatets sammensetning og egenskaper

7.2.1 Granulatets sammensetning og kvalitet

For å finne en optimal sammensetning på granulatet måtte det produseres mange batcher med til dels svært små justeringer av mengdene. Følgende sammensetninger ble produsert:

Tabell 7.1 Ulike granulatsammensetninger og deres kvalitet

Batch nr	% granulerings- væske tilsatt*	Mengde HPMC tilsatt		Kvalitet på vått granulat 0=ubrukelig 1=brukbar 2= bra	Kvalitet på tørt granulat 0=sprøtt 1=brukbar 2=bra	Utbytte av granulat i riktig fraksjon	Kommentarer
		Oppløst i vann	I tørr form i pulver- blanding				
Manuell granulering							
1	39 %	4 %	-	0	0		
2	20 %	0,2 %	-	0	0		
3	10 %	0,1 %	-	1	0		
4	14 %	0,4 %	-	1	1		
5	31 %		10 %	1	1		Overfuktet. Bedre når tørket
Granulering i Jensen granulator							
6	16 %		8 %	0	0		
7	20 %		8 %	0	1		+ Lengre bearbeiding
8	18 %		4 %	1	0		+ 1 t svelling
9	13 %	0,4 %	-	2	0		
10	23 %	1,3 %	1 %	0-1	0		20 % av væsken var rent vann
11	23 %	1,6 %	1 %	0-1	1		
12	21 %	1,5 %	1 %	0-1	1		
13	15 %	1,2 %	1 %	2	1		+ svelling 4 døgn
14	20 %	1,6 %	1 %	2	2	46 %	+ svelling 1-2 døgn fra nå av ↓
15	18 %	1,8 %	1 %	2	2	45 %	
16	19 %	1,5 %	1 %	2	1	16 %	10 % Na acetat i gran
17	15 %	1,2 %	1 %	0	0	0	30 % Na acetat i gran
18	22 %	1,8 %	1 %	1	0	12 %	større batcher fra nå ↓
19	15 %	1,2 %	1 %	2	2	59 %	
20	17 %	1,4 %	1 %	2	2	40 %	En blanding av disse batchen ble brukt i forsøksdesignet
21	17 %	1,4 %	1 %	2	2	50 %	
22	18 %	1,4 %	1 %	2	2	55 %	
23	17 %	1,4 %	1 %	2	2	44 %	

* % w/w av (granulatets tørrstoffmengde+mengde HPMC i granuleringsvæsken)

Hovedessensen i tabellen er:

- når væskemengden er for stor, øker spagettidannelsen i Jensen granulator og fraksjonen av granulat i riktig størrelse avtar.
- når væskemengden er for liten dannes et for lite antall interpartikkulære broer mellom pulverpartiklene, og granulatet blir for pulverisert.
- HPMC-mengden avgjør hvor robust granulater er når det tørker. For lite HPMC resulterer i sprøtt granulat som ikke vil tåle fluidbedprosessen uten å pulveriseres.

Tabell 7.2 Endelig sammensetning i granulat.

Tørrstoff		Mengde i mg pr doseringsenhet	Mengde i %
Riboflavin		10 mg	5 %
HPMC tørr		2 mg	1 %
Laktose		188 mg	94 %
Bindemiddel		Mengde granuleringsvæske i % av pulvermengden	Total HPMC-konsentrasjon i ferdig doseringsenhet
HPMC 8 %	Liten batch 500g	22,4 %	2,76 %
	Stor batch 1460 g	17,5-18,3 %	2,36-2,54 %

Som tabellen viser resulterte økt batchstørrelse i at den totale mengden HPMC ble redusert.

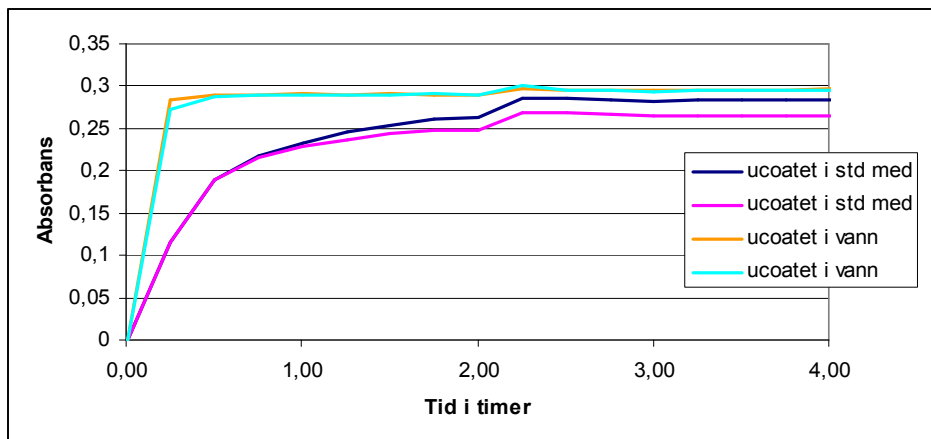
Tabell 7.3 Resultater av test på om granulatet var robust nok til å tåle fluidbed coating

Vekt granulat før	Vekt granulat etter	Vekt granulat > 0,3 mm	Utbytte intakt granulat i % av startvekt
400,1 g	359,6 g	310,6 g	75,1 %

Testen ble utført med ucoatet granulat fra batch 14+15.

7.2.2 Frisettingsprofil ucoatet granulat

Figur 7.1 Frisetting av ucoatet granulat i vann og i standard medium korrigert for volumendringer



X-skalaen er formatert til 4 timer fordi man ellers ikke får sett detaljene i diagrammet.

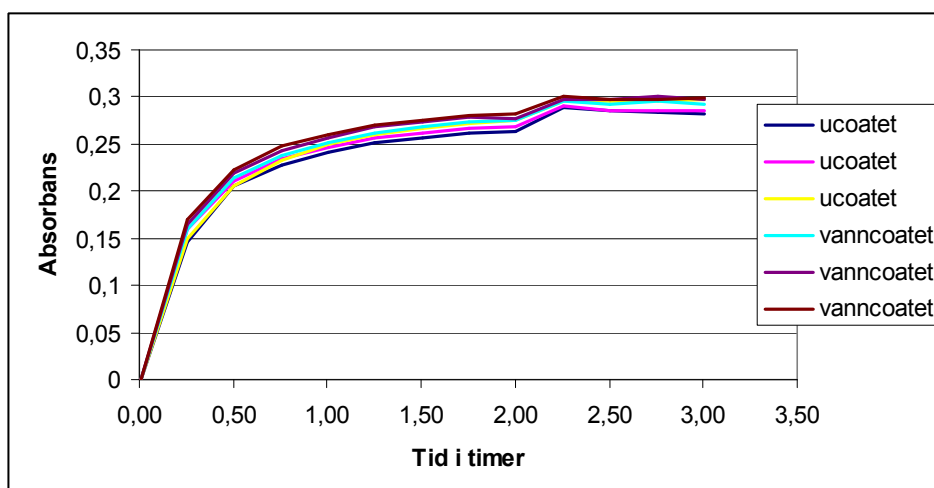
Forsøket er utført med ucoatet granulat fra batch 14+15.

Grafene viser en rask frisetting både i standard medium og i vann. Frisettingen er raskest i vann. I begge medier er imidlertid over halve riboflavinmengden frisatt innen 30 minutter. Jeg valgte derfor å bruke denne granulatformuleringen for videre coating.

7.2.3 Kontroll av om granulatet ble påvirket av fluidbed prosessen

Mitt Eudragitcoatede granulat ga en uventet lav frisetting sammenlignet med det som var beskrevet frisetting fra nonpareil kjerner i artikkelen fra produsenten [85]. Frisettingen var imidlertid tilnærmet identisk med det Salbu beskrev i sin oppgave [7]. Jeg testet derfor om selve granulatet ble påvirket av prosessen i fluidbedapparatet ved å coate granulat med rent vann, tilsvarende lenge som jeg ville gjort hvis jeg coatet med Eudragit.

Figur 7.2 Frisetting fra ucoatet og vanncoatet granulat i standard medium



Forsøkene er utført med granulater fra batch 14+15. Resultatet viser at frisettingsprofilene er identiske: Granulatets frisettegenskaper påvirkes ikke av de belastninger det utsettes for i løpet av behandlingen i fluidbed apparatet.

7.3 Coating

7.3.1 Coating av granulater

Tabell 7.4 Ulike coatede granulater – forbruk og type coating

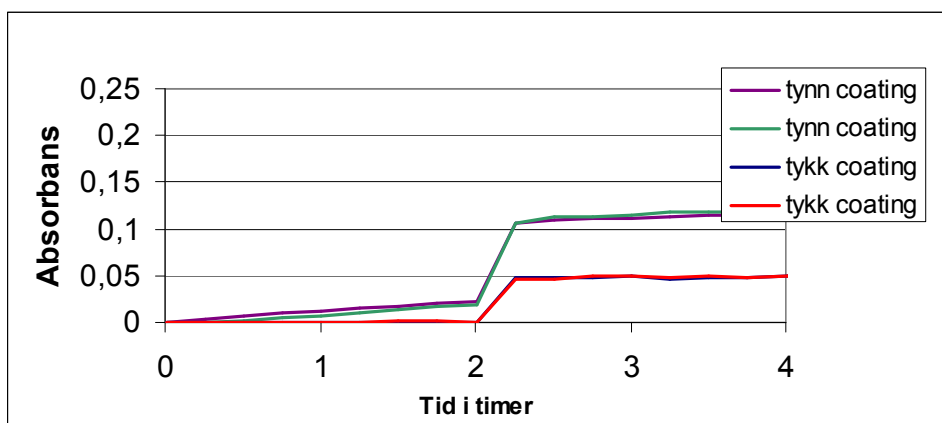
Batch nr	Mengde granulater	Type og forbruk av coatingvæske	Kommentarer
14 + 15	400 g	Eudragit: 290 g (≈ tynn)	Ikke curet. Testet i standard medium, 0,01M Na acetatløsning og vann
14 + 15	300 g se kommentar.	Eudragit: 770 g (≈ tykk)	300 g fra granulater med tynn coating ble påført ytterligere 550 g Eudragit. Ikke curet.
14 + 15	80 g	Vann: 60 g	≈ test for om granulater tåler coateprossessen.
16	200 g inkl 10% Na acetat	Eudragit: 109 g	Utbytte av coatede granulater: 122 g. Mye pulver igjen i fluidbedkammeret. Det coatede granulater ved veldig pulverisert: 67 g var < 0,7 mm Curet i 24 t og testet i standard medium og vann.
19	250 g	Na acetat: 12,5 g + Eudragit 163 g (≈ tynn)	
19	200 g se kommentar	Na acetat: 10 g + Eudragit: 202 g (≈ tykk)	200 g fra granulater med tynn coating ble umiddelbart påført ytterligere 72 g Eudragit. Denne granulatermengden antas å tilsvare ca 180 g ucoatede granulater.
20-22	250 g	Alle batchene ble blandet, delt i 250 g's porsjoner og coatede etter oppsettet fra forsøksdesignet i Unscrambler.	
23	250 g	= Kube nr 3 i forsøksdesignet	

Teoretisk polymermengde skulle tilsvare 300 g bruksferdig polymer pr 250 g kjernemateriale og dobbel mengde for tykt coatinglag. Driftstans pga tett dyse resulterte ofte i at reell påført mengde ble mindre. Dette fordi jeg ofte fikk problemer med kakedannelse i bunnen av kammeret etter et driftsavbrudd, og derfor måtte velge å avslutte coatingen. Dette var et spesielt stort problem i innledende runder, men også noe i designforsøkene. I dataanalysen av resultatene fra batch 20-23 brukte jeg derfor reelt påført polymermengde og ikke den teoretiske ”høy eller lav” fra forsøksdesignet.

7.3.3 Frisettingsprofiler innledende forsøk.

I majoriteten av de innledende rundene ble verken vektøkning etter coating eller 100% innhold i granulatet bestemt. Resultatene er i disse tilfellene presentert som absorbans pr testmengde. Avveid testmengde coatet granulat var hhv 0,22 g og 0,24 g for granulat med tynn og tykk coating. I alle disse innledende forsøkene med granulat 14+15 tilsvarer tynn coating forbruk av 0,7 g bruksferdig Eudragit pr g granulat. Tykk coating tilsvarer bruk av 2,5 g Eudragit pr g granulat.

Figur 7.3 Frisetting i standard medium fra granulat coatet med Eudragit®RS 30 D

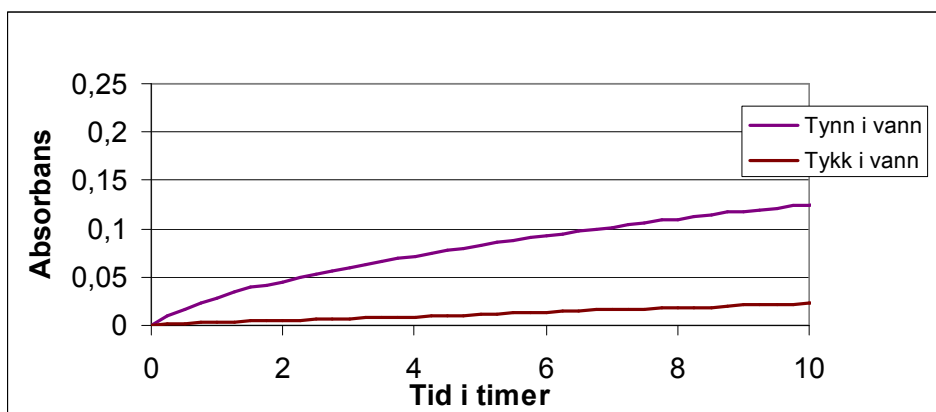


For bedre å se frisettingsøkningen er x-aksen formatert til 4 timer.

Forsøket er utført med coatet granulat fra batch 14+15. Frisetting ble utført i standard medium dvs. to timer i 0,1M HCl og deretter tilsetning av fosfatbuffer og justering av pH til 6,8 i resten av frisettingsperioden. Absorbansen er justert for volumendringen. Jeg fant at frisetting økte når fosfatbufferen ble tilsatt. Dette var uventet siden leverandøren oppgir at frisettingen fra Eudragit® RS ikke er pH-avhengig [90].

I Degussa-publikasjonen [85] var frisettingsmediet som ble brukt vann, og ikke standard frisettingsmedium. Jeg kjørte derfor en ny frisettingsrunde i vann på det samme granulatet.

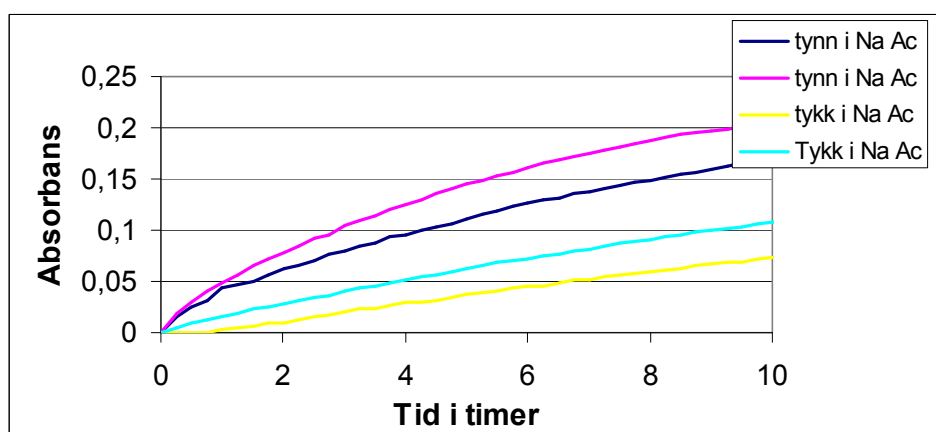
Figur 7.4 Frisetting i vann fra granulatcoatet med Eudragit®RS 30 D



Forsøket er utført med coatet granulat fra batch 14+15. Også for mitt granulat ble profilen endret når vann var frisettingsmediet. Jeg oppnådde en raskere initiell frisetting for tynn coating, men det ble ikke frisatt mer riboflavin totalt sett i testperioden.

