



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ**

**«ΧΡΟΝΟΒΙΟΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗ: ΜΕΛΕΤΕΣ
ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΑΠΟ ΥΔΡΟΦΙΛΕΣ ΜΗΤΡΕΣ»**

**ΙΩΑΝΝΙΔΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ
ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ**

-ΑΘΗΝΑ 2012-

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Μ. Βλάχου, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Α. Τσοτίνης, Καθηγητής του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Κ. Δεμέτζος, Αναπληρωτής Καθηγητής του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο του Τομέα της Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών υπό την επίβλεψη της Επίκουρης Καθηγήτριας κ. Μαριλένας Βλάχου, στην οποία θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες για την ανάθεση του ερευνητικού θέματος, την καθοδήγηση και τη συμπαράστασή της. Η συμβολή της υπήρξε καθοριστική και πολύτιμη καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης και συγγραφής της παρούσας εργασίας.

Ειλικρινείς και θερμές ευχαριστίες, θα ήθελα να εκφράσω στον Καθηγητή κ. Ανδρέα Τσοτίνη για την εξαιρετική βοήθεια του, την ηθική συμπαράσταση και τις εύστοχες υποδείξεις του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης και συγγραφής της παρούσας εργασίας.

Επίσης, θερμά ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Δεμέτσο, για τις πολύτιμες συμβουλές του και τη βοήθειά του σε όλη τη διάρκεια της παρούσας εργασίας.

Επιπροσθέτως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου για τη συμπαράσταση τους και την ενίσχυση τους, ψυχολογικά και οικονομικά, καθ' όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Πάρα πολλές ευχαριστίες στη Δρ. Αφροδίτη Εικοσιπεντάκη και την υποψήφια διδάκτορα Αγγελική Σιαμίδα για την πολύτιμη βοήθεια τους, τους μεταπτυχιακούς φοιτητές Δημήτριο Κουκουζέλη, Αλέξανδρο Κούρεντα, Σοφία Τράντζα, Στέλλα Φλιτούρη και Ανδριάννα Χριστοπούλου για την υπομονή και την φιλία τους καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης των εργαστηριακών πειραμάτων και συγγραφής της παρούσας εργασίας, καθώς και τη Χρύσα Μπάμπαλη για τη φιλία της και την ηθική συμπαράσταση της σε όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Τέλος, θα ήταν σοβαρή παράλειψη εάν δεν ευχαριστούσα τον Καθηγητή και Διευθυντή του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Παναγιώτη Μαχαίρα για τη συμβολή του στην ένταξή μου στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Ειδίκευσης «Βιομηχανική Φαρμακευτική».

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	2
1.1.	ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗ	2
1.2.	ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ	4
1.3.	ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ, ΕΚΚΡΙΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ	4
1.4.	ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ	5
1.5.	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ	7
1.5.1.	Διαταραχές ύπνου	7
1.5.2.	Σύνδρομο ταχείας αλλαγής ζώνης ώρας (jet lag)	9
1.5.3.	Αντιοξειδωτική δράση και προστασία του οργανισμού από τις ελεύθερες ρίζες	10
1.5.4.	Μελατονίνη και αντιγήρανση	11
1.5.5.	Αντικαρκινική δράση μελατονίνης	12
1.5.6.	Μελατονίνη και επίδραση στο καρδιαγγειακό	13
1.5.7.	Μελατονίνη και αναπαραγωγική λειτουργία στον άνθρωπο	14
1.5.8.	Μελατονίνη και νευρολογικές διαταραχές	15
2.	PER OS ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ	16
3.	ΔΙΣΚΙΑ	17
3.1.	Γενικά στοιχεία	17
3.2.	Ιδιότητες δισκίων	17
3.3.	Τύποι δισκίων	18
4.	ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ	18
4.1.	Γενικά	18
4.2.	Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης	20
4.2.1.	Πλεονεκτήματα	20
4.2.2.	Μειονεκτήματα	21
4.3.	Σύγκριση φαρμακοτεχνικών μορφών άμεσης και ελεγχόμενης αποδέσμευσης	22
4.4.	Κατηγοριοποίηση των συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης	24
4.4.1.	Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση ελέγχεται από τη διάχυση της δραστικής ουσίας διαμέσου του πολυμερούς (Diffusion-Controlled Devices)	26
4.4.1.1.	Συστήματα δεξαμενής (Reservoir systems)	27
4.4.1.2.	Συστήματα μήτρας (Matrix systems)	29
4.4.2.	Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διείσδυση του διαλύτη εντός του συστήματος (Solvent-Controlled Devices)	32
4.4.2.1.	Ωσμωτικά συστήματα	32
4.4.2.2.	Διογκούμενα συστήματα	33
4.4.3.	Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από χημική αντίδραση (Chemically-Controlled Devices)	34
4.4.3.1.	Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διάβρωση του πολυμερούς	34
4.4.3.2.	Συστήματα στα οποία η δραστική ουσία είναι χημικά συνδεδεμένη με το πολυμερές	36
4.5.	Μαθηματικά μοντέλα για την κινητική της αποδέσμευσης ενός φαρμάκου από σύστημα ελεγχόμενης αποδέσμευσης	37
4.5.1.	Εξίσωση Higuchi (Square Root Law)	37
4.5.2.	Η προσέγγιση Bamba	39
4.5.3.	Σχέση Peppas-Korsmeyer (Power Law)	40
5.	ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ	43
5.1.	Μικροκρυσταλλική κυτταρίνη (Avicel PH 102)	43
5.2.	Δεξτράνη (Dextran)	46
5.3.	Υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη (HPMC K15M, METHOCEL)	47
5.4.	Μονοϋδρική Λακτόζη (Lactose monohydrate)	50
5.5.	Στεατικό Μαγνήσιο (Magnesium Stearate)	51
5.6.	Πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP)	52
5.7.	Αλγινικό νάτριο (Sodium alginate)	53
6.	ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	56

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	58
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ	58
2.1. ΥΛΙΚΑ	58
2.2. ΟΡΓΑΝΑ-ΣΥΣΚΕΥΕΣ	58
3. ΜΕΘΟΔΟΙ	59
3.1. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ-ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	59
3.2. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΣΚΙΩΝ	61
3.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ ΑΠΟ ΤΑ ΔΙΣΚΙΑ	64
4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	65
5. ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΤΙΚΟΣ ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΩΝ ΣΥΝΤΑΓΩΝ	67

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

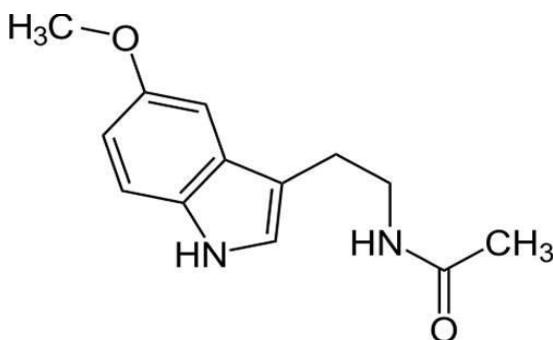
1. ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ ΑΠΟ ΔΙΣΚΙΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ	69
1.1. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 1 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 16% DEXTRAN ΚΑΙ 10% AVICEL PH 102	69
1.2. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 2 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 8% DEXTRAN, 8% HPMC K 15M ΚΑΙ 10% AVICEL PH 102	70
1.3. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 3 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 8% DEXTRAN, 8% LACTOSE MONOHYDRATE ΚΑΙ 10% AVICEL PH 102	72
1.4. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 4 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 16% LACTOSE MONOHYDRATE ΚΑΙ 10% AVICEL PH 102	73
1.5. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 5 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 8% LACTOSE MONOHYDRATE, 8% HPMC K 15M ΚΑΙ 10% AVICEL PH 102	75
1.6. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 6 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 26% LACTOSE MONOHYDRATE	76
1.7. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 7 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 26% PVP (M.W: 10.000)	79
1.8. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 8 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 26% PVP (M.W: 55.000)	80
1.9. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 9 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 13% PVP (M.W: 10.000) ΚΑΙ 13% LACTOSE MONOHYDRATE	82
1.10. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 10 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 13% PVP (M.W: 55.000) ΚΑΙ 13% LACTOSE MONOHYDRATE	83
2. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΣΥΝΤΑΓΩΝ ΣΤΑ ΔΥΟ ΜΕΣΑ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	86
2.1. Σύγκριση συνταγών 1, 2, και 3	86
2.2. Σύγκριση συνταγών 1 και 4	87
2.3. Σύγκριση συνταγών 2 και 3	90
2.4. Σύγκριση συνταγών 3 και 5	91
2.5. Σύγκριση συνταγών 4 και 6	92
2.6. Σύγκριση συνταγών 6 και 7	94
2.7. Σύγκριση συνταγών 6 και 8	97
2.8. Σύγκριση συνταγών 7 και 8	98
2.9. Σύγκριση συνταγών 6 και 9	100
2.10. Σύγκριση συνταγών 7 και 9	102
2.11. Σύγκριση συνταγών 8 και 10	104
2.12. Σύγκριση συνταγών 9 και 10	106
3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	109
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	111
ABSTRACT	112
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	113
ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	114
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ
ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗ

Η μελατονίνη (*N*-ακετυλο 5-μεθοξυθρυπταμίνη) είναι μια ορμόνη, η οποία απαντάται σε μικρόβια, φυτά και ζώα, αλλά και στον άνθρωπο. Στα θηλαστικά η μελατονίνη συντίθεται από το αμινοξύ θρυπτοφάνη μέσα στα παρεγχυματικά κύτταρα της επίφυσης του εγκεφάλου (εκεί που ο γάλλος φιλόσοφος Descartes ισχυρίστηκε ότι βρίσκεται η «έδρα της ψυχής») απ' όπου και εκκρίνεται στο αίμα με φωτοπεριοδικό τρόπο. Η ορμόνη απομονώθηκε το 1958 από τον Lerner στις ΗΠΑ. Η σύνθεση και η απελευθέρωση της ορμόνης διεγείρεται στο σκοτάδι και καταστέλλεται από το φως, γεγονός που δείχνει τη σχέση της μελατονίνης με τον κιρκαδιανό (ημερήσιο) ρυθμό, αλλά και με τη ρύθμιση διαφόρων λειτουργιών του ανθρώπινου οργανισμού.



Σχήμα 1.1: Χημική δομή μελατονίνης.

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για τις ιδιότητες και τις χρήσεις της μελατονίνης, διότι έχει χρησιμοποιηθεί ως θεραπευτικό μέσο σε ένα μεγάλο φάσμα ασθενειών κυρίως στις διαταραχές του ύπνου, τον έλεγχο του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων και στις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος, ενώ φαίνεται να παίζει ρόλο στη ρύθμιση της διάθεσης, τις διαταραχές του συναισθήματος, την αναπαραγωγή, το καρδιαγγειακό σύστημα και στη διαδικασία γήρανσης.

Πολλά, όμως, από τα χαρακτηριστικά της μελατονίνης τη διαφοροποιούν από τις κλασικές ορμόνες (Tan DX et al, 2003):

- Δεν συντίθεται μόνο στην επίφυση, αλλά και σε άλλα όργανα, όπως αμφιβληστροειδή χιτώνα, έντερο κ.ά.
- Δεν εκκρίνεται αποκλειστικά και μόνο στην κυκλοφορία, αλλά διαχέεται και στην τρίτη κοιλία του εγκεφάλου και μέσω αυτής της οδού δρα στο γειτονικό νευρικό ιστό, εμφανίζει δηλαδή και παρακρινή δράση.
- Σε αντίθεση με άλλες ορμόνες, δεν αποθηκεύεται στον αδένα παραγωγής της (επίφυση) και δεν υπάρχει αρνητική ή θετική ανάδραση (feedback) ακόμα και μετά από εξωγενή χορήγησή της, οδηγώντας σε περιορισμένη ενδογενή παραγωγή.
- Δρα με τρεις διακριτούς κυτταρικούς μηχανισμούς: μέσω υποδοχέων της, μεμβρανικών ή ενδοκυττάρων-πυρηνικών, αλλά και ως αποδέκτης ελευθέρων ριζών.

Η σύνθεση της μελατονίνης από την επίφυση ή αλλιώς κωνάριο δείχνει ένα σαφή κιρκαδιανό ρυθμό, ρυθμίζεται από την έκθεση στον κύκλο φως-σκοτάδι και είναι ανεξάρτητη από τον ύπνο. Σε όλα τα είδη, αυξάνεται κατά τη διάρκεια της νύχτας, ανεξάρτητα αν είναι νυκτόβια ή ημερόβια. Η σύνθεσή της αναστέλλεται από την έκθεση στο φως και διεγείρεται κατά τη διάρκεια της νύχτας με μια πολυσυναπτική οδό που συνδέει την επίφυση με το εξωτερικό περιβάλλον, μέσω του αμφιβληστροειδούς και του υπερχιασματικού πυρήνα του υποθαλάμου (Birdsall T.C., 1996). Η έκκριση μελατονίνης στον άνθρωπο αυξάνεται αμέσως μετά από την έναρξη του ύπνου, κορυφώνεται στο μέσον της (2–4 πμ.) και σταδιακά τα επίπεδά της μειώνονται στο δεύτερο μισό της νύκτας. Κατά τη διάρκεια της ημέρας, η παραγωγή της είναι πολύ χαμηλή, αν και με έναν αξιοσημείωτα σταθερό ρυθμό. Η συγκέντρωση της μελατονίνης τη νύκτα είναι 10–20 φορές υψηλότερη από τη συγκέντρωσή της την ημέρα (Reiter RJ., 2003). Επίσης, τα επίπεδα της είναι μεγαλύτερα κατά τους χειμερινούς μήνες από ότι τους καλοκαιρινούς, καθώς η έκκριση της ελέγχεται από τη φωτοπερίοδο, όπως και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως τη θερμοκρασία (Witt-Enderby PA et al, 2003: Simonneaux V. et al., 2003). Η έκκριση της μελατονίνης είναι μικρή κατά τη γέννηση και αυξάνεται σημαντικά μέχρι την ηλικία των 3-5 ετών. Από την ηλικία των 6 ετών και μετά τα νυχτερινά επίπεδα της μελατονίνης ελαττώνονται βαθμιαία. Τα επίπεδα μελατονίνης που εμφανίζονται στην ενήλικη ζωή εμφανίζονται κατά τη δεύτερη δεκαετία της ζωής, διατηρούνται μέχρι την τέταρτη δεκαετία και κατόπιν σταδιακά ελαττώνονται μέχρις ότου, στο γήρας, παρατηρούνται πολύ χαμηλά επίπεδα της ορμόνης.

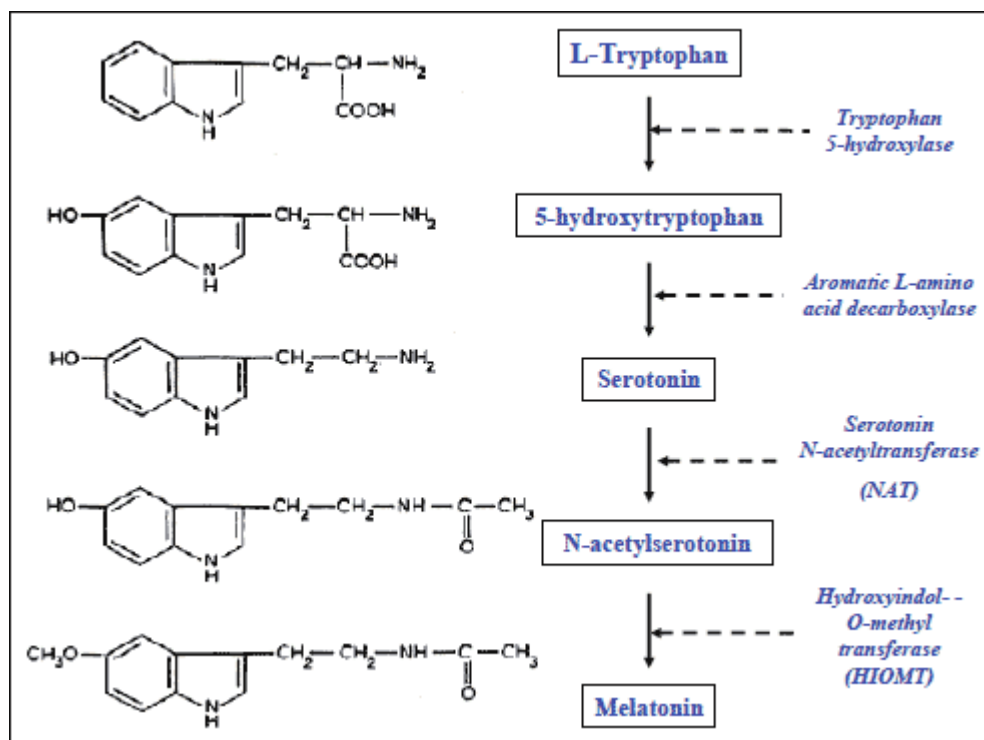
1.2. ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ

Η μελατονίνη είναι μια υποκίτρινη κρυσταλλική σκόνη με Μοριακό Βάρος 232,278 g/mol. Έχει συντακτικό τύπο $C_{13}H_{16}N_2O_2$ και το όνομα της κατά IUPAC είναι *N*-[2-(5-μεθοξυ-1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλ]ακεταμίδιο, έχει Σ.Τ. 116-120°C και είναι μια ένωση αμφίφιλη (O'Neil, 2001). Είναι μια ινδολαμίνη, με δύο πλευρικές αλυσίδες, μια 5-μεθοξυομάδα και μια 3-αλκυλαμιδομάδα. Οι λιπόφιλες ιδιότητές της οφείλονται στον ινδολικό της πυρήνα, ενώ οι υδρόφιλες ιδιότητες της οφείλονται στην 5-OCH₃ ομάδα και την ακεταμιδο αλυσίδα (Tan DX., 2002).