I den nevnte artikkelen fra produsenten var Na acetat påført kjernematerialet sammen med legemidlet [85], - uten at årsaken til dette var oppgitt. Flere artikler og èn setning i Degussa's produktspesifikasjon sa at frisettingen over membranen er ionestyrkt [76, 79, 91-93]. Det var da nærliggende å tro at den økte frisettingen etter fosfatbuffertilsetningen skyldtes endringer i ionekonsentrasjon eller sammensetning. (Jfr. figur 7.1 etter to timer). Jeg kjørte derfor en ny frisetting i 0,01M Na acetat-løsning.

Figur 7.5 Frisetting i 0,01M natriumacetatløsning fra granulat coatet med Eudragit®RS 30 D

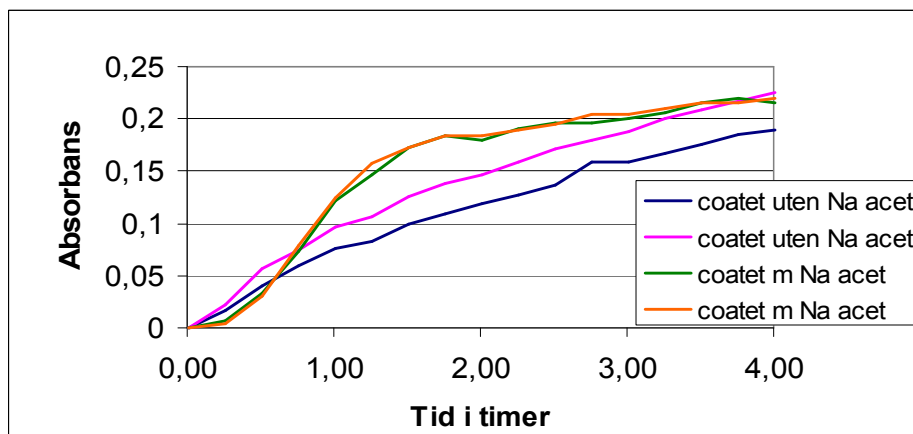


Forsøket er utført med granulat fra batch 14+15. Frisettingen er markert annerledes og høyere enn i standard medium. Na acetat åpner altså opp polymeren, men jeg fikk ennå ikke samme raske frisetting som i artikkelen fra produsenten [85].

Neste naturlige trinn var å tilsette Na acetat til granulatmassen før våtgranuleringen. Jeg testet ut ulike saltmengder i granulatet. Saltet påvirket imidlertid sterkt de interpartikkulære

bindingene i granulatet slik at det enten ikke lot seg granulere (30% tilsatt salt) eller ble så sprøtt at det ble pulverisert under fluidbedcoatingen (10% salt). Utbyttet granulat i ønsket størrelse (0,3-1 mm) ble lite og fraksjonen pulverisert granulat etter coating i fluidbed stort.

Figur 7.6 Frisetting i vann fra granulat med og uten 10% natriumacetat i kjernen, coatet med Eudragit®RS 30 D

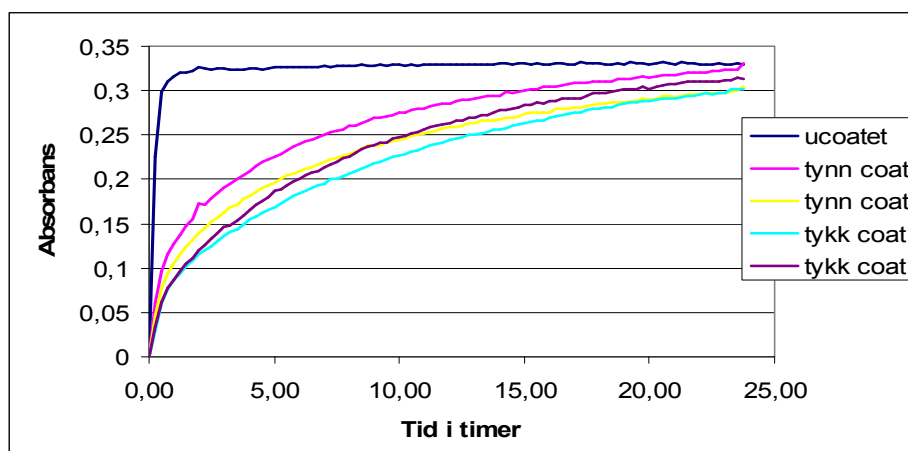


For bedre å se forskjellene initielt er x-aksen formatert til 4 timer

Forsøket er utført med granulat fra batch 16 (Na acetatholdige kjerner coatet med 0,7 g Eudragit pr g granulat) og 14+15 (tynt coatede kjerner uten Na acetat). Avveid mengde var lik. Frisettingsforsøket viste noe raskere initiell frisetting fra granulatet med Na acetat i kjernen enn fra granulatet uten salt.

Siden jeg ikke kunne ha saltet i selve granulatet var det neste trinn derfor å coate granulatet med et indre lag av Na acetat under selve Eudragit-laget.

Figur 7.7 Frisetting i vann fra granulat coatet med natriumacetat og Eudragit®RS 30 D



Alle kjernene er først coatet med Na acetat: 0,06 g Na acetat pr g granulat. (12,5 g Na acetat ble løst i 62,8 g 0,4 % vandig HPMC løsning). Tynn coating = 0,65 g Eudragit pr g Na acetatcoatet granulat, tykk coating = 1,01 g Eudragit pr g Na acetatcoatet granulat

Forsøket er utført med granulat fra batch 19. I dette innledende forsøket resulterte det indre Na acetatlaget i en mye raskere frisetting, men dessverre ga Eudragitcoatingen ingen lagtid.

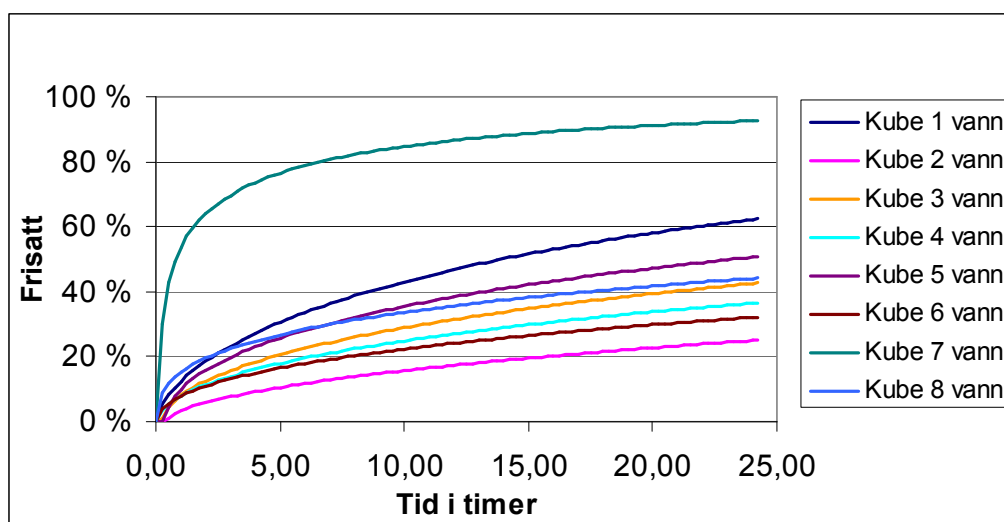
7.4 Hovedforsøk

7.4.1 Frisetting i vann og i standard medium vist som medianverdi av hver enkelt kube

I alle disse forsøkene er totalt innhold i granulatet funnet ved å knuse det i ultralyd og resultatene er presentert som % frisatt mengde.

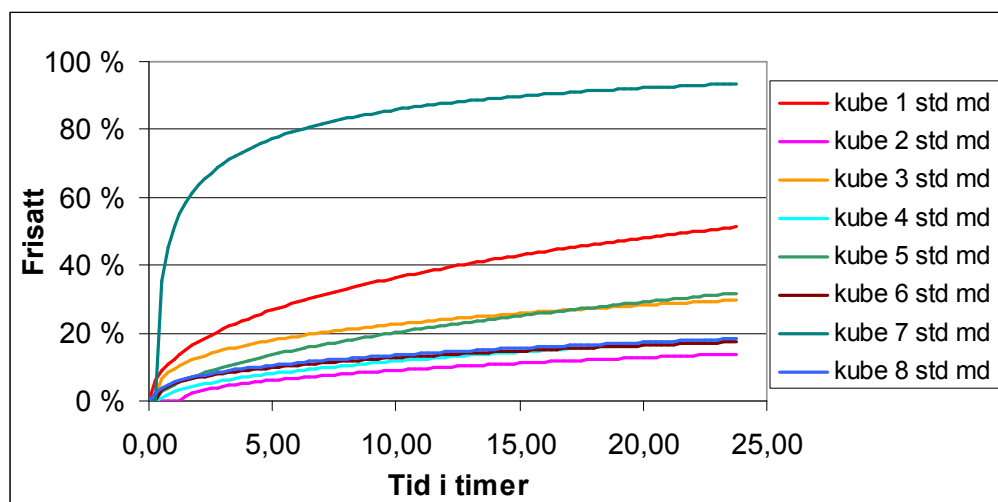
Kube 3 er fra batch 23. Dette granulatet hadde samme størrelsesfordeling som de andre kubene for å sikre mest mulig lik overflate. Alle andre kuber er en blanding av batch 20+21+22.

Figur 7.8 Frisetting i vann vist som medianverdi for hver enkelt kubes frisetting



Resultatene fra hver enkelt kubes (formulerings) parallelle frisettingsforsøk i vann finnes i vedlegg 3a, 3b og 3c.

Figur 7.9 Frisetting i standard medium vist som medianverdi for hver enkelt kube.



De samlede resultatene fra hver enkelt kubes parallelle frisettingsforsøk i standard medium finnes i vedlegg 4a, 4b og 4c.

Designvariabler (X) og beregnede eller målte responsvariabler (Y) i begge medier, og er listet i sin helhet på neste side. Alle responsvariabler ble beregnet for samtlige frisettingsforsøk og medianverdien presenteres i tabell 7.5. Problemene med tett dyse i fluidbedapparatet fikk konsekvenser siden jeg ikke lykkes i å påføre partiklene nøyaktig den polymermengden jeg teoretisk skulle. I analysen av effekter og signifikans har jeg derfor satt inn de virkelige verdiene for påført polymermengde og ikke de teoretiske (høy og lav). Jeg har valgt samspill hvor Eudragitmengde utgjør én av faktorene.

MLR tillater ikke at antall designvariabler er lik eller overstiger antall prøver minus én. Jeg tester syv variabler: fire designvariabler + tre samspillseffektene som inkluderer Eudragitmengde. Før å få beregnet effekter har jeg begynt med å fjerne den av designvariablene eller designvariabelsamspillene som har minst regresjonskoeffisient dvs. den som betyr minst for modellen. Hvis dette ikke er nok for å få signifikante effekter har jeg fjernet én og én variabel med lav regresjonskoeffisient inntil signifikant modell og signifikant(e) designvariabler eller samspill. Jeg presenterer her kun de signifikante effektene og bare når modellen selv er signifikant.

Tabell 7.5 Designvariabler (X) og responser (Y)

Eudragit mengde	Na acetat	Bindemid. type	Bindemid. kons.	β				β std			
				T ₀ vann	T _d vann	vann	T ₁₀ vann	T ₀ std md	T _d std md	md	T ₁₀ std md
275,79	6,25	HPMC	1	0,00187	25,01	0,625	36,43	0,00611	44,30	0,533	60,10
482,40	6,25	HPMC	5	0,43600	203,32	0,578	194,13	1,28940	1168,94	0,481	612,67
286,38	12,5	HPMC	5	0,23750	70,19	0,546	133,40	0,25057	408,06	0,364	73,40
538,00	12,5	HPMC	1	0,08026	107,08	0,527	89,38	0,39547	459,02	0,538	965,40
282,00	6,25	PVP	5	0,35785	45,62	0,531	52,23	0,23245	116,91	0,600	170,77
503,47	6,25	PVP	1	0,02189	169,77	0,485	191,23	0,26671	1854,36	0,379	287,05
290,00	12,5	PVP	1	0,14796	1,76	0,366	4,85	0,32380	1,64	0,378	6,78
516,90	12,5	PVP	5	0,00611	93,96	0,397	45,53	0,16862	1601,89	0,379	460,15

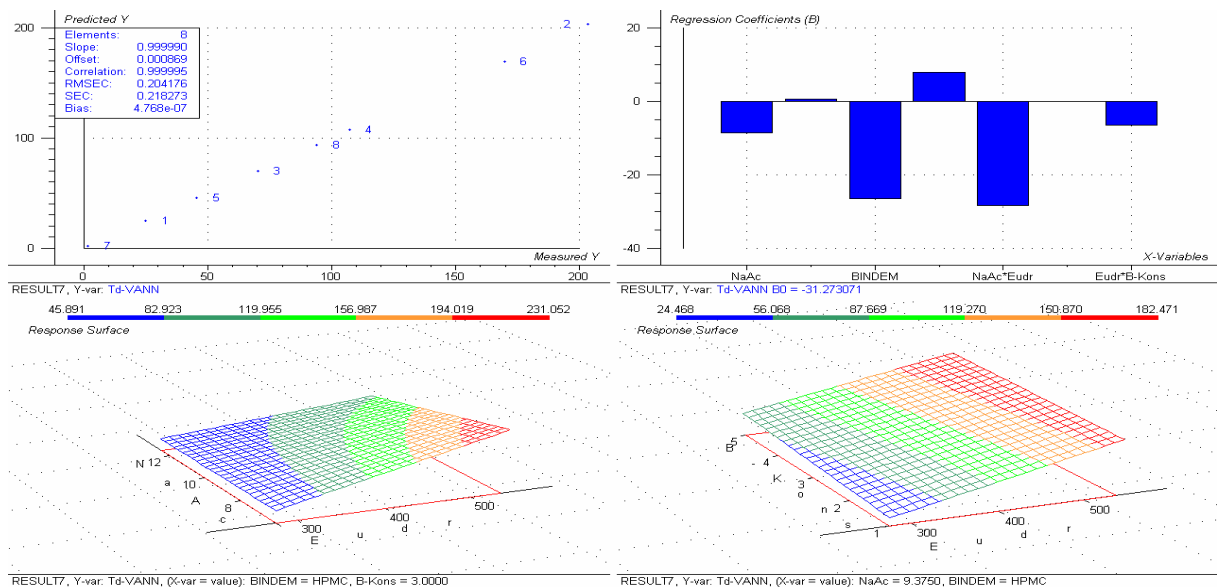
7.4.2 Analyseresultater for responsen T_d – tid for 63,2 % frisatt testsubstansmengde

Tabell 7.6 ANOVA resultater for responsvariabelen T_d i vann

	SS	DF	MS	F-ratio	p-value	B-coefficients	STDerr
Summary							
Model	3.388e+04	6	5.647e+03	1.693e+04	0.0059		
Error	0.334	1	0.334				
Adjusted Total	3.388e+04	7	4.840e+03				
Variable							
Intercept	326.417	1	326.417	978.755	0.0203	-31.273	1.000
NaAc	5.659e+03	1	5.659e+03	1.697e+04	0.0049	-8.551	6.564e-02
Eudr	2.383e+04	1	2.383e+04	7.146e+04	0.0024	0.486	1.817e-03
BINDEM	1.410e+03	1	1.410e+03	4.227e+03	0.0098	-26.628	0.410
B-Kons	1.998e+03	1	1.998e+03	5.991e+03	0.0082	7.909	0.102
NaAc*Eudr	4.836e+03	1	4.836e+03	1.450e+04	0.0053	-28.447	0.236
Eudr*BINDEM	m		m	m	m	0.000	m
Eudr*B-Kons	248.810	1	248.810	746.053	0.0233	-6.423	0.235

For å kunne estimere effekter i MLR måtte samspillet Eudragitmengde*bindemiddeltype fjernes. Dette var variabelen med den minste regresjonskoeffisienten dvs. hadde minst betydning for modellen. Resultatet ble da som vist i tabell 7.6 at både modellen og alle hovedeffektene og resterende samspill er signifikante.