Έχει μικρή διαλυτότητα στο νερό, τα δε διαλύματα της είναι ευαίσθητα στο φως και την οξείδωση. Φαρμακοκινητικά, ο χρόνος ημιζωής της μελατονίνης είναι 36 ± 2 λεπτά για τους άντρες και 40 ± 10 λεπτά για τις γυναίκες (Fourtillan J.B. et al., 2000). Μεταβολίζεται στο ήπαρ, η δε βιοδιαθεσιμότητα της κυμαίνεται από 30-50%.

1.3. ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ, ΕΚΚΡΙΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ

Η μελατονίνη, όπως αναφέρθηκε εκκρίνεται από την επίφυση και σε μικρότερα ποσοστά από το γαστρεντερικό σωλήνα. Το ερέθισμα το οποίο προκαλεί την παραγωγή της είναι η απουσία φωτός στον αμφιβληστροειδή χιτώνα. Για το λόγο όπως ήδη αναφέρθηκε, η βιοσύνθεσή της όπως και η έκκριση της μελατονίνης γίνεται με τρόπο φωτοπεριοδικό με μεγαλύτερη αύξηση τις βραδινές ώρες και ιδιαίτερα τις ώρες του ύπνου. Η μελατονίνη προέρχεται από τη θρυπτοφάνη και προκύπτει ύστερα από διαδοχικά ενδιάμεσα βιοσυνθετικά βήματα και προϊόντα όπως 5-υδροξυθρυπτοφάνη, η σεροτονίνη και η *N*-ακετυλοσεροτονίνη (σχήμα 1.2). Η πυκνότητα της σεροτονίνης στην επίφυση είναι η μεγαλύτερη από οποιοδήποτε άλλο σημείο του εγκεφάλου ή άλλο όργανο και αντιστρόφως ανάλογη με τα επίπεδα της μελατονίνης μέσα στον αδένα (Bubenik G.A. et al., 2011).



Σχήμα 1.2: Βιοσύνθεση μελατονίνης στην επίφυση μέσω σεροτονίνης (Bubenik G.A. et al., 2011).

Η μελατονίνη μεταβολίζεται ταχέως από το ήπαρ, όπου μεθυλιώνεται, μετατρέπεται σε γλυκουρονικούς και θειϊκούς εστέρες και αποβάλλεται από τον οργανισμό. Σε ποσοστό 90% αποβάλλεται στα ούρα, κυρίως ως ο φαρμακολογικά αδρανής μεταβολίτης 6-SMT (6-σουλφατοξυμελατονίνη) (Taborsky R.G. et al., 1965; Wade Al. G. et al., 2010; Garfinkel D. et al., 1997). Ο χρόνος ημιζωής της ορμόνης είναι 40-50 λεπτά.

Το μεγαλύτερο μέρος της μελατονίνης στην κυκλοφορία του αίματος δεσμεύεται με τη λευκοματίνη, αλλά μπορεί επίσης να δεσμευτεί και με την αιμοσφαιρίνη.

1.4. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ

Στον άνθρωπο υποδοχείς της μελατονίνης έχουν ανιχνευθεί σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου (υπερχιασματικός πυρήνας του υποθαλάμου, περιοχή *pars tuberalis* της υπόφυσης, παρεγκεφαλίδα), στον αμφιβληστροειδή, στο έντερο, στις ωοθήκες, στους νεφρούς και στα αιμοφόρα αγγεία. Η μελατονίνη μπορεί να

ενεργοποιηθεί και ανεξάρτητα από τους υποδοχείς ή και μέσω των υποδοχέων και αυτήν την ικανότητα την οφείλει στο μικρό της μέγεθος και τη λιπόφιλη φύση της. Οι υποδοχείς της μελατονίνης μπορούν να ταξινομηθούν σε αυτούς που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη και στους πυρηνικούς υποδοχείς.

Υπάρχουν πολλοί υπότυποι υποδοχέων στους οποίους μπορεί να συνδεθεί και να ενεργοποιηθεί η μελατονίνη. Οι θέσεις σύνδεσής της στην κυτταρική μεμβράνη έχουν ταξινομηθεί σε δύο τάξεις, τους υποδοχείς ML1 (υψηλής συγγένειας) και στους ML2 (χαμηλής συγγένειας). Η μεγαλύτερη πυκνότητα των ML1 υποδοχέων βρίσκεται στον υπερχιασματικό πυρήνα του υποθαλάμου. Η πρώτη τάξη περιλαμβάνει δυο υποτύπους υποδοχέων, τους MT1 και MT2 που ανήκουν στην υπεροικογένεια των συνδεδεμένων με G-πρωτεΐνες υποδοχέων. Ο ρόλος των ML2 υποδοχέων (καλούνται και MT3) δεν είχε διευκρινιστεί μέχρι προσφάτως, αλλά εκτιμάται ότι αποτελούν μια μορφή αποτοξινωτικού ενζύμου που ανήκει στην οικογένεια της αναγωγής της κινόνης (Tsoinīs A. et al., 2006). Ωστόσο, η σημασία της δέσμευσης της μελατονίνης με αυτό το ένζυμο είναι προς το παρόν άγνωστη.

Οι τρεις υπότυποι, MT1, MT2 και MT3 έχουν διαφορετική αν και επικαλυπτόμενη μερικώς ιστική κατανομή. Οι υποδοχείς MT1 εντοπίζονται στη χοανική μοίρα της αδενοϋπόφυσης, στον υπερχιασματικό πυρήνα του υποθαλάμου, σε άλλες περιοχές του εγκεφάλου, στα αγγεία της καρδιάς, το ήπαρ και στους νεφρούς. Οι υποδοχείς MT2 βρίσκονται σε υψηλά επίπεδα στον αμφιβληστροειδή, την παρεγκεφαλίδα, τον υπερχιασματικό πυρήνα του υποθαλάμου, στους νεφρούς, σε πολλές σειρές καρκινικών κυττάρων, καθώς και στα καρδιακά αγγεία και εμπλέκονται σε αντιφλεγμονώδεις αποκρίσεις της μικροκυκλοφορίας. Τέλος, οι υποδοχείς MT3 συναντώνται στον εγκέφαλο, τους νεφρούς, το λιπώδη ιστό, τους σκελετικούς μύες, τους πνεύμονες, το έντερο, τους όρχεις και το σπλήνα (Witt-Enderby PA et al, 2003).

Η μελατονίνη ασκεί τις βιολογικές της δράσεις και μέσω των πυρηνικών υποδοχέων που ανήκουν στην RZR/ROR οικογένεια υποδοχέων και κατατάσσονται σε τρεις υποτύπους ROR_{α} , RZR_{β} , ROR_{γ} . Οι υποδοχείς ROR_{α} εκφράζονται σχεδόν σε όλους τους ιστούς, οι υποδοχείς ROR_{β} μόνο στον εγκέφαλο ενώ οι υποδοχείς ROR_{γ} κυρίως στους σκελετικούς μύες, αλλά και στο ήπαρ, τους όρχεις και στην καρδιά (Naji L, Carrillo-Vico A et al., 2004; Smirnov A. N., 2001). Οι πυρηνικοί υποδοχείς είναι μεταγραφικοί ενεργοποιητές, δηλαδή όταν προσδεθεί η μελατονίνη, διεγείρεται η μεταγραφική δραστηριότητα γονιδίων, τα οποία φέρουν στοιχεία DNA ειδικά για

τον υποδοχέα, λόγω χάρη γονιδίων που παίζουν ρόλο στο να μη λαμβάνει χώρα πολλαπλασιασμός των κυττάρων (Becker-Andre M. et al., 1994; Wiesenberg Ir. et al., 1995).