Figur 7.10 Resultater MLR for responsen T_d i vann



Resultatene viser:

- Tynt Eudragitlag gir raskere frisetting er tykt.
- Na acetat åpner opp polymeren. Høy konsentrasjon åpner mer effektivt enn lav.
- PVP gir raskest frisetting.
- Lav bindemiddelkonsentrasjon gir raskere frisetting enn høy.

Designvariabelen bindemiddelkonsentrasjon har liten regresjonskoeffisient dvs. liten betydning, mens bindemiddeltype hadde større betydning.

Siden 2-faktorsamspillene er sammenblandet ved faktorielle design med oppløsning IV, er det vanskelig å trekke konklusjoner av samspillseffektene, og betydningen av samspillene må testes ut nærmere før en endelig konklusjon kan trekkes. Samspillene som er sammenblandet er: AB = CD, AC = BD og AD = BC, hvor A = Eudragitmengde, B = Na acetatmengde, C = bindemiddeltype HPMC (1) eller PVP (2) og D = bindemiddelkonsentrasjon.

Med overforstående forbehold kan det ut fra responsflatene se ut som om følgende samspill har betydning:

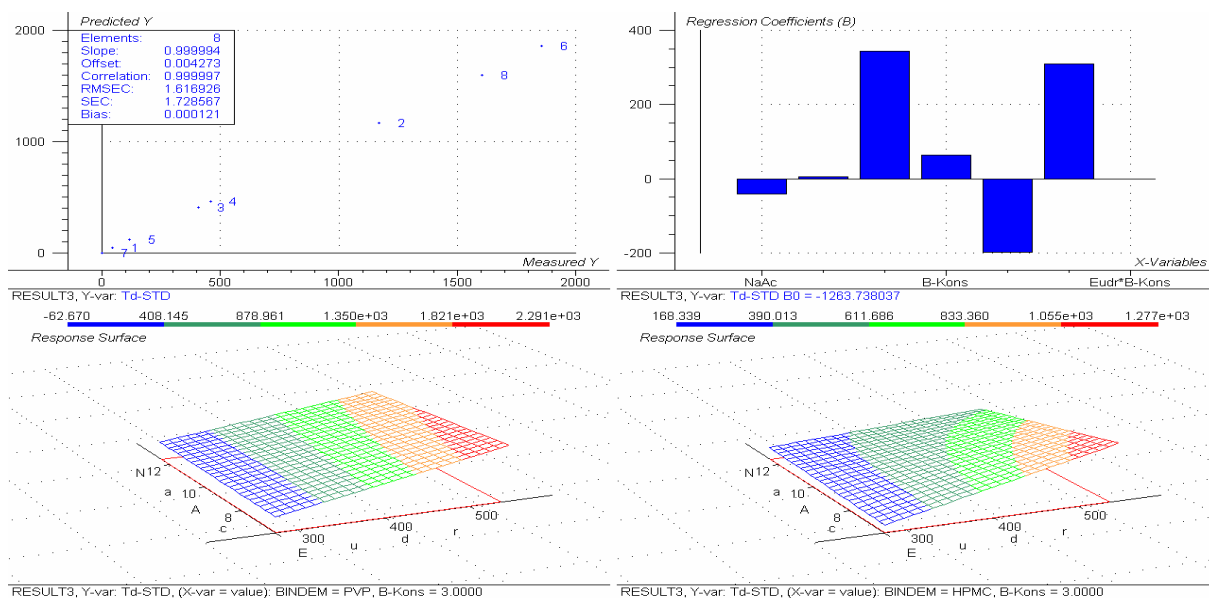
- Eudragitmengde*Na acetatmengde (AB) – ved lav Eudragitmengde hadde Na acetatmengden i den indre coatingen liten betydning. Ved høy Eudragitmengde førte høy Na acetatmengde til raskere frisetting enn lav Na acetatmengde. Dette samspillet er sammenblandet med bindemiddeltype*-konsentrasjon (CD), men i denne sammenheng er det trolig at det er Eudragitmengde*Na acetatmengde som er viktig.
- Samspillet AD=BC har reduserer også T_d men i mye mindre grad.

Tabell 7.7 ANOVA resultater for responsvariabelen T_d i standard medium

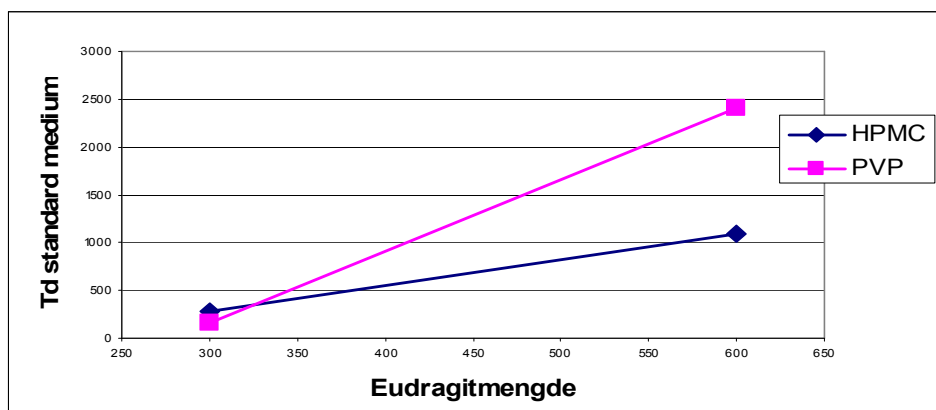
	SS	DF	MS	F-ratio	p-value	B-coefficients	STDerr
Summary							
Model	3.766e+06	6	6.277e+05	3.002e+04	0.0044		
Error	20.914	1	20.914				
Adjusted Total	3.766e+06	7	5.381e+05				
Variable							
Intercept	6.513e+05	1	6.513e+05	3.114e+04	0.0036	-1.608e+03	9.112
Na acetat	1.371e+05	1	1.371e+05	6.555e+03	0.0079	-42.134	0.520
Eudragitmengde	2.641e+06	1	2.641e+06	1.263e+05	0.0018	5.088	1.432e-02
Bindemiddeltype	2.363e+05	1	2.363e+05	1.130e+04	0.0060	344.207	3.238
Bindemiddelkons	1.252e+05	1	1.252e+05	5.985e+03	0.0082	62.694	0.810
Na acetat*Eudragit	2.324e+05	1	2.324e+05	1.111e+04	0.0060	-197.844	1.877
Eudragit*Bindemiddeltype	5.817e+05	1	5.817e+05	2.782e+04	0.0038	310.255	1.860
Eudragit*Bindemiddelkons	m		m	m	m	0.000	m

Samspillseffekten Eudragit*bindemiddelkonsentrasjon hadde minst regresjonskoeffisient og ble fjernet. Dette skiller seg fra resultatet i vann hvor denne var mer betydningsfull. Som tabell 7.7 viser, ble da modellen og alle effektene, både hovedeffekter og analyserte samspill, signifikante.

Figur 7.11 Resultater MLR for responsen T_d i standard medium



Figur 7.12 Sammenligning av frisetting når hhv. PVP og HPMC er bindemiddel i Na acetatløsningen.



Na acetatmengde og bindemiddelkonsentrasjon er satt til midtverdi hhv 9,375g og 3%.

Resultatene viser:

- HPMC gir raskere frisetting enn PVP. Se figur 7.12.
- Lav bindemiddelkonsentrasjon i Na acetatløsningen gir raskere frisetting enn høy.
- Tykkelsen på Eudragitlaget har betydning for frisettingen – tynt lag gir kortest T_d dvs. raskest frisetting. Polymerlagets tykkelse betyr mer i standard medium enn i vann.
- Na acetat i det indre coatinglaget åpner opp polymeren. Høy Na acetatmengde gir raskere frisetting enn lav.

Av samme grunn som for frisetting i vann kan man heller ikke her trekke bastante konklusjoner om samspilleffektene. Med dette forbehold kan det fra responsflatene se ut som

følgende samspill hadde betydning for responsen T_d – tid for frisetting av 63,2% av testsubstansmengden:

- Eudragitmengde*Na acetatmengde (AB). Dette samspillet betyr mye, men er sammenblandet med bindemiddelttype*-konsentrasjon (CD). I denne sammenheng er det sannsynlig at det er Eudragitmengde*Na acetatmengde som er viktig.
- Eudragitmengde*bindemiddelttype (AC). Dette samspillet er sammenblandet med Na acetatmengde*bindemiddelkonsentrasjon (BD) og jeg kan ikke utelukke at dette er et viktig samspill. Betydningen blir derfor: ved lav A eller B hadde C eller D veldig liten betydning. Hvis samspillet av betydning er AB: Ved høy Eudragitmengde førte HPMC til raskere frisetting enn PVP. Hvis samspillet av betydning er BD: ved høy Na acetatmengde gir lav bindemiddelkonsentrasjon raskere frisetting enn høy.

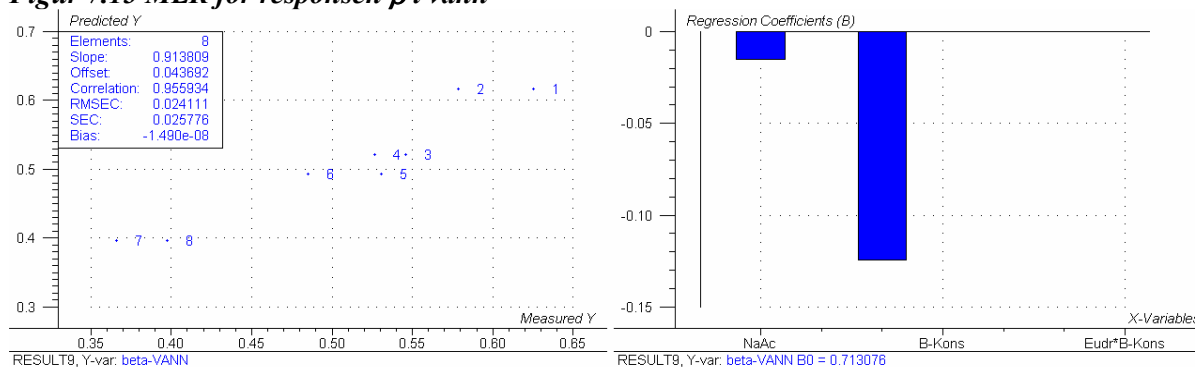
7.4.3 Analyseresultater for respons β - en parameter som beskriver kurvens profil

Tabell 7.8 ANOVA for responsen β i vann

	SS	DF	MS	F-ratio	p-value	B-coefficients	STDerr
Summary							
Model	4.931e-02	2	2.465e-02	26.505	0.0022		
Error	4.651e-03	5	9.302e-04				
Adjusted Total	5.396e-02	7	7.709e-03				
Variable							
Intercept	0.370	1	0.370	397.560	0.0000	0.713	3.576e-02
NaAc	1.844e-02	1	1.844e-02	19.824	0.0067	-1.536e-02	3.451e-03
Eudr	m		m	m	m	0.000	m
BINDEM	3.087e-02	1	3.087e-02	33.187	0.0022	-0.124	2.157e-02
B-Kons	m		m	m	m	0.000	m
NaAc*Eudr	m		m	m	m	0.000	m
Eudr*BINDEM	m		m	m	m	0.000	m
Eudr*B-Kons	m		m	m	m	0.000	m

Kun modellen og designvariablene Na acetatmengde og bindemiddelttype er signifikante.

Figur 7.13 MLR for responsen β i vann



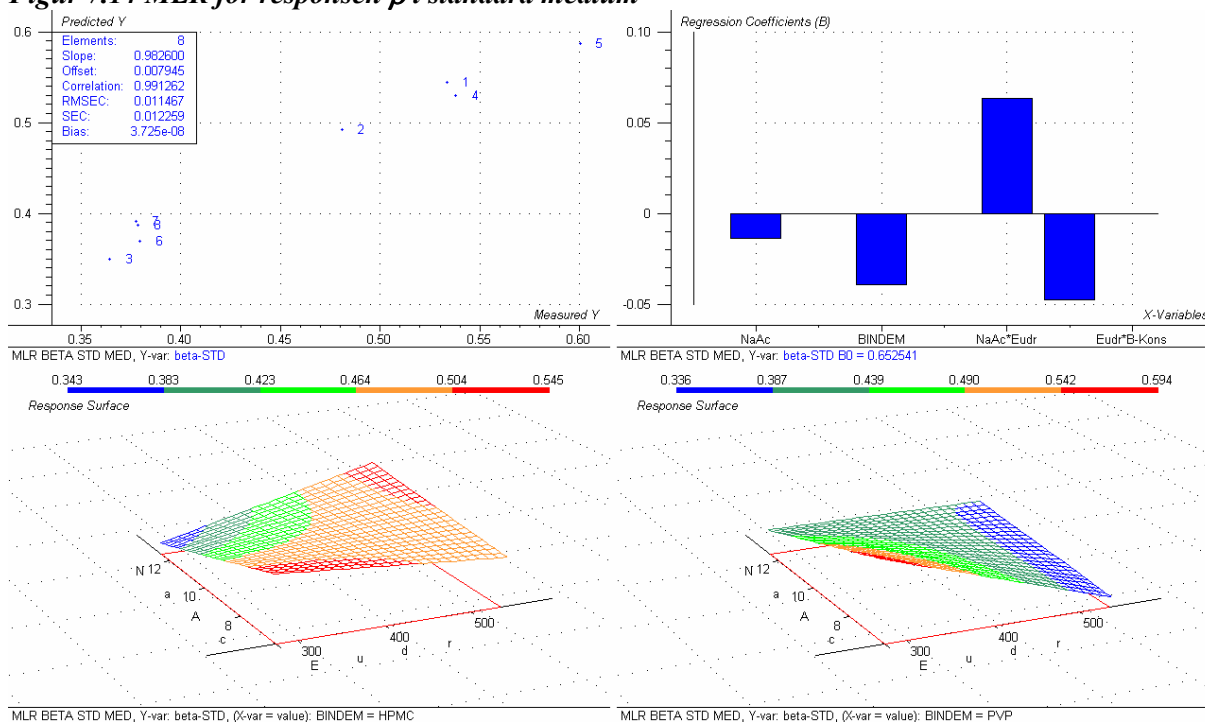
Økende mengde Na acetat og/eller bruk av PVP som bindemiddel reduserer β i vann dvs. gir en brattere initiell frisettingskurve dvs. en raskere frisetting i starten.