1.5. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ

1.5.1. Διαταραχές ύπνου

Οι διαταραχές του ύπνου είναι εξαιρετικά κοινό πρόβλημα. Η έλλειψη ύπνου προκαλεί διάφορα προβλήματα, όπως αύξηση του καταβολικού ρυθμού, μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, καθώς και διάφορα ψυχολογικά προβλήματα, όπως σύγχυση, ντελίριο, αδυναμία συγκέντρωσης ακόμα και ψύχωση. Η μελατονίνη είναι ένας σημαντικός φυσιολογικός ρυθμιστής του ύπνου (Shilo L. et al., 2000).

Ο κίρκαδιανός ρυθμός της σύνθεσης και της έκκρισης της μελατονίνης σχετίζεται στενά με το ρυθμό του ύπνου, τόσο σε άτομα χωρίς ή και με προβλήματα όρασης. Η απότομη αύξηση της επιθυμίας για ύπνο τη νύχτα συνήθως παρατηρείται δύο ώρες μετά την έναρξη της ενδογενούς παραγωγής μελατονίνης. Με την ηλικία το κίρκαδιανό σύστημα επιδεινώνεται και η παραγωγή της μελατονίνης το βράδυ μειώνεται. Παράλληλα, ο επιπολασμός των διαταραχών του ύπνου αυξάνει (Guardiola-Lemaître B. et al. 2011). Επιπλέον, οι αλλαγές στα πρότυπα ύπνου που σχετίζονται με την ηλικία, οι διαταραχές στην αναπνοή κατά τη διάρκεια του ύπνου, η πιθανή ύπαρξη ψυχολογικών και παθολογικών διαταραχών, όπως η πρωτοπαθής εκφύλιση του αυτόνομου νευρικού συστήματος, η νόσος του Alzheimer, κάποιοι τύποι νεοπλασιών, καθώς και οι παρενέργειες των φαρμάκων (συμπεριλαμβανομένων των β-αποκλειστών, της κλονιδίνης, της ναλοξόνης, και των ΜΣΑΦ) που λαμβάνονται σε μεγαλύτερες ηλικίες συνεργούν την συνολική αύξηση του επιπολασμού της αϋπνίας (Zisapel N., 2000). Χαμηλότερη παραγωγή μελατονίνης παρατηρήθηκε σε ασθενείς ηλικίας 55 ετών και άνω, οι οποίοι υπέφεραν από κακής ποιότητας ύπνο. Σε καταστάσεις όπου η ενδογενής έκκριση της μελατονίνης είναι ελαττωμένη, όπως η προχωρημένη ηλικία ή όταν ο φυσιολογικός νυχθημερήσιος κύκλος έκκρισης της μελατονίνης είναι διαταραγμένος, όπως η δουλειά σε βάρδιες ή σε άτομα με προβλήματα όρασης, η εξωγενής χορήγηση μελατονίνης μπορεί να

αναπληρώσει την ανεπάρκεια της ενδογενούς ρυθμιστικής ορμόνης του ύπνου βελτιώνοντας με τον τρόπο αυτό τόσο την ποιότητα όσο και τη διάρκεια του ύπνου.

Σε ασθενείς με αϋπνία, η μελατονίνη φαίνεται να επάγει την έλευση φυσιολογικού ύπνου ακόμα και της REM (rapid eye movement) περιόδου σε αντίθεση με τα υπνωτικά και ναρκωτικά χάπια, τα οποία έχουν σημαντικές παρενέργειες όπως λόγου χάρη η έλλειψη REM περιόδου. Η υπνωτική δράση της μελατονίνης φαίνεται να είναι ήπια (Shilo L. et al., 2000).

Έχει παρατηρηθεί ότι οι ηρεμιστικές και οι υπνωτικές δράσεις της μελατονίνης εξαρτώνται άμεσα από την ώρα της ημέρας που γίνεται η χορήγηση στον οργανισμό, καθώς και από το στάδιο που βρίσκονται οι κιρκαδιανοί ρυθμοί. Έτσι, αν δοθεί εξωγενώς νωρίς το απόγευμα πριν την ενδογενή έκκριση προάγει το κιρκαδιανό σύστημα με αποτέλεσμα τόσο η έλευση του ύπνου, αλλά και η αφύπνιση να γίνεται νωρίτερα. Το ίδιο υπνωτικό αποτέλεσμα, παρατηρείται αν η μελατονίνη δοθεί εξωγενώς, κατά τη διάρκεια της μέρας, που δεν λαμβάνει χώρα υπό φυσιολογικές συνθήκες ενδογενής έκκριση, καθώς η χορήγηση της μιμείται τις θερμοφυσιολογικές ενδογενείς διαδικασίες που συμβαίνουν στον οργανισμό το βράδυ (Guardiola-Lemaître B. et al. 2011; MacFarlane J.G. et al., 1991). Γενικώς αποδεκτό είναι και ότι, όταν τα επίπεδα της μελατονίνης στον οργανισμό είναι υψηλά, λόγω της ενδογενούς έκκρισης της, τότε η εξωγενώς χορηγούμενη μελατονίνη δεν εμφανίζει επιπρόσθετη υπνωτική δράση, διότι οι υποδοχείς της είναι ήδη κορεσμένοι με την ενδογενή ορμόνη, αν και αυτό δεν έχει αποδειχτεί πειραματικά.

Θετικά αποτελέσματα έχουν παρατηρηθεί με τη χορήγηση μελατονίνης σε διάφορες μορφές αϋπνίας. Στους δύο πιο βασικούς τύπους του CRSD (Circadian Rhythm Sleep Disorder) περιλαμβάνεται το ASPS (Advanced Sleep Phase Syndrome) και το DSPS (Delayed Sleep Phase Syndrome). Το πρώτο σύνδρομο εμφανίζεται πιο συχνά στους ηλικιωμένους στους οποίους ο ύπνος επάγεται νωρίς και η αφύπνιση παρατηρείται στις 3 το πρωί ή και νωρίτερα. Η χορήγηση μελατονίνης έχει καλύτερα αποτελέσματα σε ηλικιωμένους (μέσης ηλικίας 76 χρονών) παρά σε πιο νέους, οι οποίοι πάσχουν από αυτό το σύνδρομο. Το δεύτερο σύνδρομο αναφέρεται σε ασυνήθη δυσκολία ύπνου και αφύπνισης και πρωινής εγρήγορσης και παρατηρείται σε νεότερους ανθρώπους (Guardiola-Lemaître B. et al. 2011).

Γενικότερα, η χορήγηση μελατονίνης μπορεί να οδηγήσει σε βελτίωση τόσο της ποιότητας όσο της διάρκειας του ύπνου στα άτομα που πάσχουν από αϋπνία. Η παρούσα εργασία πραγματεύεται τη χορήγηση μελατονίνης σε φαρμακοτεχνική

μορφή ελεγχόμενης αποδέσμευσης, καθώς αυτού του τύπου η μορφή, βιβλιογραφικά, παρουσιάζει θετικά αποτελέσματα. Η ανάγκη χορήγησης της ουσίας μέσω σκευασμάτων αυτού του τύπου οφείλεται στο μικρό χρόνο ημιζωής της ουσίας και στην ελαττωμένη βιοδιαθεσιμότητά της.