Tabell 7.9 ANOVA for responsen β i standard medium

	SS	DF	MS	F-ratio	p-value	B-coefficients	STDerr
Summary							
Model	5.941e-02	5	1.188e-02	22.589	0.0429		
Error	1.052e-03	2	5.260e-04				
Adjusted Total	6.046e-02	7	8.637e-03				
Variable							
Intercept	0.160	1	0.160	304.447	0.0033	0.653	3.740e-02
NaAc	1.425e-02	1	1.425e-02	27.100	0.0350	-1.359e-02	2.610e-03
Eudr	1.875e-03	1	1.875e-03	3.565	0.1996	-1.355e-04	7.174e-05
BINDEM	3.090e-03	1	3.090e-03	5.874	0.1363	-3.936e-02	1.624e-02
B-Kons	m		m	m	m	0.000	m
NaAc*Eudr	2.369e-02	1	2.369e-02	45.047	0.0215	6.317e-02	9.412e-03
Eudr*BINDEM	1.378e-02	1	1.378e-02	26.190	0.0361	-4.767e-02	9.316e-03
Eudr*B-Kons	m		m	m	m	0.000	m

I motsetning til i vann har valget av bindemiddeltipe i Na acetat-væsken ikke signifikant effekt. Også i standard medium er betydningen av Na acetatmengden signifikant, samt samspillene Eudragitmengde*Na acetatmengde (AB) og Eudragitmengde*bindemiddeltipe (AC). Disse samspillene er sammenblandet med hhv bindemiddeltipe*-konsentrasjon (CD) og Na acetatmengde*bindemiddelkonsentrasjon (BD).

Figur 7.14 MLR for responsen β i standard medium



Samspillene Eudragitmengde*Na acetatmengde og Eudragitmengde*bindemiddeltpe er signifikante. Disse samspillene er sammenblandet med hhv. bindemiddeltpe*-konsentrasjon og Na acetatmengde*bindemiddelkonsentrasjon.

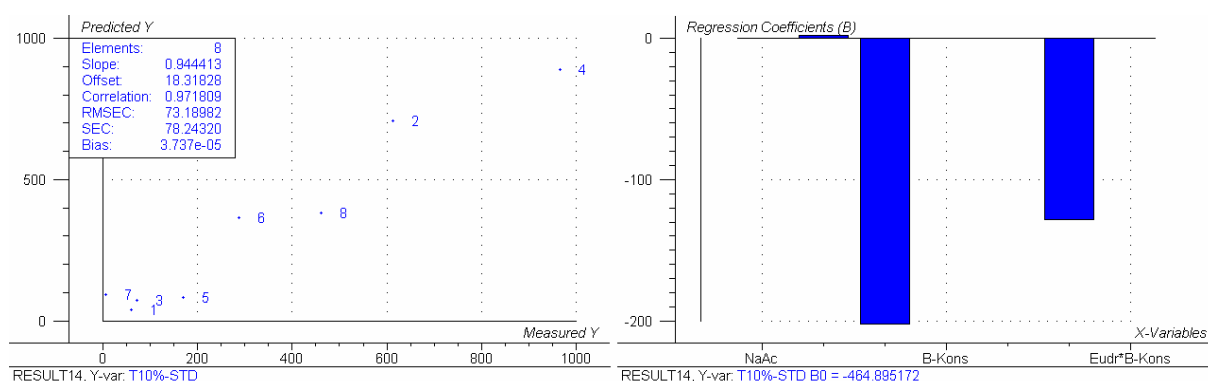
7.4.4 Analyseresultater for responsen lagtid

Jeg valgte å teste to ulike parametere for lagtid: T_0 som er tid hvor ingenting frisettes og T_{10} som er definisjonen på lagtid for sustained release preparater i USP-NF. Jeg fikk kun signifikante verdier for T_{10} i standard medium. (Modellen for T_0 i vann nærmet seg signifikans: $p = 0,0525$. Signifikante effekter var da bindemiddeltpe og Eudragit* bindemiddelkonsentrasjon, men siden selve modellen ikke er signifikant drøfter jeg ikke dette). Forøvrig kan man fra resultatene i tabell 7.5 se at lagtiden – uansett om den er satt til T_0 eller T_{10} er svært liten. Tilfeldige prøver som skiller seg ut får dermed stor betydning. Dette resulterer i en stor usikkerhet og bidrar nok til manglende signifikans.

Tabell 7.10 ANOVA for responsen T_{10} – tid for frisetting av 10% i standard medium

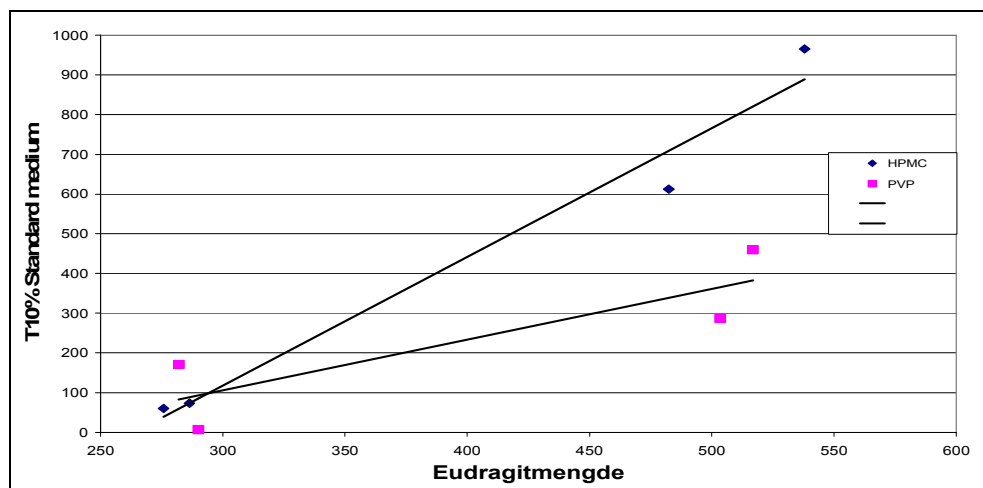
	SS	DF	MS	F-ratio	p-value	B-coefficients	STDerr
Summary							
Model	7.281e+05	3	2.427e+05	22.653	0.0057		
Error	4.285e+04	4	1.071e+04				
Adjusted Total	7.709e+05	7	1.101e+05				
Variable							
Intercept	1.235e+05	1	1.235e+05	11.524	0.0274	-464.895	136.945
NaAc	m		m	m	m	0.000	m
Eudr	5.328e+05	1	5.328e+05	49.728	0.0021	2.260	0.320
BINDEM	8.179e+04	1	8.179e+04	7.635	0.0504	-202.240	73.194
B-Kons	m		m	m	m	0.000	m
NaAc*Eudr	m		m	m	m	0.000	m
Eudr*BINDEM	1.006e+05	1	1.006e+05	9.395	0.0375	-128.278	41.852
Eudr*B-Kons	m		m	m	m	0.000	m

Figur 7.15 MLR for responsen T_{10} – tid for frisetting av 10% i standard medium



For lagtidsparameteret T_{10} er bindemiddeltypen i Na acetatløsningen ikke signifikant ($p=0,0504$). Kun Eudragitmengde og samspillet Eudragit*bindemiddeltypen (AC) er signifikant. Tynt Eudragitlag gir som forventet kortere lagtid enn tykk.

Figur 7.16 Betydning av samspillet Eudragitmengde*bindemiddeltypen



Samspillet AC er sammenblandet med Na acetatmengde*bindemiddelkonsentrasjon (BD). Det er sannsynlig at det er samspillet AC som har betydning her. Hvis dette er tilfellet har valg av bindemiddeltypen liten betydning ved lav Eudragitmengde. Effekten av å øke polymermengden er mye større for HPMC enn for PVP.

8 DISKUSJON

Både selve produksjonen av kjernematerialet, coatingen i fluidbedapparatet og frisettingsforsøkene var belagt med til dels store problemer. Jeg har derfor innledningsvis valgt å kommentere hvert trinn i prosessen for seg.

8.1 In vitro frisetting

Mitt granulat tettet ofte slangen i pumpen som ledet væsken til spektrofotometeret. Dette resulterte i at slangen hoppet av, at frisettingsmediet i kyvetten ikke ble byttet ut og at væsken heller ikke ble pumpet tilbake til frisettingsbegeret. Denne volumfeilen medførte at 100% innhold ikke kunne fastsettes ved å knuse granulatet i begeret. Jeg opplevde flere episoder med avhoppet slange i standard medium enn i vann. Hvis episoden inntraff tidlig i

frisettingsforsøket ble resultatene for dette begeret fjernet fra sluttresultatet for den aktuelle formuleringen. Hvis det skjedde seinere enn etter 14-15 timer, ble målingene etter episoden fjernet og 100% innhold teoretisk beregnet ut ifra gjennomsnittlig absorban/g granulater for den aktuelle formulering.

Granulatet som ble liggende i kyvetten under absorbanmålingene var tidvis også et problem. Dette sees på frisettingskurven som ujevne og ”hoppende” absorbanmålinger. Se vedlegg 4b - kube 4 - frisettingsforsøk c345678s.

Drivverket som drar stativet med kyvettene rundt, hengte seg opp i noen av absorbanmålingene. Dette resulterer i at alle kyvettene tilsynelatende hadde identisk absorban. Slike øyensynlige feil ble fjernet før responsparametrene ble beregnet.

Problemer med termostaten på det ene frisettingskammeret gjorde at jeg byttet frisettingskammer i løpet av screeningforsøkene. Det er imidlertid ikke sannsynlig at dette byttet av apparat skal ha hatt noen betydning for resultatet.

8.2 Granulatets egenskaper

Jeg brukte en mye mer høyviskøs HPMC-kvalitet enn tidligere hovedfagsstudent Salbu brukte [7]. Dermed kunne jeg ikke jobbe videre med hennes formulering, men måtte finne min egen optimale sammensetning av granuleringsvæsken samt tilsette uløst HPMC i pulverblandingen. En mindre viskøs HPMC-kvalitet ville antageligvis gi andre resultater både fordi granulatbindingsegenskapene ville vært annerledes og fordi diffusjonen ut av det coatede granulatet vil påvirkes av HPMC-kvaliteten når væskemengden som diffunderer inn i partikkelen er begrenset. En parameter som påvirket granulatet i riktig retning var om det ble lagt til hvile/svelling i dobbelt lag plast i 1-2 døgn før det ble kjørt i Jensen. Det er sannsynlig at det er den tørre HPMC-mengden i pulverblandingen som sveller bedre når kontakttiden med væsken øker. På denne måten ble det dannet sterke nok bindinger i granulatet til at det tålte belastningen i fluidbedapparatet, uten at jeg måtte øke væskemengden og dermed risikerte spagettidannelse under selve granuleringen.

Oppskalering av produksjonsmengden resulterte i at granulatmassens ”tålte” mindre væsketilsetning. Jeg valgte å beholde den pulversammensetningen jeg hadde kommet fram til i de innledende forsøkene, men måtte redusere mengden granuleringsvæske for å få et

akseptabelt utbytte av granulater i riktig størrelse. Totalt sett resulterte oppskaleringen i at totalmengden HPMC i kjernepartikkelen ble redusert fra 2,71% til 2,36-2,54%. Se tabell 7.2. Konsekvensen er et mer sprøtt granulater som lettere pulveriseres under selve coatingen i fluidbed. Små partikler har stor overflate i forhold til vekten og selve polymerlaget som påføres utenpå partikkelen kan derfor bli tynnere enn i de innledende rundene. Dette kan være årsaken til at jeg ikke oppnådde noen signifikant lagtid i disse forsøkene, selv om mengden Eudragit pr g granulater her var tilnærmet lik mengden som i innledende runder ga lagtid.

Jensen granulator er en gammel maskin med noe varierende effektivitet. Mitt granulater bestod av 94% vannfri laktose og var svært fuktfølsomt. I innledende forsøk resulterte så lite som 10 g ekstra væske pr 500 g pulver i en sterkt økt mengde spagetti i Jensen. Men selv med lik prosentvis sammensetning, lik temperatur på granuleringsvæsken, lik arbeidsprosedyre og batcher produsert samme dag, dvs. lik luftfuktighet og temperatur i rommet, ble utbyttet i Jensen forskjellig for de ulike batchene. (Se tabell 7.1 Ulike granulatsammensetning....”Utbytte fraksjon i riktig størrelse” batch 20 og 21). Det er sannsynlig at denne varierende effektiviteten påvirker granulats egenskaper. Dette har liten betydning når alle de tre batchene ble blandet før de ble coatet, men kan ha betydning for den ene formuleringen (kub 3) som pga operatørfeil måtte lages på nytt fra en egen batch – batch 23. Jensen granulator er dessuten en gammel og velbrukt granuleringsmaskin. Overgangen mellom sikt og stålchassis er ikke lengre helt lukket under arbeidsprosessen. Jeg brukte sikt 1,0 mm. Selv om maksimal teoretisk granulatsstørrelse da er 1,0 mm, vil partikler over denne størrelsen unnslippe sikten. Ved å velge en annen granuleringsmetode er det sannsynlig at utbyttet av granulater 0,7-1 mm ville vært større: granulats dermed ville fått en mer ensartet størrelse og derfor et mer uniformt coatinglag.

8.3 Fluidbed coating

Jeg hadde tidvis store problemer med at spraydysen gikk tett, med påfølgende avbrudd i coatingen og demontering av utstyret. Slike avbrudd i spraycoatingen kan gi ujevnt polymerlag eller et polymerlag med sprekker og skader pga at temperaturen synker under MFT når utstyret demonteres. Frekvensen av slike problemer varierte sterkt, - fra null episoder for en batch til fire episoder for en annen. Batchene med mange slike episoder har antageligvis et mindre perfekt coatinglag enn de andre. Dette kan være en av årsakene til at ikke alle resultatene ble signifikante.

8.4 Hovedforsøk

Det er sannsynlig at de ovenfor nevnte episodene alle påvirker det ferdige granulats egenskaper. Å måtte beregne 100% verdiene eller fjerne enkeltverdier er heller ikke optimalt når tallene skal analyseres.

Jeg oppnådde imidlertid signifikante effekter for responsen T_d dvs. tid for 63,2% frisatt mengde, for β og for en av parameterne for lagtid - T_{10} . Jeg kan ikke utelukke at modelleringen med hensyn på lagtid for en stor del baserer seg på støy, siden jeg ikke fikk noen signifikante effekter for T_0 , og T_{10} kun var signifikant i standard medium. For responsen T_d var imidlertid alle designvariablene og også alle beregnede samspill signifikante. Siden jeg valgte et oppløsning IV faktorielt design er 2-faktor samspillene sammenblandet noe som tilsier at jeg kan ikke analysere de enkelte samspill hver for seg. Dette gjør det vanskelig å tolke samspillseffektene. Jeg kom imidlertid ett steg videre i å finne hvilke faktorer som påvirker frisettingen av et legemiddel over en poly(meth)acrylat-polymer som Eudragit® RS 30 D:

- Ionene i frisettingsmediet påvirker frisettingen. Siden det er rikelig ioner i chymen er det viktig at fremtidige frisettingsforsøk utføres i standard frisettingsmedium som er den av disse mediene som best simulerer forholdene i mage-tarmkanalen.
- I begge medier gir økt polymertykkelse saktere frisetting. Økt polymertykkelse gir også økt lagtid i standard medium.
- Natriumacetat-ioner i umiddelbar nærhet av polymeren modifierer frisettingen. I begge medier har samspillet Eudragitmengde*natriumacetatmengde signifikant effekt på T_d . Økt bindemiddelkonsentrasjon i natriumacetatvæsken øker T_d i begge medier. Hvis frisettingsmediet er standard medium øker HPMC frisettingshastigheten (T_d) mer enn PVP. I vann gir PVP raskest frisetting.
- β i standard medium og vann er ulik. For β i vann var kun natriumacetatmengde og type bindemiddel i natriumacetatvæsken signifikant. Økende mengde natriumacetat eller PVP som bindemiddel gir lavere β dvs. raskere initiell frisetting. I standard medium er flere faktorer og samspill signifikante. Også her gir økende natriumacetatmengde raskere initiell frisetting, men bindemiddeltype er ikke signifikant. Derimot er samspillet Eudragit*bindemiddeltype signifikant og gir en økende β . Når β øker blir kurven mer sigmoid. Dette er ønskelig da dette betyr liten initiell frisetting og mulig kan resultere i lagtid.