1.5.2. Σύνδρομο ταχείας αλλαγής ζώνης ώρας (jet lag)

Χαρακτηριστικό των συνδρόμων αυτών είναι η μόνιμη ή η επαναλαμβανόμενη διαταραχή ύπνου, η οποία οδηγεί σε υπερβολική αϋπνία και οφείλεται στην έλλειψη συγχρονισμού μεταξύ του ενδογενούς κιρκαδιανού ρυθμού του ατόμου με τον κύκλο ημέρας-νύχτας στον τόπο προορισμού. Το jet lag πραγματοποιείται συχνά σε ταξιδιώτες που πραγματοποιούν μεγάλα διηπειρωτικά αεροπορικά ταξίδια και διασχίζουν αρκετές ζώνες χρόνου. Τα πιο συνηθισμένα συμπτώματα, που έχουν αναφερθεί, είναι προβλήματα διαταραχής ύπνου, κούραση, εγρήγορση, γαστρεντερικά προβλήματα, απώλεια όρεξης και δυσκοιλιότητα. Ειδικά όσον αφορά στο σύνδρομο ταχείας αλλαγής ζώνης ώρας (jet lag), η μελατονίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την πρόληψη και θεραπεία του, καθώς μειώνει τον αριθμό των ημερών που απαιτούνται για να καθοριστεί το φυσιολογικό μοτίβο ύπνου και ελαττώνει το χρόνο που χρειάζεται για την έλευση ύπνου. Η χορήγηση πρέπει να πραγματοποιείται την ημέρα του ταξιδιού (κοντά στην ώρα κατάκλισης του προορισμού) και να συνεχίζεται και μετά το ταξίδι. Βρέθηκε ότι η μελατονίνη ελαττώνει το jet lag από πτήσεις που διασχίζουν 5 ή περισσότερες ζώνες χρόνου. Ακόμα και άνθρωποι με περιορισμένη όραση ανταποκρίνονται σε αυτή τη δράση της μελατονίνης. Η ωφέλεια φαίνεται να είναι μεγαλύτερη όταν ο προορισμός είναι ανατολικός και όταν διασχίζονται 4 ή περισσότερες ζώνες χρόνου και μικρότερη για πτήσεις προς τη δύση. Ο χρόνος χορήγησης φαίνεται να είναι σημαντικός γιατί αν ληφθεί νωρίς κατά τη διάρκεια της ημέρας προκαλεί υπνηλία και καθυστερεί την προσαρμογή στην τοπική ώρα. Οι ημερήσιες δόσεις της μελατονίνης μεταξύ 0,5 με 5 mg είναι εξίσου αποτελεσματικές, αλλά οι ευεργετικές της δράσεις καθίστανται πιο σημαντικές σε μεγαλύτερες δόσεις. Μελέτες καταλήγουν ότι 2-5 mg μελατονίνης που λαμβάνονται πριν τον ύπνο μετά την άφιξη στη χώρα προορισμού αποτελούν ιδιαίτερα αποτελεσματικές δόσεις και αξίζει να επαναληφθούν και τις επόμενες δύο με τέσσερις μέρες. Παρ' όλα αυτά άνθρωποι που δεν εμφάνισαν jet lag σε

προηγούμενα ταξίδια μπορεί να μη χρειαστούν ποτέ εξωγενή χορήγηση μελατονίνης (Herxheimer A et al., 2002; Herxheimer A et al., 2003; Edwards BJ et al. 2000; Brown G.M. et al., 2009).

1.5.3. Αντιοξειδωτική δράση και προστασία του οργανισμού από τις ελεύθερες ρίζες

Οι ελεύθερες ρίζες είναι χημικές ουσίες που φέρουν ένα ή περισσότερα ελεύθερα ηλεκτρόνια. Εξαιτίας αυτών των ελεύθερων ηλεκτρονίων, καθίστανται βλαπτικές για τα κύτταρα. Ο οργανισμός μας τις εξουδετερώνει προτού προλάβουν να προκαλέσουν ουσιαστικές βλάβες στο DNA και σε άλλες ζωτικής σημασίας δομές των κυττάρων. Ωστόσο, όταν οι ελεύθερες ρίζες αυξάνονται υπερβολικά, οι δυνατότητες εξουδετέρωσής τους δεν αρκούν για να καταστείλουν τις επικίνδυνες δράσεις τους.

Το οξειδωτικό stress προκαλείται από την αύξηση των ελευθέρων ριζών. Ο αριθμός των μελετών που αποδεικνύουν το ρόλο του οξειδωτικού stress στην παθογένεια πληθώρας μεταβολικών νοσημάτων, ολοένα και αυξάνεται στις μέρες μας. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει την υπεροξείδωση λιπιδίων, την οξείδωση πρωτεϊνών και την καταστροφή του DNA, οδηγώντας σε δομικές αλλαγές στα κύτταρα.

Εδώ και αρκετά χρόνια η δράση των ελευθέρων ριζών έχει σχετιστεί με αρκετές ασθένειες, όπως η νόσος του Parkinson, η νόσος του Alzheimer, ο διαβήτης, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, το σύνδρομο χρόνιας κούρασης και άλλες (Tomás-Zapico C. et al., 2007).

Η μελατονίνη είναι πολύ ισχυρός δέκτης των ελευθέρων ριζών και γενικός αντιοξειδωτικός παράγοντας [καλύτερος και από τη βιταμίνη E και C (Jung B. et al., 2006)]. Εμφανίζει αμφίφιλες ιδιότητες, καθώς είναι αφενός ένωση με λιπόφιλο χαρακτήρα και αφετέρου υδρόφιλη και, λόγω αυτών των φυσικοχημικών ιδιοτήτων της, διαπερνά με ευκολία όλους τους βιολογικούς φραγμούς και εύκολα εισέρχεται μέσα στα κύτταρα. Έχει μεγάλη βιοδιαθεσιμότητα, όχι μόνο στους ιστούς και τα κύτταρα, αλλά και σε ενδοκυτταρικά διαμερίσματα. Ως αντιοξειδωτικός παράγοντας, η μελατονίνη δεσμεύει ισχυρά την πολύ δραστική και τοξική ρίζα του υδροξυλίου ($\text{OH}^\bullet$), έναντι της οποίας εμφανίζει κάποια εκλεκτικότητα, καθώς και τη ρίζα του

υπεροξειδίου. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες της μελατονίνης έχουν αποδειχθεί τόσο σε ομογενοποιημένους ιστούς όσο και σε ζωντανούς οργανισμούς. Η καταστροφή του DNA ανθρώπινων λεμφοκυττάρων, ως αποτέλεσμα έκθεσης σε ιοντίζουσα ακτινοβολία, που συντελεί στην απελευθέρωση ελευθέρων ριζών, ελαττώνεται πολύ εάν τα κύτταρα έχουν εκτεθεί σε μελατονίνη πριν από την έκθεσή τους στην ακτινοβολία (Reiter RJ., 1995; Bonnefont-Rousselot D. et al., 2010). Η αντιοξειδωτική δράση της μελατονίνης επιτελείται και μέσω των μεταβολιτών της. Η ιδιότητα της μελατονίνης να δρα ως αντιοξειδωτικός παράγοντας και μέσω των μεταβολιτών της, την καθιστά ιδιαίτερα αποτελεσματική, ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, στην προστασία των οργανισμών από το οξειδωτικό stress (Tan DX. et al., 2007).

Οι κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες προστατεύονται από την καταστροφή τους από τις ελεύθερες ρίζες, παρουσία της μελατονίνης. Η υπεροξείδωση των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης, που επάγεται *in vitro* ή *in vivo* με διάφορους τρόπους, που όλοι τους συμπεριλαμβάνουν τη δημιουργία ελευθέρων ριζών, ελαττώνεται δραστικά από την παρουσία μελατονίνης. Οι δράσεις αυτές της μελατονίνης είναι ενδοκυτταρικές. Άλλες είναι ανεξάρτητες από τη σύνδεση με τον υποδοχέα της μελατονίνης και άλλες επιτυγχάνονται μέσω σύνδεσης με πυρηνικούς υποδοχείς (Reiter RJ., 1995).

1.5.4. Μελατονίνη και αντιγήρανση

Η μείωση των νυχτερινών επιπέδων της ενδογενούς μελατονίνης, που επέρχεται με την ηλικία, οδήγησε πολλούς ερευνητές στην αναζήτηση του ρόλου της ορμόνης στη διαδικασία γήρανσης και τη σχετιζόμενη με αυτή ασθένειες. Σχετικά πειράματα σε εργαστήρια έδειξαν ότι τα πειραματόζωα με διαταραγμένο ρυθμό παραγωγής μελατονίνης ζουν κατά 20% λιγότερο, ενώ σε διάφορα είδη παρατηρήθηκε ότι με τη χορήγηση μελατονίνης παρατείνεται η ζωή τους κατά 25% (Reiter RJ. et al., 2008). Η παράταση αυτή οφείλεται στην καταστροφή των ελευθέρων ριζών, που όντας οξειδωτικές ουσίες που παράγονται και συσσωρεύονται με τα χρόνια, πλήττουν τα κύτταρα, τις πρωτεΐνες, αλλά και το γενετικό υλικό, επισπεύδοντας έτσι τη γήρανση. Ανάλογη θετική δράση κατά των ελευθέρων ριζών έχουν και οι βιταμίνες, αλλά σε μικρότερο βαθμό απ' ότι η μελατονίνη (Rodella LF. et al., 2011). Επιπροσθέτως, η

μελατονίνη και οι μεταβολίτες της δρουν συνεργικά και με άλλα αντιοξειδωτικά προφυλάσσοντας από το οξειδωτικό stress (Tan DX. et al., 2007). Αυτός ο συνδυασμός των δράσεών της, καθιστά την μελατονίνη ιδανική για την καταπολέμηση ασθενειών σχετιζόμενων με τη γήρανση (Reiter RJ. et al., 2008).