- T_{10} sier noe om hvor raskt den første 10% av dosen frisettes etter at T_0 er oppnådd, og er dermed en funksjon av både T_0 og β . T_0 var imidlertid ikke signifikant for noe medium. Man skulle da tro at signifikante effekter for β ville være signifikante for T_{10} i standard medium – den eneste parameter for lagtid som var signifikant. Dette er ikke tilfelle og bekrefter min antagelse om at en tolkning av T_{10} er beheftet med mye usikkerhet i og med at forskjellene var veldig små og lett kan skyldes tilfeldige hendelser under forsøkene. Med dette forbehold viser mine forsøk at polymermengden har betydning for lagtiden. HPMC som bindemiddel gir lengre lagtid enn PVP ved tykt polymerlag. Ved tynt polymerlag har valg av bindemiddel liten betydning.

I forforsøkene brukte jeg Eudragitdispersjon som jeg i etterkant fant hadde gått ut på holdbarhet. Ifølge produsenten endrer polymerens frisettegenskaper seg ved lagring fordi estergruppene i polymeren hydroksyleres [73]. Zheng og medarbeidere har også vist at de legemiddelfrisettende egenskapene avtar ved lagring [78]. I figur 7.3 ser det ut som jeg har oppnådd lagtid ved tykk Eudragit-tykkelse. Dette forsøket er utført på batch 19 hvor Eudragitmengden er 2,5 g pr g granulater. Jeg greidde ikke å oppnå tilsvarende lagtid i noen av de designforsøkene hvor jeg brukte holdbar Eudragitdispersjon. Teoretisk påført polymermengde var 2,4 g pr g granulater. (Pga problemene med tette dyser er reell polymermengde noe lavere). Denne markerte lagtiden for Eudragitcoatet batch 19 kan skyldes tilfeldigheter, at jeg her har greidd å påføre et tilstrekkelig tykt Eudragitlag eller være et resultat av at jeg brukte utgått dispersjon.

8.5 Hva ville jeg gjort hvis jeg skulle arbeidet videre med oppgaven?

Fordi vi hadde signifikante samspill mellom mange av designvariablene er neste naturlige trinn et fullfaktorielt forsøk. Dette fordi ingen av samspillene er sammenblandet i et slikt design. For at dette skal bli en overkommelig oppgave bør man ideelt sett velge en granuleringsmetode som gir et mer reproducerbart produkt enn Kenwood blandemaskin og Jensen granulator, samt påse at dysen er helt ren før hver coating slik at avbrudd unngås og benytte et frisettingskammer hvor løsningen filtreres før den pumpes inn i spektrofotometeret slik at ikke slangene hopper av fordi partikler tetter slangene.

Designvariabler som bør undersøkes videre er etter min mening:

- Om økning i polymerens tykkelse gir ønsket lagtid.
- Om man ved å øke natriumacetatmengden ytterligere kan få økt frisetting ved tykkere polymerlag, slik at vi kan oppnå både lagtid og rask frisetting
- Om man kan coate med natriumacetat uten å ha bindemiddel i oppløsningen, og om dette er gunstig med hensyn på å oppnå ønsket frisettingsprofil sammenlignet med 1% HPMC som bindemiddel. Økt bindemiddelkonsentrasjon virket negativt inn på frisettingshastigheten uansett hvilke frisettingsmedium jeg brukte. HPMC økte frisettingshastigheten i standard medium og også er det av de testede bindemiddeltypene som gir lagtid (med de ovenfor nevnte forbehold om tolkning av lagtid). Derfor bør HPMC være valgt bindemiddel.

Det er vanskelig å komme med en konklusjon på hvilke samspillseffekter som har betydning siden jeg hadde signifikante samspill mellom flere av designparametrene men ikke kunne atskille disse pga designets oppløsning [82].

8.6 Fremtidsvisjoner

Hvis det er tilfellet at kortisonabsorpsjonen hovedsaklig finner sted i tynntarmen, er frisetting innen 6-8 timer en forutsetning. Væsken i chymen reabsorberes i stor grad før tykktarmen og tilgjengelig væskemengde er derfor mindre der enn lengre oppe i tarmen [94]. Kortison er et lite løselig stoff. Absorpsjon forutsetter at stoffet er løst. Det er derfor sannsynlig at kortisonabsorpsjonen i tykktarmen er variabel og uforutsigbar [56]. Øverst i tykktarmen kan det allikevel være nok væske tilstede til at stoffet løses og dermed kan absorberes i noen grad.

Ingen av de mange perorale hydrokortison eller kortisonacetatformuleringer som er på markedet i dag, gir den ønskede døgnprofil [21-23]. Det antas at ufysiologisk døgnprofil er en av årsakene til at pasientene har en redusert livskvalitet. To ulike metoder for peroral kortison- eller kortisolsubstitusjon kan være aktuelle. Enten - som jeg har forsøkt - en formulering beregnet til å tas om kvelden som etter en definert lagtid frigir legemidlet. Eller en formulering som tas umiddelbart etter oppvåkning på fastende mage, og som superraskt frisetter dosen. To slike nye formuleringstyper utprøves nå – DuoCort [38] og Chronocort [37]. Førstnevnte har en SR-kjerne under et ytre lag som raskt frigir dosen og er beregnet til å tas ved oppvåkning. Hovedutfordringen for en formulering som raskt frigir dosen, er at

fysiologisk kortisolsekresjon har frisettingsmaksimum svært tidlig på morgenen og at en formulering som tas ved oppvåkning nødvendigvis vil gi et noe forsinket plasmakortisolnivå sammenlignet med det endogene. Hovedutfordringen med en SR-formulering beregnet til å tas om kvelden, er at lagtiden må være den samme hos alle pasientene for å unngå at noen får en kortisolplasmatope for tidlig på natten, samt at dosen må frisettes raskt når lagtiden er oppnådd slik at den absorberes i den ønskede del av tarmen. For å oppnå lagtid må man antageligvis ha et tykkere Eudragit® RS 30 D lag enn det jeg har påført mitt granulat. Jeg har vist at natriumacetat i et indre coatinglag åpner opp polymeren, men natriumacetatmengden i mine forsøk var ikke tilstrekkelig når polymerlaget var tykt. Hvis ytterligere økning av saltmengden ikke greier å åpne opp dette tykkere polymerlaget, er etter min mening leveranse i tynntarmen/proximalt i tykktarmen ikke oppnåelig med en ren Eudragit® RS polymer. Det er imidlertid mulig å manipulere frisettingen over denne polymeren ved å blande den med andre Eudragitkvaliteter [95].

9 KONKLUSJON

Jeg lykkes i å produsere et coatet granulat med den ønskede raske frisettingen, men ikke i å oppnå noen lagtid. Heller ikke jeg kom derfor helt i mål med oppgaven.

10 REFERANSELISTE

1. Løvås, K., Husebye, E.S., *High prevalence and increasing incidence of Addison's disease in western Norway*. Clin. Endocrinol, 2002. **56**: p. 787-791.
2. Løvås, K., Loge, JH., Husebye, ES., *Subjective health status in Norwegian patients with Addison's disease*. Clin. Endocrinol, 2002. **56**(5): p. 573-574.
3. Løvås, K., Husebye, E.S., *Continuous subcutaneous hydrocortisone infusion in Addison's disease*. Eur. Journ of Endocrinology, 2007. **157**: p. 109-112.
4. Merza, Z., et al, *Circadian hydrocortisone infusions in patients with adrenal insufficiency and congenital adrenal hyperplasia*. Clin. Endocrinol, 2006. **65**: p. 45-50.
5. Knutsson, U., et al., *Circadian Cortisol rhythms in healthy boys and girls....* J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**: p. 536-540.
6. Bergsens, E., *Formulering av et hydrokortisonpreparat med tids-kontrollert frisetting*. 2002: p. 85.
7. Salbu, L., *Formulering av granulat med mekanisk styrke nok til å tåle coating i fluid bed*. 2004, Univercity of Oslo: Oslo. p. 72.
8. Schedl HP, C.J., *Cortisol absorption in man*. Gastroenterol, 1963. **44**: p. 134-145.

9. Sherwood, L., ed. *Human Physiology - from cells to system*. Fifth ed., ed. M. Julet. 2004, Thomson Brooks/Cole: Belmont. USA. 708-714.
10. Veldhuis, J.D., *Amplitude, but not Frequency, Modulation of Adrenocorticotropin Secretory Bursts Gives Rise to the Nyctohemeral Rhythm of the Corticotropic Axis in Man*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1990. **71**(2): p. 452-463.
11. Seckl, J., Walker, B., *Minireview: 11beta-HSD type 1 - A tissue-specific amplifier of Glucocorticoid Action*. *Endocrinology*, 2001. **142**(4): p. 1371-1376.
12. *Martindale -The complete Drug Reference*. 2007.
13. Arit, W., Allolio, B., *Adrenal insufficiency*. *The Lancet*, 2003. **361**: p. 1881-1893.
14. Myhre, A.G., Undlien, D.E., Løvås, K., et al., *Autoimmun adrenocortical failure in Norway autoantibodies and human leukocyte antigen class II associations related to clinical features*. *J. Clin Endocrinol Metab*, 2002(87): p. 618-623.
15. Myhre AG, A.H., Undlien DE, Hovdenak N, Aksnes L, Husebye ES., *High frequency of coeliac disease among patients with autoimmune adrenocortical failure*. *Scand J Gastroenterol.*, 2003. **38**(5): p. 511-515.
16. Løvås, K., *Epidemiological and clinical perspectives on Addison`s disease*. 2003: p. 9-17.
17. Løvås, K., et al., *Primær binyrebarksvikt - årsaker, diagnostikk og behandling*. *Tidsskrift Nor Lægeforening*, 2005. **2**(125): p. 155-158.
18. Czock, D., et al, *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of systemically administered hydrokortisone*. *Clin. Pharmacol*, 2005. **44**(1): p. 61-98.
19. Shifren, J.L., Braunstein, G.D., Simon, J.A., *Transdermal testosterone treatment in women with impaired sexual function after oophorectomy*. *New England Journ of Medicin*, 2000. **343**: p. 682-688.
20. Niemann, L., Turner, M., *Addison`s disease*. *Clinics in Dermatology*, 2006. **24**(4): p. 276-280.
21. Mah, P.M., et al, *Weight-related dosing, timing and monitoring hydrocortisone replacement therapy in patients with adrenal insufficiency*. *Clin. Endocrinol*, 2004. **61**: p. 367-375.
22. Crown, A., Lightman, S., *Management of patients with glucocorticoid deficiency*. *Endocrinology & Metabolism*, 2005. **1**(2): p. 62-63.
23. Crown, A., Lightman, S., *Why is the management of glucocorticoid deficiency still controversial: a review of the literature*. *Clin. Endocrinol*, 2005. **63**: p. 483-492.
24. Howlett, T.A., *An assessment of optimal hydrocortisone replacement therapy*. *Clin. Endocrinol*, 1997. **46**(3): p. 263-268.
25. Peacey, S.R., et al., *Glucocorticoid replacement therapy: are patients overtreated and does it matter?* *Clin. Endocrinol*, 1997. **46**(3): p. 225-261.
26. Laureti, S., et al., *Improvement of treatment of primary adrenal insufficiency by administration of cortisone acetat in three daily doses*. *J Endocrinol Invest*, 2003. **26**(11): p. 1071-1075.
27. Barbetta, L., et al., *Comparison of different regimens of glucocorticoid replacement therapy in patients with hypoadrenalism*. *J Endocrinol Invest*, 2005. **28**(7): p. 632-637.
28. Esteban, N.V., et al, *Daily cortisol production rate in man determined by stable isotope....* *J Clin Endocrinol Metab*, 1991. **72**: p. 39-45.
29. Kerrigan, J., et al, *Estimation of daily cortisol production and clearance rates in normal pubertal males.....* *J Clin Endocrinol Metab*, 1993. **76**: p. 1505-1510.
30. *Norsk legemiddelhåndbok, I, Norsk legemiddelhåndbok 2007*. 2007.
31. Connell, J., Davies, E., *The new biology of aldosterone*. *Journal of Endocrinology*, 2005. **186**: p. 1-20.
32. Funder, J.W., et al, *Mineralcorticoid action: target tissue specificity is enzyme, not receptor, mediatet*. *Science*, 1988. **242**: p. 583-585.

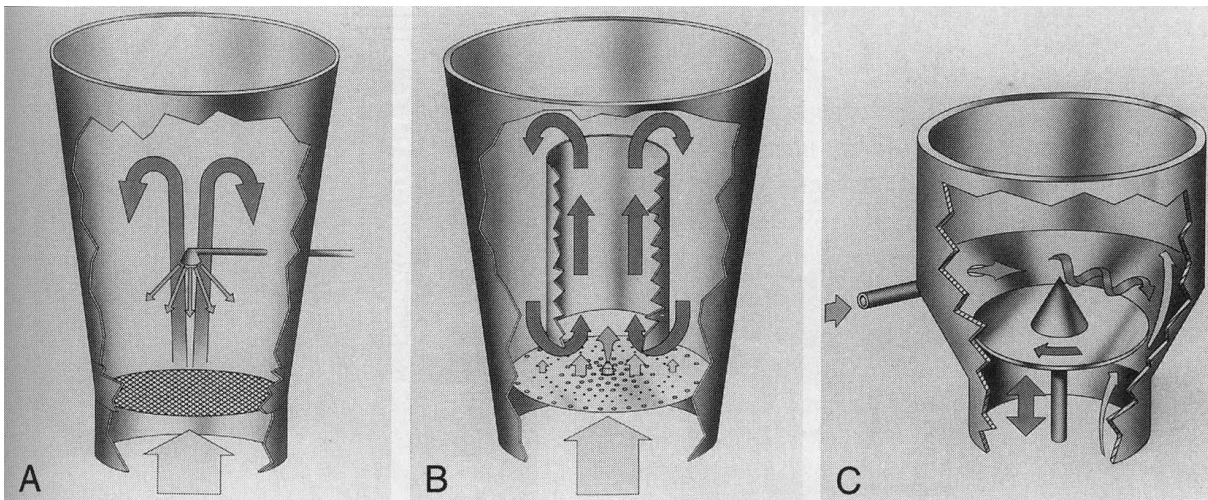
33. Labrie, F., et al, *Endocrine and intracrine sources of androgens in women: inhibition of breast cancer and other roles of androgens and their precursor dehydroepiandrosterone*. Endocrine Reviews, 2003. **24**(2): p. 152-182.
34. Gebre-Medhin, G., Husebye, E.S., Mallmin, H., *Oral DHEA replacement therapy in woman with Addison`s disease*. Clin. Endocrinol, 2000. **52**: p. 775-780.
35. Løvås, K., Gebre-Mehdin, G. , *Replacement of DHEA in adrenal failure*. Journal of Clin Endocrinology & Metabolism, 2003. **88**: p. 1112-1118.
36. Gurnell, E., Hunt, P., et al, *Long-Term DHEA Replacement in Primary Adrenal Insufficiency: A Randomized, Controlled Trial*. Journal of Clin Endocrinology & Metabolism, 2008. **93**(2): p. 400-409.
37. Newell-Price, J., et al, *Modified-release hydrocortisone for circadian therapy: a proof-of-principle study....* Clin. Endocrinol, 2007. **68**: p. 130-135.
38. Johannson, G., et al, *Long-Acting Hydrocortisone for Glucocorticoid Replacement Therapy*. Horm Res, 2007. **68**(5): p. 182-188.
39. Walker, B.R., et al., *Mineralcorticoid excess and inhibition of 11-beta HSDH 1*. J Endocrinol, 1992. **175**: p. 3570-3574.
40. Pedersen, B.L., et al, *Dissolution of hydrocortisone in human and simulated intestinal fluids*. Pharmaceutical Research, 2000. **20**(2): p. 177-186.
41. Amidon, G.L., et al, *A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution an in Vivo Bioavailability*. Pharmaceutucal Research, 1995. **12**(3): p. 413-420.
42. Food and Drug Administration, O.D., . . *Biopharmaceutics Classification System Guidance*. 2008 [cited; Available from: http://www.fda.gov/cder/OPS/BCS_guidance.htm].
43. Mager, D.E., Jusko, W.J., *Quantitative Structure - Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Relationships of Corticoids in Man*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2001. **91**(11): p. 2441-2451.
44. Derendorf, H., Mollmann, H., Barth, J., et al., *Pharmacokinetics and oral bioavailability of hydrocortisone*. J Clin Pharmacology, 1991(31): p. 473-476.
45. Hellman, L., et al, *Tracer studies of the absorption and fate of steroid hormones in man*. journal of Clinical Investigation, 1956. **35**(9): p. 1033-1044.
46. Marzolini, C., et al., *Polymorphism in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance*. Clin. Pharmacol Ther, 2004. **75**(1): p. 13-33.
47. Ueda, K., Okamara, N., et al., *Human P-glycoprotein transports cortisol, aldosterone and dexamethasone, but not progesterone*. J Biol Chem, 1992. **267**: p. 24248-24252.
48. Farris, B.L., et al., *Comparison of absorption of cortisone acetate and hydrocortisone hemisuccinate*. J Clin Endocrinol Metab, 1978. **47**(5): p. 1137-1140.
49. Heazelwood, J.P., et al., *Plasma cortisol delivery from oral cortisol and cortisone acetate: relative bioavailability*. Br J Clin Pharmacol, 1984. **17**: p. 55-59.
50. Toothaker, R.D., et al., *Oral hydrocortisone pharmacokinetics*. Journal of pharmaceutical Sciences, 1982. **71**(5): p. 573-576.
51. Patel, R.B., et al., *Bioavailability of Hydrocortisone from Commercial 20-mg tablets*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1984. **73**(7): p. 964-966.
52. Bright, G.M., *Corticosteroid-Binding Globulin Influences Kinetic Parameters of Plasma Cortisol Transport and Clearance*. J Clin Endocrinol Metab, 1995. **80**(3): p. 770-775.
53. Karssen, A.M., *Multidrug resistance P-glycoprotein hampers the access of cortisol but not of corticosteron to mouse and human brain*. Endocrinology, 2001. **142**(6): p. 2686-2694.
54. Fleisher, D., Johnsen, K.C., et al., *Oral absorption of 21-corticosteroid esters: a function of aqueous stability and intestinal enzyme activity and distribution*. J of Pharmaceutical Sciences, 1986. **75**(10): p. 934-939.

55. Washington, N., Washington, C., Wilson, C., ed. *Physiological Pharmaceutics- Barriers to drug absorption*. Second ed. 2001, Taylor and Francis: London. 312.
56. Narisawa, S., et al., *Drug release behavior in gastrointestinal tract of beagle dogs from multiple unit type rate-controlled and time-controlled release preparations coated with insoluble polymer-based film*. J of Controlled Release, 1995. **33**: p. 253-260.
57. Hebden, J.M., et al, *Night-time quiescence and morning activation in the human colon....* Eur.J. Gastroenterol Hepatol, 1999. **11**(12): p. 1379-1385.
58. Nicholson, K., et al, *Gut microorganisms, mammalian metabolism and personalized health care*. Nature Reviews Microbiology Advance online publication, 2005.
59. Hillery, A., Lloyd, A., Swarbrick, J., ed. *Drug delivery and targeting for pharmacists and pharmaceutical scientists*. 2001, Taylor & Francis: London.
60. Goo, R.H., Moore, J.G., et al., *Circadian variations of gastric emptying of meals in humans*. Gastroenterol, 1987. **93**: p. 515-528.
61. Kumar, D., et al, *Relationship between enteric migrating motor complex and the sleep cycle*. Am. J. Physiol., 1990. **259**: p. G983-G990.
62. Kumar, D., Wingate, D., Ruckebusch, D., *Circadian variation in the propagating velocity of the migrating motor complex*. Gastroenterol, 1986. **27**: p. 886-892.
63. Coupe, A.J., Stanley, S.D., Wilding, I.R., *Variation in gastrointestinal transit of pharmaceutical dosage forms in healthy subjects*. Pharmaceutival Research, 1991. **8**(3): p. 360-364.
64. Khosla, R., Feely, L.C., Davis, S.S., *Gastrointestinal transit of non-desintegrating tablets in fed subjects*. Int. journal of Pharm, 1989. **53**(107-117).
65. Hunter, E., *In vivo investigation of hard gelatin capsules in fasting and non-fasting subjects*. Int. journal of Pharm, 1980(4): p. 175-183.
66. Casey, D., *Method for monitoring hard gelatin desintegration times in humans using external scintigraphy*. J Pharmaceutical Sci, 1976. **65**: p. 1412-1413.
67. Kellow, J.E., et al, *Human Interdigestive Motility: Variations in Patterns From Esophagus to Colon*. Gastroenterology, 1986. **91**: p. 386-395.
68. Ollerenshaw, K.J., et al., *Exercise and small intestinal transit*. Nucl. Med. Commun., 1984. **8**: p. 105-110.
69. Levy, G., Rao, B.K., *Enhanced intestinal absorption of riboflavin from sodium alginat solution in man*. J Pharmaceutical Sci, 1972. **61**: p. 279-280.
70. Aulton, M.E., *Pharmaceutics*. 2 ed. Vol. 1. 2002: Churchill Livingstone. 679.
71. Schæfer, T., *Lægemiddelteknik*. Vol. 1. oplag. 2004, københavn: Institut for Farmaci. Danmarks Farmaceutiske Universitet
72. Bouwman, A., *Form, formation and deformation. The influence of material properties and process conditions on the shape of granules produced by high shear granulation*. 2005, Universitetet i Groningen: Groningen.
73. Degussa, ed. *Eudragit Application Guidelines*. 10 ed. 2007, Degussa, Pharma Polymers, Röhm GmbH: Darmstadt. 212.
74. Osterwald, H.P., *Properties of Film-Formers and Their Use in Aqueous Systems*. Pharmaceutival Research, 1985: p. 14-19.
75. Degussa, *Eudragit - acrylic polymers for Controlled Release*, in www.pharma.polymers@degussa.com. Germany.
76. Narisawa, S., et al, *An Organic Acid-Induced Sigmoidal Release System for Oral Controlled-Release Preparations....* Journal of Pharmaceutical Sciences, 1995. **85**(2): p. 184-188.
77. AlKhatib, H.S., et al., *Optimization of Methacrylic Acid Ester Copolymers Blend as Controlled Release Coatings Using Response Surface Methodology*. Pharmaceutical Development and Technology 2003. **8**(1): p. 87-96.

78. Zheng, W., et al, *Influence of hydroxyethylcellulose in the drug release properties of theophylline pellets coated with Eudragit RS 30 D*. Eur. Journ of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2005. **59**: p. 147-154.
79. Wagner, K.G., Gruetzmann, R., *Anion-induced water flux as drug release mechanism through cationic Eudragit RS 30 D film coating*. The AAPS journal, 2005. **7**(3): p. 668-678.
80. Nimkulrat, S., et al, *Influence of selected surfactants on the tackiness of acrylic polymer films*. Int. journal of Pharm, 2004. **287**: p. 27-37.
81. Pharma, p., *Degussa, creating essentials*. 2006, Pharma polymers.
82. Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad F.,, ed. *Multivariate data analysis - in practice*. ed. C. ASA. 2006.
83. Kirkwood, B.R., Sterne, J.A.C.,, ed. *Medical statistics*. ed. B.S. Ltd. 2006.
84. *European Pharmacopoeia*, C.o. Europe, Editor. 2002, Norlingen p. 189-231.
85. Degussa, *Pulsed drug release with Eudragit RS 30 D*, Degussa, Editor. 1998.
86. Abbaspour, M.R., et al., *Design and study of ibuprofen disintegrating sustained-release tablets comprising coated pellets*. Eur. Journ of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2008. **68**(3): p. 747-759.
87. Sande, S.A., Karlsen, J.,, *Curve fitting of dissolution data by personal computer*. Int. Journal of Pharmaceutics, 1989. **55**: p. 193-198.
88. Langenbucher, F., *Linearization of dissolution rate curves by the Weibull distribution*. Journal Pharm. Pharmacol., 1972. **24**: p. 979-981.
89. The United States Pharmacopeial Convention, ed. *USP-NF The United States Pharmacopeia–National Formulary*. ed. T.U.S.P. Convention. 2008.
90. Degussa, *Acrylic Polymers for Pharmaceutical Applications*. p. 2-3.
91. Sun, Y.-M., et al.,, *Transport properties of Ionic Drugs in the Ammonio Methacrylate Copolymer Membranes*. Pharmaceutical Research, 2001. **18**(3): p. 304-308.
92. Bodmeier, R., et al, *The Influence of Buffer Species and Strength on Diltiazem HCl Release from Beads Coated with the Aqueous Cationic Polymer Dispersions, Eudragit RS, RL 30D* Pharmaceutical Research, 1996. **13**(1): p. 52-56.
93. Ravishankar, H., et al, *In-vivo evaluation of Eudramode - a novel diffusion controllet multiple unit drug delivery system*, Degussa, Editor.
94. Masaoka, Y., et al.,, *Site of drug absorption after oral administration: Assessment of membrane permeability and luminal concentration of drugs in each segment of gastrointestinal tract*. Eur. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006. **29**(2): p. 240-250.
95. Wu, C., McGinity, J.,, *Influence of an Enteric Polymer on Drug Release Rates of Theophylline from Pellets Coated with Eudragit RS 30 D*. Pharmaceutical Development and technology, 2003. **8**(1): p. 103-110.

Vedlegg 1

Prinsipp for fluidbedapparatet: Uni-Glatt fluidbed.

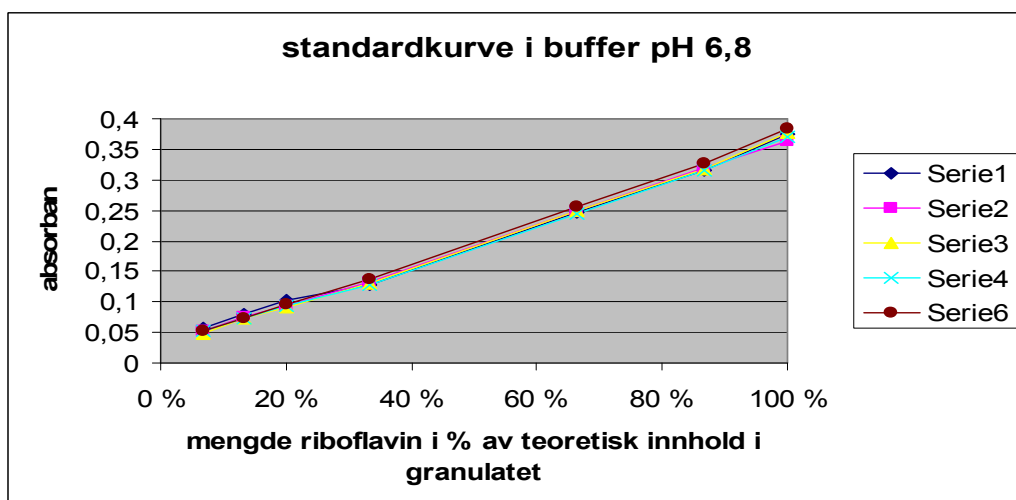
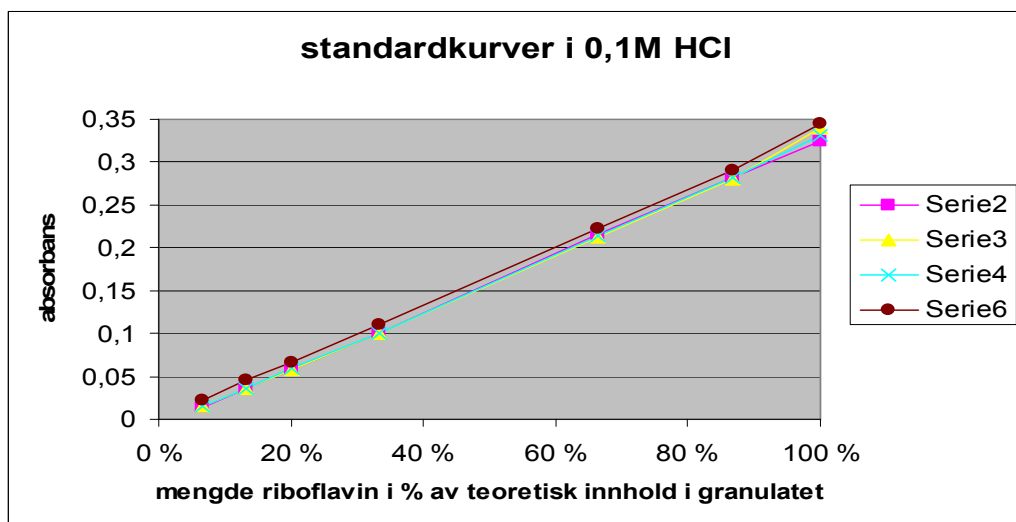
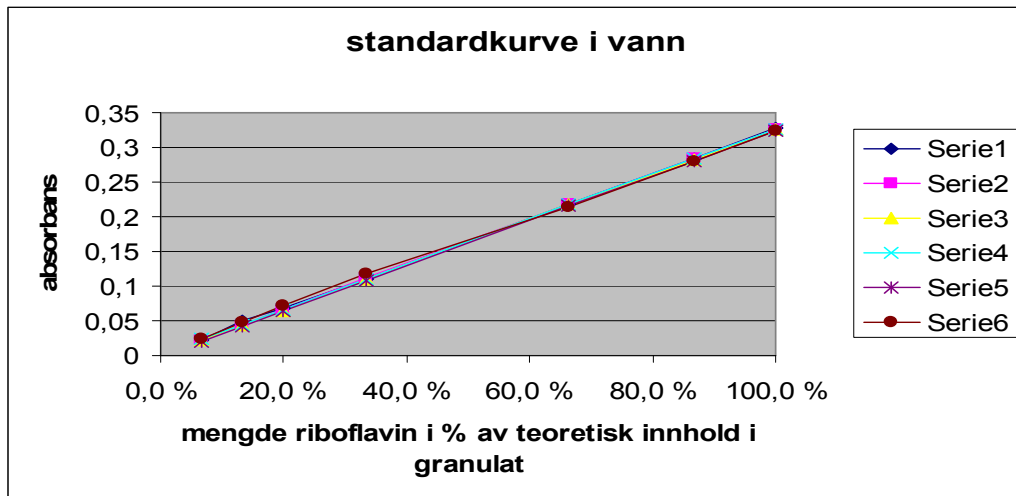


Kilde: Ansel's, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems. 8. utgave. 2005 Lippincot, Williams & Wilkins

Jeg brukte Würsterinnsats i fluidbedapparatet dvs bunnsspraying. Se figur B. Spraydysen er da plassert rett over den perforerte platen, og i en indre sylinder. Dysen sprayer oppover dvs i samme retning som luftstrømmen går i innersylinderen. Det dannes et lite undertrykk utenfor denne indre sylindere. Partiklene faller dermed ned langs kammerets ytterkanter og suges derfra inn igjen i innersylinderen pga den økte luftstrømmen her. På denne måten oppnås en jevn sirkulasjon av partiklene i selve kammeret.