Παρόλα αυτά δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί πλήρως η δράση της σ' ότι αφορά τη μάχη κατά του γήρατος, γι' αυτό και δεν αποτελεί ακόμα ένα αποδεκτό μέσο αντιγήρανσης. Βέβαια, πολλές από τις δράσεις της είναι δεδομένο ότι μπορούν να βοηθήσουν στα προβλήματα που επέρχονται με τη γήρανση και σε συνδυασμό με τη χαμηλή της τοξικότητα και την απουσία παρενεργειών, η χορήγησή της στους ηλικιωμένους, ενδεχομένως να έχει πολύ ευεργετική δράση και πρέπει να μελετηθεί εκτεταμένα. Σίγουρα, όμως, στο μέλλον θα μπορέσει να αξιοποιηθεί είτε από μόνη της είτε σε συνδυασμό με άλλες αγωγές «νεότητας».

1.5.5. Αντικαρκινική δράση μελατονίνης

Σε καλλιέργειες καρκινικών κυττάρων, *in vivo* και *in vitro* βρέθηκε ότι η μελατονίνη αναστέλλει την ανάπτυξή τους (Jung B. et al., 2006). Ο μηχανισμός με τον οποίο η μελατονίνη μειώνει την ανάπτυξη των όγκων παραμένει άγνωστος. Κάποιες από τις πιθανές εξηγήσεις βασίζονται στις αλλαγές συγκεντρώσεων που προκαλεί η μελατονίνη σε άλλες ορμόνες της υπόφυσης που ελέγχουν την ανάπτυξη όγκων. Οι αντιοξειδωτικές ιδιότητες της ενδογενούς μελατονίνης συμβάλλουν στην αντικαρκινική της δράση, δεδομένου ότι οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκαλέσουν μεταλλάξεις στο DNA των κυττάρων με ενδεχόμενη μετατροπή τους σε καρκινικά (Cos S. et al, 1995). Η μελατονίνη έχει και ανοσοενισχυτική δράση, βοηθώντας τα κύτταρα “φονιάδες”, τα φαγοκύτταρα, τα T και B λεμφοκύτταρα, στη δράση τους εναντίον ιών και καρκινικών κυττάρων (Jung B. et al., 2006).

Από πολλές μελέτες έχει φανεί ότι η μελατονίνη αναστέλλει την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων του μαστού, του τραχήλου της μήτρας και του καρκίνου ωοθηκών. Η μελατονίνη αποτελεί ένα νέο μέλος της ομάδας των ρυθμιστικών παραγόντων που ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό και το θάνατο των κυττάρων και είναι ο μόνος γνωστός χρονοβιοτικός, ορμονικός ρυθμιστής της ανάπτυξης των νεοπλασματικών κυττάρων (Blask DE et al., 2002).

Η μελατονίνη έχει χορηγηθεί παράλληλα με άλλους θεραπευτικούς παράγοντες για την αντιμετώπιση μορφών μεταστατικού καρκίνου. Από διάφορες μελέτες έχει προκύψει ότι η αντικαρκινική δράση της ιντερλευκίνης-2 μπορεί να περιορίζεται στον καρκίνο του νεφρού και στο μελάνωμα (Lissonil P. et al., 1994). Πρόσφατες έρευνες έχουν προβάλλει την άποψη ότι μπορεί να μεταβληθεί η βιολογική απάντηση του οργανισμού, φορέα του όγκου της ιντερλευκίνης-2, με τη χορήγηση ανοσοτροποποιητικών παραγόντων, όπως η μελατονίνη. Η παράλληλη χορήγηση μελατονίνης με την ιντερλευκίνη-2 σε ασθενείς με απομακρυσμένες από την αρχική εστία μεταστάσεις με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, καρκίνο του εντέρου, του στομάχου, του παγκρέατος και καρκίνο του μαστού, συμβάλλει στην αντικειμενική υποχώρηση του καρκίνου και στη σταθερότητα της νόσου. Η μελατονίνη, όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με την ιντερλευκίνη-2 στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου, συμβάλλει στην πρόληψη της θρομβοπενίας που αποτελεί συχνή επιπλοκή της θεραπείας με ιντερλευκίνη-2 (Lissoni P. et al,1992).

Πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι οι γυναίκες που εργάζονται αποκλειστικά το βράδυ, για μεγάλο χρονικό διάστημα, έχουν πιο αυξημένο κίνδυνο να αποκτήσουν καρκίνο του μαστού. Παρόλα αυτά, πολλές μελέτες πρέπει ακόμα να γίνουν για να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματα που εμφανίζουν την μελατονίνη να δρα εναντίον όλων αυτών των τύπων καρκίνων. Πρέπει να ερευνηθούν διαφορετικοί τύποι καρκίνου, τρόποι, χρόνοι και δόσεις χορήγησής της, καθώς και συνδυαστικοί μηχανισμοί με άλλους αντικαρκινικούς παράγοντες (Jung B. et al.,2006).

1.5.6. Μελατονίνη και επίδραση στο καρδιαγγειακό

Η παρουσία καρδιακών και αγγειακών μελατονινεργικών υποδοχέων είναι αποδεδειγμένη. Είναι, επίσης, γνωστό ότι οι ασθενείς με στεφανιαία νόσο παρουσιάζουν μειωμένο ρυθμό παραγωγής μελατονίνης και ιδίως αυτοί που έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιακού εμφράγματος και/ή αιφνίδιου θανάτου. Επιπροσθέτως, διάφορες παθολογικές συγκεντρώσεις μελατονίνης βρέθηκαν σε ανθρώπους που πάσχουν από υπέρταση, ισχαιμία και ανθρώπους με μυοκαρδιακά προβλήματα.

Χειρουργική αφαίρεση της επίφυσης με άμεσο αποτέλεσμα τη μειωμένη παραγωγή μελατονίνης οδήγησε σε αρρυθμίες και υπέρταση σε ενήλικους ποντικούς. Επιπλέον, συνεχής έκθεση πειραματόζωων στο φως (24 ώρες τη μέρα), που εμπόδιζε τη νυχτερινή αύξηση των επιπέδων μελατονίνης στο αίμα, επίσης οδήγησε σε μείωση του κιρκαδιανού καρδιακού ρυθμού, καθώς και μεταβλητότητα στην πίεση του αίματος.

Αξίζει να σημειωθεί ότι ο υπερτασικός πληθυσμός εμφανίζει χαμηλότερα επίπεδα της ορμόνης σε σχέση με νορμοτασικούς. Αρκετές μελέτες αναφέρονται σε ασθενείς, στους οποίους η χορήγηση μελατονίνης, προκάλεσε μείωση της διαστολικής και συστολικής πίεσης (Paulis L. et al., 2007).

1.5.7. Μελατονίνη και αναπαραγωγική λειτουργία στον άνθρωπο

Σε ορισμένα ζώα, που χαρακτηρίζονται από εποχιακή αναπαραγωγή, η μελατονίνη φαίνεται ότι είναι ο κυριότερος παράγοντας που ρυθμίζει την εποχή της αναπαραγωγής (Reiter R.J. et al., 2009). Έτσι, hamsters, που εκτίθενται σε μικρής διάρκειας ημέρες, παρουσιάζουν ατροφία γεννητικών οργάνων. Έχει αποδειχθεί ότι αυτό οφείλεται στην αυξημένη έκκριση μελατονίνης, αφού δεν παρατηρείται σε επιφυσιεκτομηθέντα πειραματόζωα και μπορεί να επαχθεί με τη χορήγηση μελατονίνης (Hoffman K., 1979; Carter D.S. et al., 1983).

Η σχέση της μελατονίνης με την αναπαραγωγική λειτουργία στον άνθρωπο δεν είναι γνωστή. Έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα μελατονίνης σε γυναίκες με ανωορρηξία, σε αθλήτριες με υποθαλαμική αμηνόρροια και σε άνδρες με υπογοναδισμό. Η χορήγηση μεγάλης δόσης μελατονίνης σε γυναίκες μπορεί να καταστείλει την ωορρηξία. Η μελατονίνη αυξάνει τα επίπεδα της ωχρινότροπου ορμόνης και την απάντηση της θυλακιοτρόπου και της ωχρινότροπου στην GnRH (gonadotropin-releasing hormone) μόνο κατά την ωοθηλακική φάση του κύκλου. Η νυχτερινή έκκριση της μελατονίνης είναι αυξημένη στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που λαμβάνουν αντισυλληπτικά δισκία (Kostoglou-Athanassiou I. et al., 1998; Kennaway D.J., 2005).

Τέλος, η μελατονίνη είναι πιθανό να παίζει κάποιο ρόλο στη ρύθμιση της ήβης και ίσως η έναρξη της εφηβείας στον άνθρωπο να έχει σχέση με την μείωση των επιπέδων της ορμόνης, καθώς αυτός ενηλικιώνεται (Kennaway D.J., 2005).

1.5.8. Μελατονίνη και νευρολογικές διαταραχές

Η σύνθεση και η έκκριση της μελατονίνης εξαρτώνται κυρίως από τα επίπεδα σεροτονίνης και το νοραδρενεργικό σύστημα, αντιστοίχως. Τα χαρακτηριστικά αυτά καθιστούν τη μελατονίνη χρήσιμο δείκτη, τόσο του ενδογενούς βιορυθμού του οργανισμού, όσο και της λειτουργικής κατάστασης του σεροτονινεργικού και νοραδρενεργικού συστήματος που συχνά διαταράσσονται από διάφορες ψυχικές παθήσεις. Μεταβολές των επιπέδων και του ρυθμού της μελατονίνης έχουν αναφερθεί σε πολλές περιπτώσεις, αλλά κατά κύριο λόγο στην περίπτωση των συναισθηματικών διαταραχών και των διαταραχών του ημερήσιου ρυθμού ύπνου-εγρήγορσης, όπου έχουν πραγματοποιηθεί και οι πλέον εκτεταμένες μελέτες (Παπαρηγόπουλος Θ., Κοντοάγγελος Κ., 2003). Ειδικότερα, η ελάττωση των επιπέδων της μελατονίνης που επέρχεται με την ηλικία, συνδέεται με την εμφάνιση νευρολογικών διαταραχών, όπως είναι η νόσος του Parkinson, η νόσος Alzheimer, η νόσος Huntington και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (Srinivasan V. et al., 2006). Οι παρατηρούμενες αποκλίσεις από το φυσιολογικό δεν είναι δυνατόν προς το παρόν να συσχετισθούν αιτιολογικά με συγκεκριμένες ψυχικές διαταραχές και πιθανόν να αποτελούν επιφανόμενο της υποκείμενης παθοφυσιολογικής δυσλειτουργίας. Παρόλο αυτά, οποιαδήποτε αλλαγή στο ρυθμό έκκρισης της μελατονίνης έχει συνδεθεί με διάφορες ψυχιατρικές διαταραχές, όπως τη διπολική διαταραχή, την άπολη διαταραχή, την κατάθλιψη, την ανορεξία, τη βουλιμία, τη σχιζοφρένεια και διάφορες άλλες (Pacchierotti C., 2001).

Εντούτοις, η περαιτέρω διερεύνηση της εμπλοκής της μελατονίνης σε διάφορες ψυχοπαθολογικές καταστάσεις μπορεί να υποβοηθήσει στη διευκρίνιση των βιολογικών μηχανισμών τους και σε ορισμένες από αυτές να χρησιμεύσει στη θεραπευτική αντιμετώπισή τους (Παπαρηγόπουλος Θ., Κοντοάγγελος Κ., 2003; Maldonado M.D. et al, 2009).

2. *PER OS* ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

Η *per os* λήψη φαρμακευτικών ουσιών αποτελεί τη συνηθέστερη οδό χορήγησης και στην πλειονότητα των περιπτώσεων αποτελεί την οδό επιλογής.

Τα βασικά πλεονεκτήματα που παρουσιάζει η από του στόματος χορήγηση φαρμάκων είναι:

1. η ευκολία χορήγησης
2. η αυξημένη αποδοχή και ανοχή των ασθενών συγκριτικά με τις εναλλακτικές οδούς
3. η διασφάλιση δόσεων μεγάλης ακριβείας με αποτέλεσμα να αποφεύγονται φαινόμενα δυσανεξίας και ο κίνδυνος τοξικότητας που μπορεί να προκληθεί από τις υψηλές συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο πλάσμα που παρουσιάζονται με τα παρεντερικά προϊόντα
4. το χαμηλό κόστος παρασκευής και ανάπτυξης νέων *per os* φαρμακοτεχνικών μορφών

Το σημαντικότερο μειονέκτημα που εμφανίζει η *per os* χορήγηση είναι η μειωμένη και μεταβαλλόμενη βιοδιαθεσιμότητα σε σχέση με την παρεντερική οδό. Η βιοδιαθεσιμότητα κατά τη χορήγηση από το στόμα μπορεί να είναι μειωμένη λόγω ατελούς αποδέσμευσης της ουσίας από τη φαρμακοτεχνική μορφή, όχι πλήρους διάλυσης του φαρμάκου στα γαστρεντερικά υγρά, μειωμένης διαπέρασης του γαστρεντερικού επιθηλίου από τη φαρμακευτική ουσία, μεταβολισμό της ουσίας από ένζυμα του γαστρεντερικού σωλήνα και κατά την πρώτη δίοδο από το ήπαρ, καταστροφή της από το όξινο pH του στομάχου, κ.α. Επίσης, άλλα πιθανά προβλήματα αποτελούν η αλληλεπίδραση του φαρμάκου με την τροφή, καθώς και ο πιθανός ερεθισμός του γαστρικού επιθηλίου από ορισμένες ουσίες. Τέλος, σημαντικό τμήμα του πληθυσμού παρουσιάζει πρόβλημα κατάποσης των *per os* στερεών Φ/Μ.

Οι *per os* χορηγούμενες φαρμακοτεχνικές μορφές διακρίνονται σε υγρές, όπως είναι τα σιρόπια και τα εναιωρήματα και σε στερεές, με κλασικότερα παραδείγματα τα δισκία και τις κάψουλες.

Στην παρούσα μελέτη το είδος της φαρμακοτεχνικής μορφής (Φ/Μ) που χρησιμοποιήθηκε είναι δισκία και η κατηγορία στην οποία ανήκουν, με βάση το ρυθμό αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας από αυτά, είναι «συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης».

3. ΔΙΣΚΙΑ

3.1. Γενικά στοιχεία

Όλες οι στερεές φαρμακοτεχνικές μορφές και ειδικότερα τα δισκία, που είναι οι δημοφιλέστερες μορφές, χρησιμοποιούνται για τη χορήγηση φαρμακευτικών ουσιών. Παρασκευάζονται συνήθως με συμπίεση και περιέχουν στις περισσότερες των περιπτώσεων, εκτός από τη δραστική ουσία και άλλες ουσίες (έκδοχα) απαραίτητες για την παρασκευή τους, την αποσάθρωσή τους, τη διαλυτοποίησή τους και την καλή τους εμφάνιση. Η προτίμηση για τα δισκία οφείλεται κατά κύριο λόγο στα πλεονεκτήματα που παρουσιάζουν, όπως στο ότι παρασκευάζονται εύκολα και οικονομικά. Επιπλέον, έχουν μικρό όγκο που κάνει εύκολη τη μεταφορά τους και είναι ευκολόχρηστα από καταναλωτές εξασφαλίζοντας ακρίβεια της δόσεως, και εύκολη χορήγηση. Επιπροσθέτως, εμφανίζουν πολύ μεγάλη φυσική και χημική σταθερότητα.

Τα δισκία διακρίνονται σε απλά επικαλυμμένα και παρατεταμένης αποδέσμευσης. Η παρασκευή των δισκίων περιλαμβάνει αρκετά στάδια, ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται, τις απαιτήσεις του κάθε προϊόντος και τις ιδιότητες της φαρμακοτεχνικής μορφής ή της φαρμακευτικής ουσίας.

3.2. Ιδιότητες Δισκίων

Το δισκίο πρέπει να είναι επαρκώς σκληρό και να ανθίσταται στις φυσιολογικές καταπονήσεις κατά τη διαδικασία της παραγωγής, συσκευασίας, μεταφοράς και χρήσης. Η ικανότητα αυτή προσδιορίζεται από δύο ελέγχους, της σκληρότητας και της ευθρυπτότητας.

Το φάρμακο πρέπει να είναι βιοδιαθέσιμο. Η ικανότητα αυτή προσδιορίζεται από δύο ελέγχους, της αποσάθρωσης και της διαλυτοποίησης. Δεδομένου, όμως, ότι η βιοδιαθεσιμότητα είναι ένα πολύπλοκο φαινόμενο τα αποτελέσματα των δύο αυτών ελέγχων δεν δίνουν πλήρη εικόνα.