Vedlegg 2

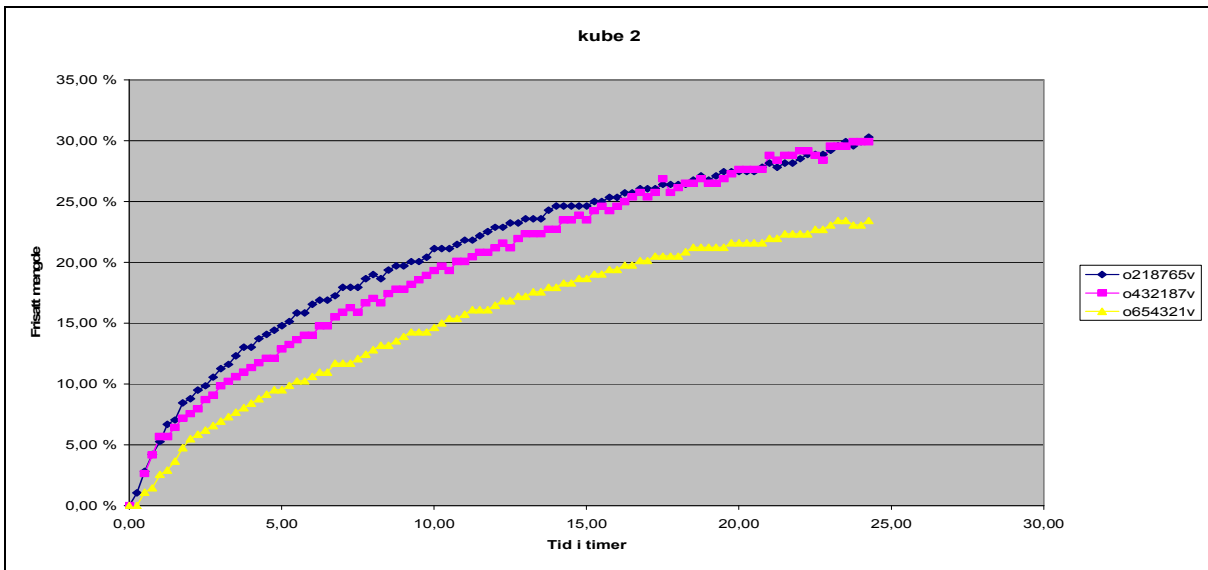
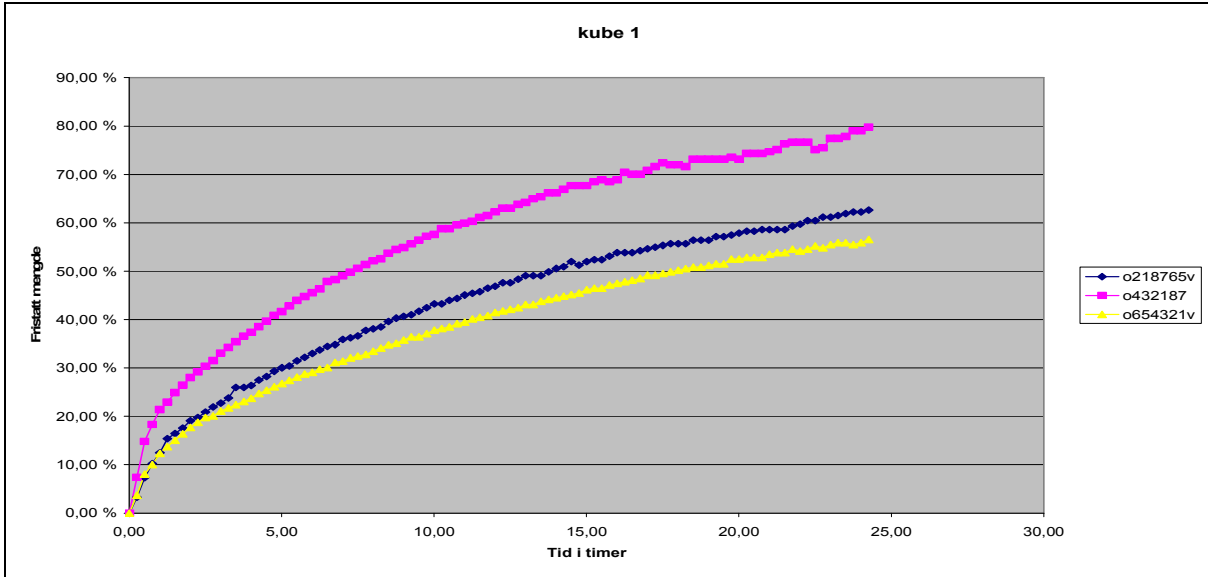
Standardkurver for de ulike frisettingsmediene brukt i forsøksdesignet:



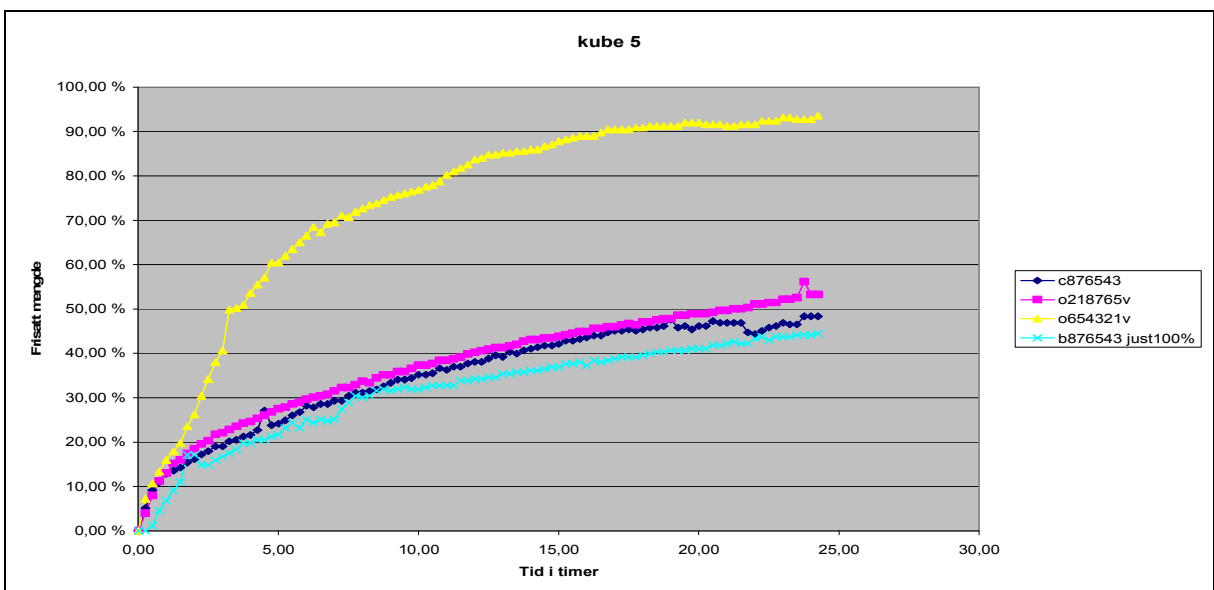
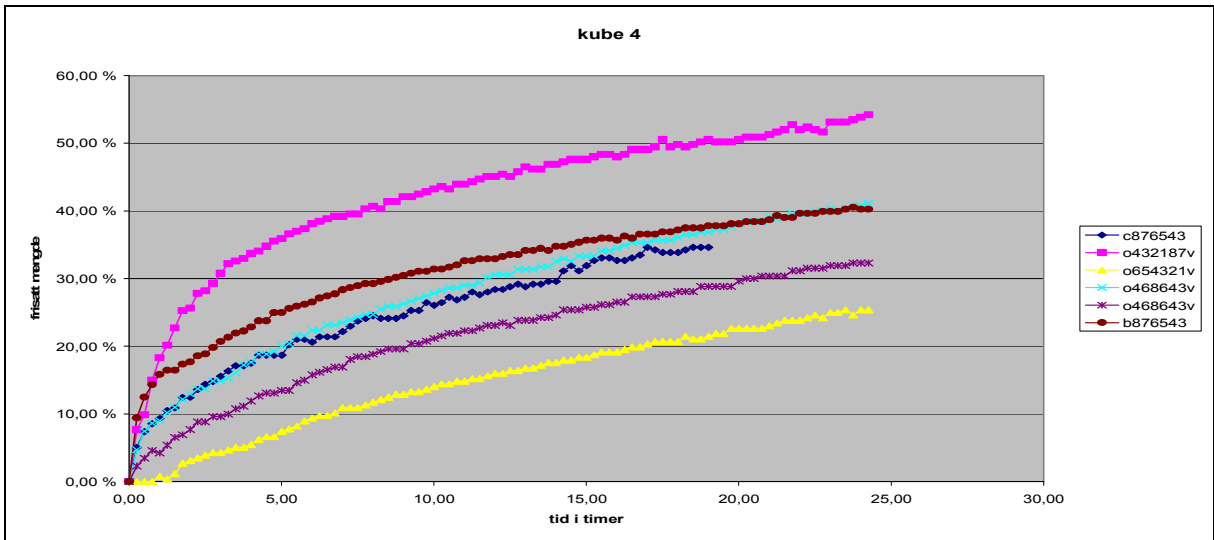
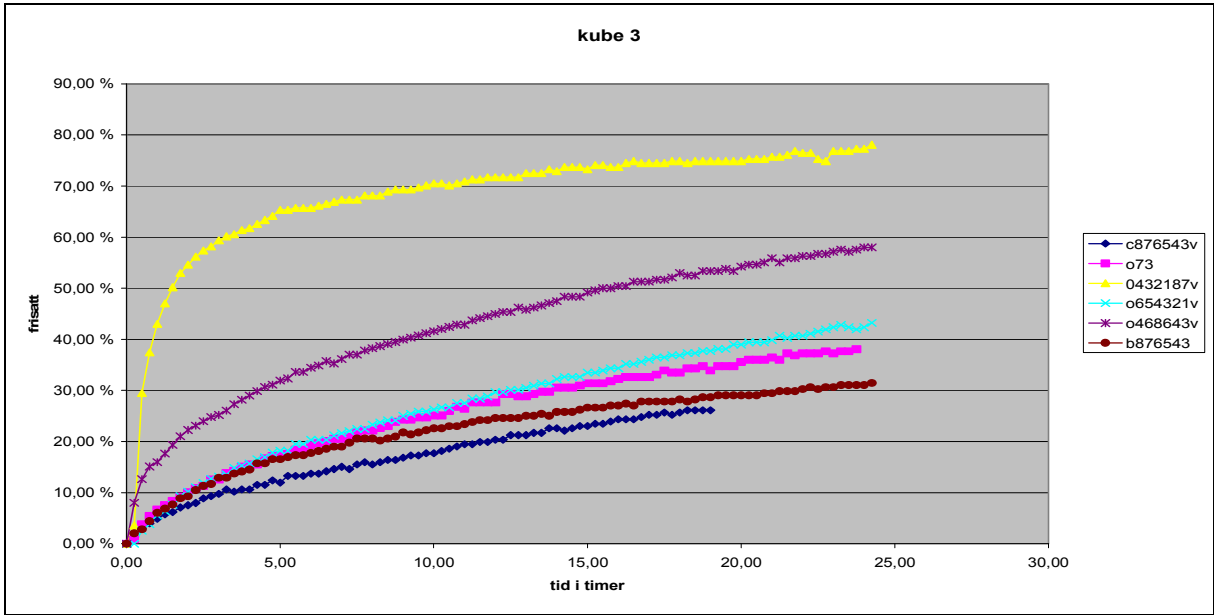
Vedlegg 3 a, b og c

Frisettingsresultater i vann for den enkelte kube (formulering) i forsøksdesignet:

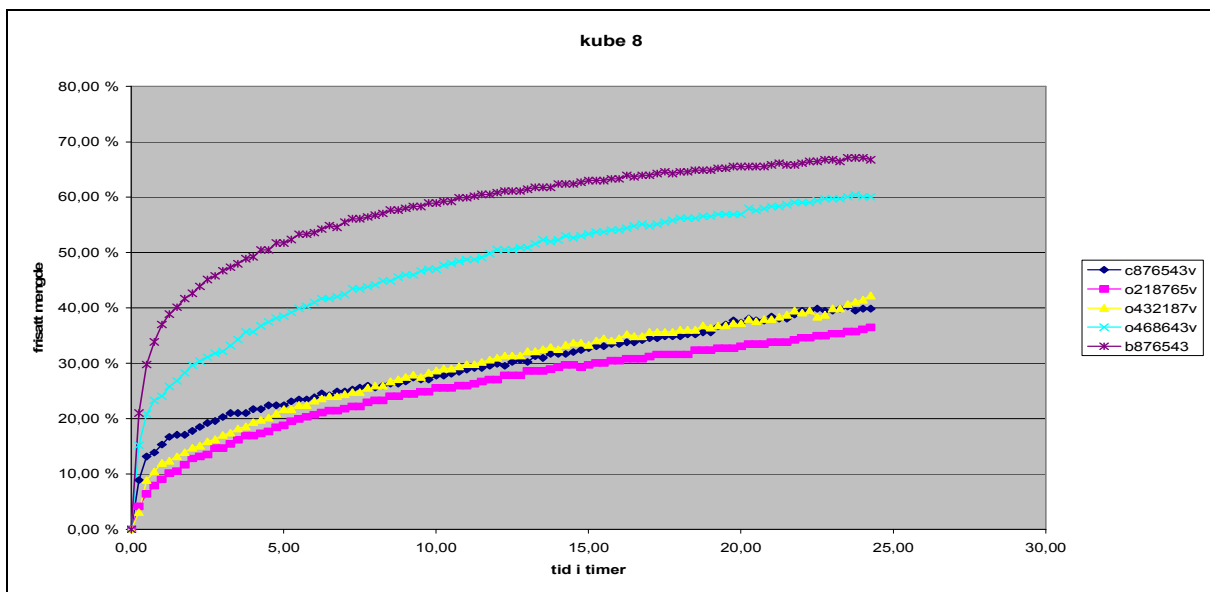
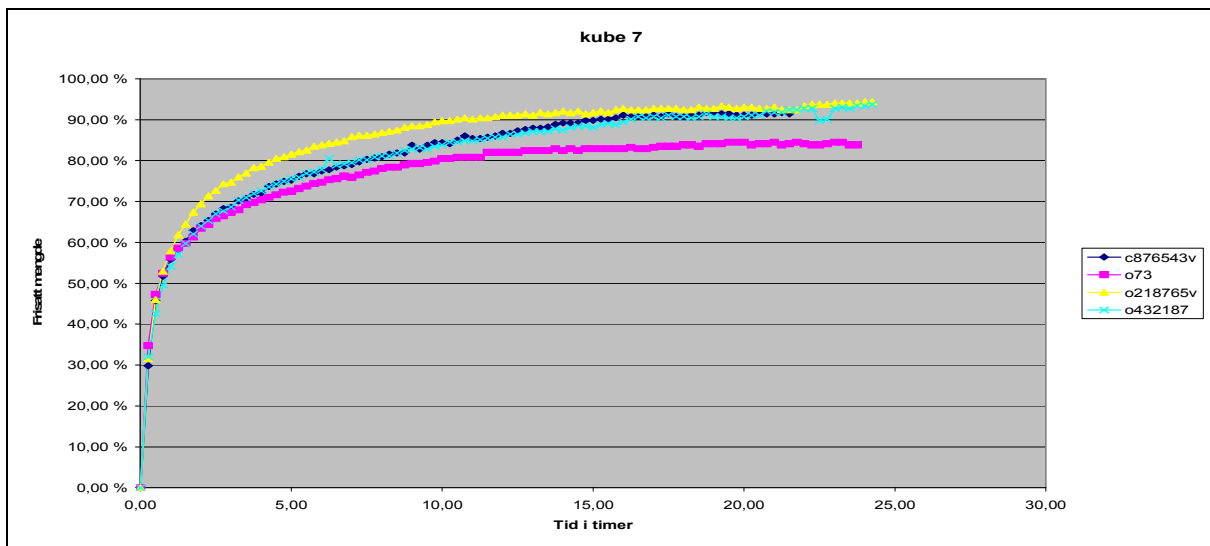
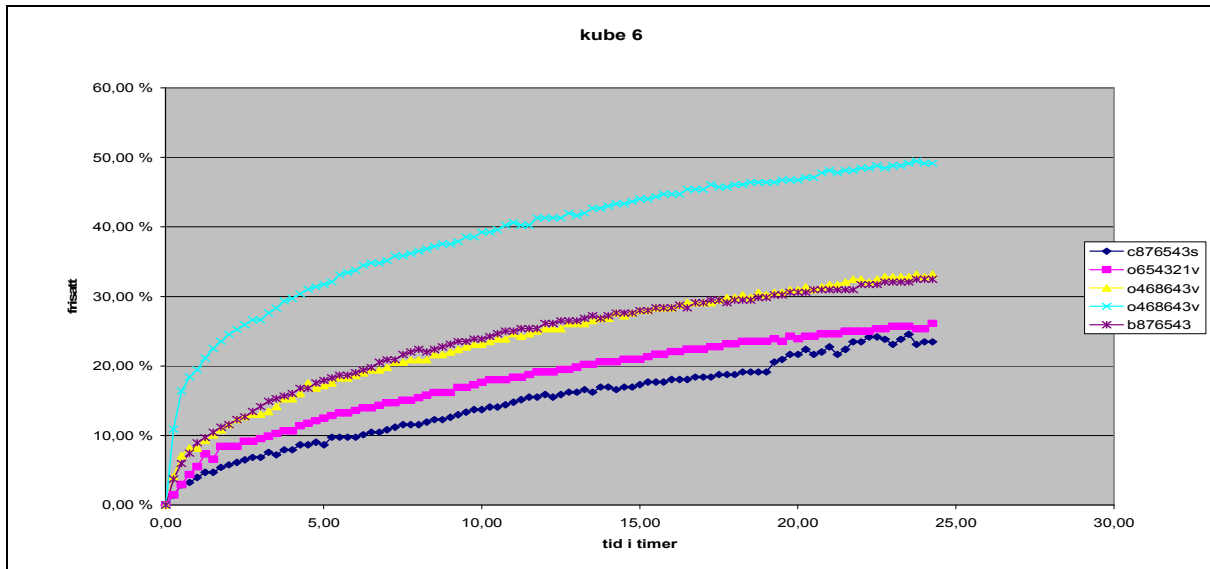
Vedlegg 3a



Vedlegg 3b



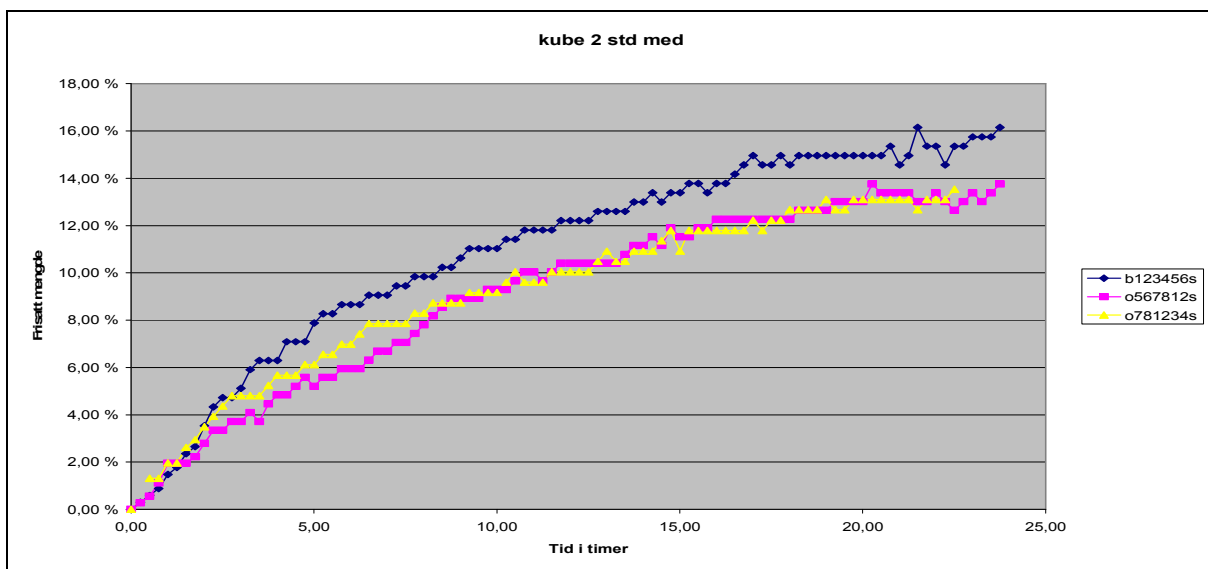
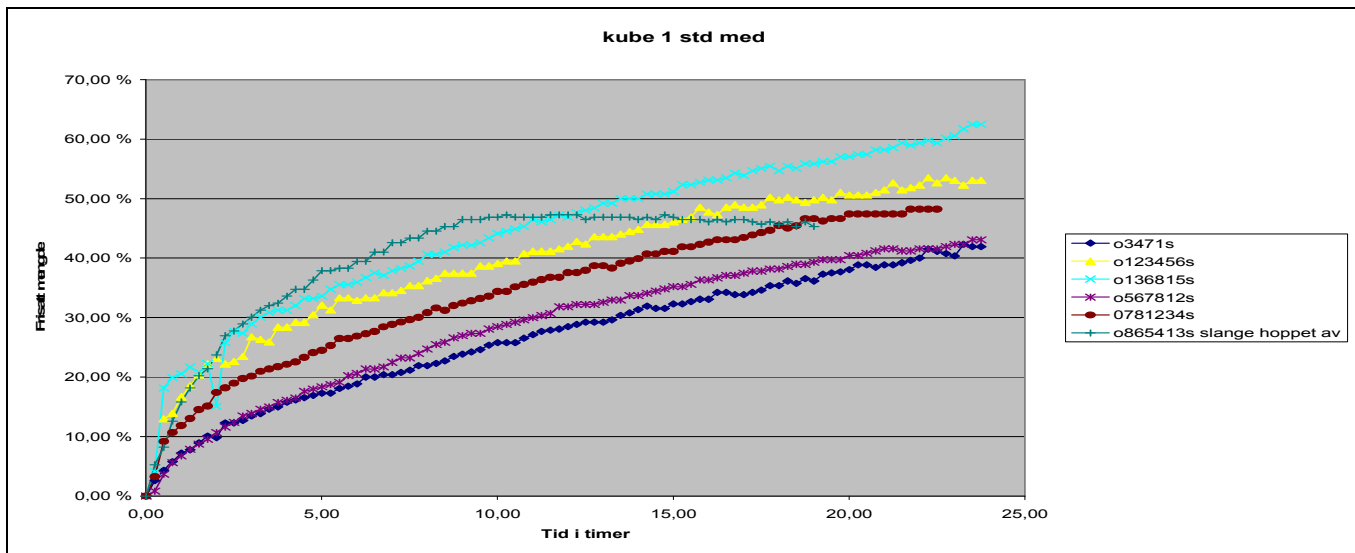
Vedlegg 3c



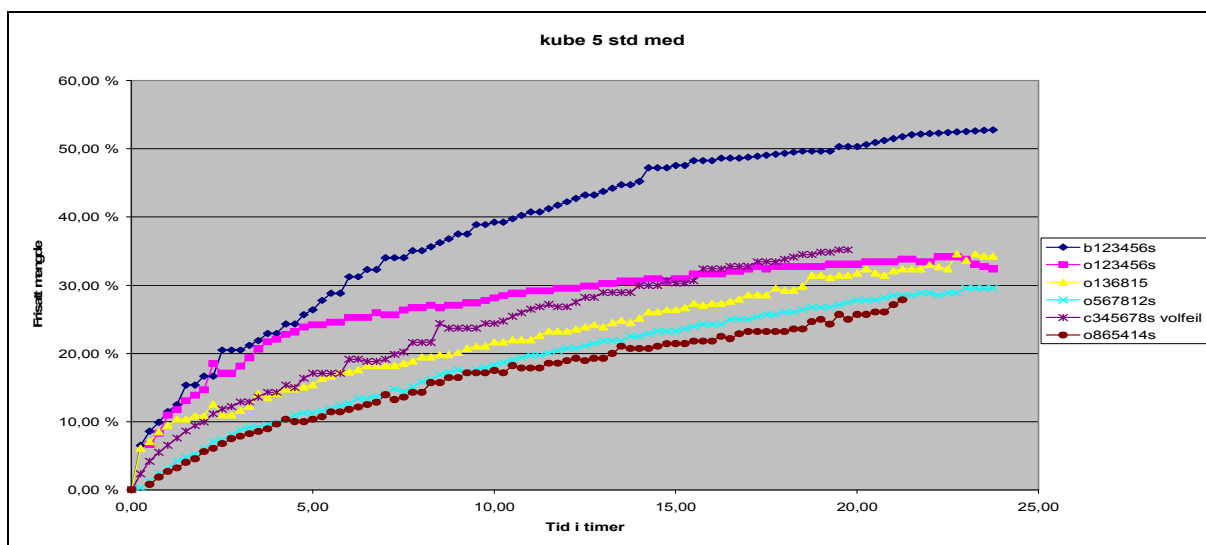
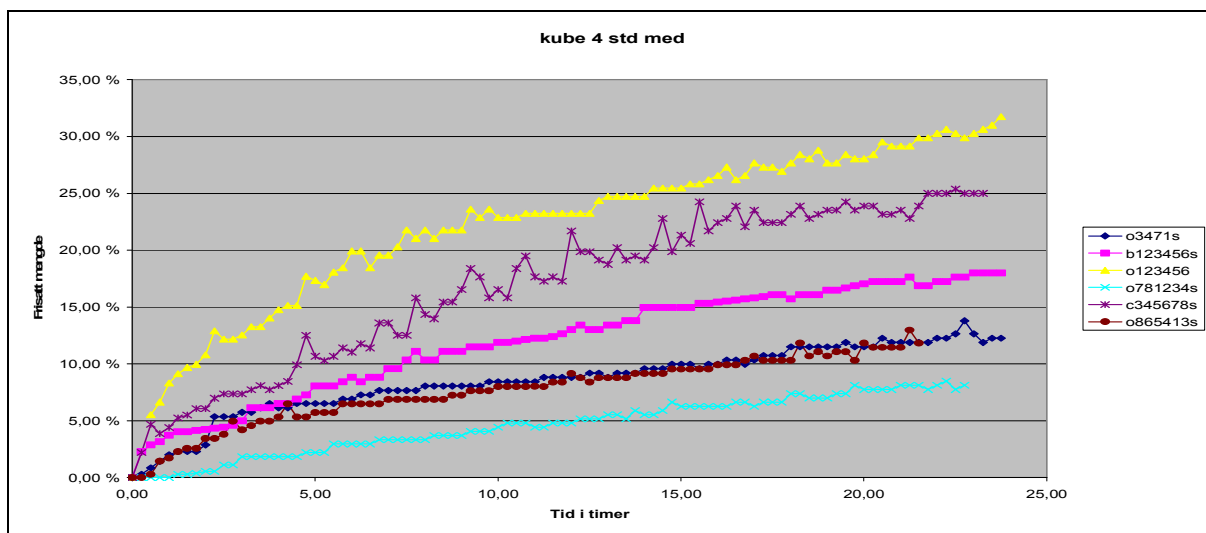
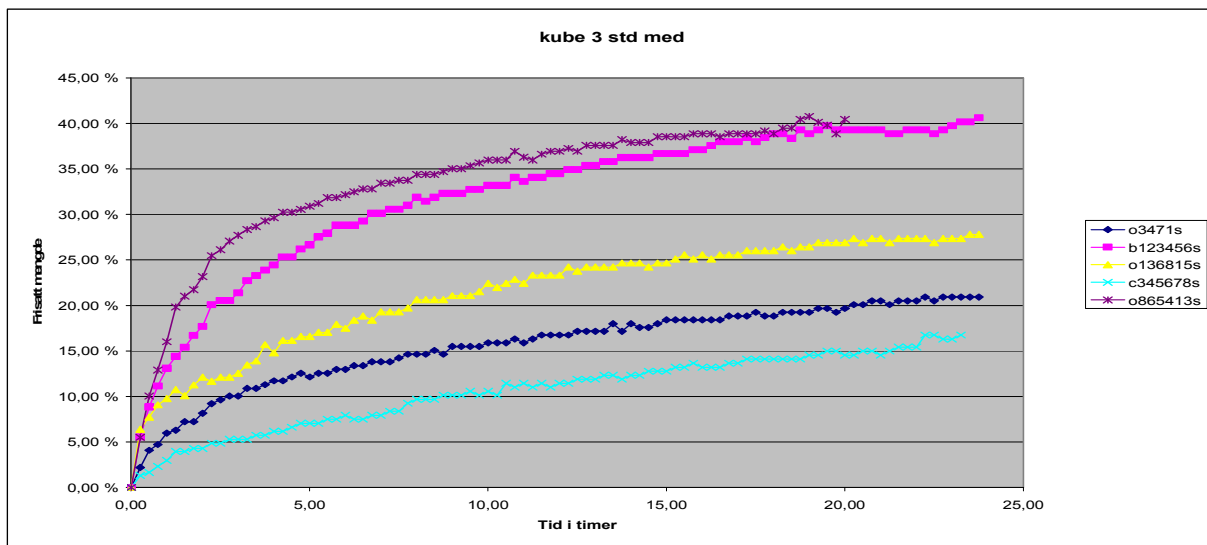
Vedlegg 4 a, b og c

Frisetting i standard medium for den enkelte kube (formulering) i forsøksdesignet:

Vedlegg 4 a



Vedlegg 4 b



Vedlegg 4c