Τα δισκία πρέπει να είναι ομοιόμορφα, όσον αφορά το βάρος τους και την περιεκτικότητα σε φάρμακο. Αυτό προσδιορίζεται με τον έλεγχο ομοιομορφίας βάρους και περιεχομένου.

Τα δισκία πρέπει να διαθέτουν καλή εμφάνιση, χρώση, σχήμα και άλλα χαρακτηριστικά.

Τα δισκία θα πρέπει να διατηρούν όλα τα επιθυμητά χαρακτηριστικά τους, π.χ. σταθερότητα, φαρμακολογική δράση, μικροβιολογική καθαρότητα σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους.

3.3. Τύποι δισκίων

Δισκία υπάρχουν διαφόρων ειδών και ανάλογα με τον τόπο, τρόπο και χρόνο δράσης των δραστικών συστατικών διακρίνονται στα παρακάτω:

- Δισκία μασσώμενα (Chewable Tablets)
- Δισκία διαλυτά (Soluble Tablets)
- Δισκία αναβράζοντα (Effervescent Tablets)
- Δισκία υπογλώσσια και στοματικά (Sublingual και Buccal Tablets)
- Δισκία εμφυτευόμενα (Implants Tablets)
- Δισκία λειχόμενα (Τροχίσκοι, Pastilles)
- Δισκία επικαλυμμένα (Coated Tablets)
- Δισκία εντεροδιαλυτά (Enteric Coated Tablets)
- Δισκία πολλαπλών στιβάδων (Laminated Coating Tablets) (Εφεντάκης, 2001)

4. ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ

4.1. Γενικά

Οι βασικές πορείες που συνθέτουν την απορρόφηση ενός φαρμάκου από τον οργανισμό είναι α) η παροχή (supply) τροφοδότησης των γαστρεντερικών υγρών με το φάρμακο, όπως αυτό περιέχεται στη φαρμακοτεχνική μορφή, β) η μετακίνηση (removal) του φαρμάκου και της φαρμακοτεχνικής μορφής κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα (ΓΕΣ) μαζί με την μετακίνηση των περιεχομένων του, καθώς και την πιθανή βιοχημική ή χημική τροποποίηση του μορίου του φαρμάκου και γ) η πρόσληψη (uptake) του φαρμάκου από τα υγρά του γαστρεντερικού σωλήνα στη γενική κυκλοφορία, όπου καλείται να διαπεράσει το φραγμό των επιθηλιακών κυττάρων του γαστρεντερικού βλεννογόνου, προκειμένου να φτάσει στα αιμοφόρα

και λεμφοφόρα αγγεία του για να μεταφερθεί με το φλεβικό αίμα και τη λέμφο στη γενική κυκλοφορία.

Ωστόσο, εκτός από τις 3 αυτές πορείες, που συνθέτουν οποιαδήποτε γαστρεντερική απορρόφηση, η άφιξη του φαρμάκου στη γενική κυκλοφορία του αίματος μετά από *per os* χορήγηση καθορίζεται και από άλλες μη δευτερεύουσες πορείες από τις οποίες οι σημαντικότερες είναι το φαινόμενο της πρώτης διόδου (πιθανή βιομετατροπή του φαρμάκου κατά την πρώτη δίοδο του από το ήπαρ και κατά την διαπέρασή του γαστρεντερικού επιθηλίου πριν φτάσει στη γενική κυκλοφορία) και η εντεροηπατική κυκλοφορία (μετά τη διέλευση από το ήπαρ το φάρμακο μπορεί να απεκκριθεί στη χοληδόχο κύστη και μέσω της χολής να επανέλθει στο λεπτό έντερο, όπου μπορεί να απορροφηθεί εκ νέου).

Απαραίτητη προϋπόθεση για το στάδιο της πρόσληψης του φαρμάκου είναι, όπως αναφέρθηκε, η διαπέραση των επιθηλιακών κυττάρων του γαστρεντερικού βλεννογόνου, η οποία είναι δυνατή μόνο όταν το φάρμακο είναι σε διαλυμένη κατάσταση, δηλαδή όταν είναι διαλυμένο στα γαστρεντερικά υγρά.

Έτσι, με τον όρο αποδέσμευση (release) νοείται το σύνολο των επιμέρους διαδικασιών, που συμβάλλουν στη μετάβαση του φαρμάκου από το χορηγούμενο σκεύασμα στα γαστρεντερικά υγρά.

Επειδή, όμως, η πορεία της μετάβασης του φαρμάκου από τη φαρμακοτεχνική μορφή στα γαστρεντερικά υγρά εξαρτάται από τον τύπο του χορηγούμενου σκευάσματος, είναι αναγκαίος ο ακριβής χαρακτηρισμός των στερεών φαρμακοτεχνικών μορφών, από την άποψη της αποδέσμευσης του φαρμάκου. Σύμφωνα με τα δεδομένα της Αμερικανικής Φαρμακοποιίας (έκδοση XXII, 1995), οι στερεές φαρμακοτεχνικές μορφές διακρίνονται σε άμεσης (immediate) και ελεγχόμενης (modified) αποδέσμευσης. Οι μορφές άμεσης αποδέσμευσης αποδίδουν το φάρμακο αμέσως μετά τη χορήγηση και ο ρυθμός μετάβασης στα γαστρεντερικά υγρά εξαρτάται κυρίως από το συγκεκριμένο φάρμακο και τις συνθήκες, οι οποίες επικρατούν στην περιοχή της αποδέσμευσης.

Με τον όρο συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης κατηγοριοποιούνται οι φαρμακοτεχνικές μορφές, οι οποίες είναι σχεδιασμένες έτσι ώστε να αποδίδουν το φάρμακο με ρυθμούς οι οποίοι εξαρτώνται από το συγκεκριμένο φαρμακοτεχνικό σύστημα και πολύ λιγότερο από το φάρμακο και τις συνθήκες που επικρατούν στον τόπο χορήγησης. Έτσι, επιτυγχάνεται ο έλεγχος του ρυθμού της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας, με επακόλουθο έλεγχο της απορρόφησής της από τον οργανισμό

και κατά συνέπεια των επιπέδων της στη γενική κυκλοφορία. Οι μορφές αυτές διακρίνονται σε μορφές παρατεταμένης (extended) αποδέσμευσης (που συνήθως ονομάζονται συστήματα παρατεταμένης αποδέσμευσης) και μορφές καθυστερούμενης (delayed) αποδέσμευσης. Συστήματα παρατεταμένης αποδέσμευσης χαρακτηρίζονται εκείνα, με τα οποία επιτυγχάνεται τουλάχιστον υποδιπλασιασμός της συχνότητας χορήγησης σε σχέση με τη συχνότητα, που χορηγείται μία άμεσης αποδέσμευσης φαρμακοτεχνική μορφή του ίδιου φαρμάκου. Ο όρος καθυστερούμενη αποδέσμευση χρησιμοποιείται για να χαρακτηρίσει τα σκευάσματα, που αποδεσμεύουν το φάρμακο, όχι αμέσως μετά τη χορήγηση, αλλά μετά από κάποιο συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (Μαχαίρας Π., 1997).

Οι λόγοι για τους οποίους κατασκευάζονται φαρμακευτικά σκευάσματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης είναι κυρίως: η μείωση στη συχνότητα χορήγησης, η απλούστευση στη χρήση των σκευασμάτων και η σταθεροποίηση μιας αναγκαίας θεραπευτικής συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας στο αίμα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Τα σκευάσματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, ανάλογα με την οδό χορήγησης, διακρίνονται σε: 1) συστήματα χορηγούμενα από το στόμα, 2) διαδερμικά συστήματα, 3) συστήματα χορηγούμενα δια των βλεννογόνων (στόματος-ορθού-μήτρας-οφθαλμού) και 4) εμφυτεύματα (Μαλαματάρης Σ.Χ, 1995).

Στην παρούσα μελέτη εξετάζονται τα *per os* χορηγούμενα φαρμακευτικά δισκία ελεγχόμενης αποδέσμευσης μελατονίνης.

4.2. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης

Τα προϊόντα ελεγχόμενης αποδέσμευσης χρησιμοποιούνται ευρέως τα τελευταία χρόνια στη θεραπευτική. Εμφανίζουν αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις συμβατικές μορφές. Παρακάτω αναφέρονται τα πλεονεκτήματα και ορισμένα μειονεκτήματα που παρουσιάζουν τα προϊόντα αυτά.

4.2.1. Πλεονεκτήματα

→ Συμβάλλουν στη διατήρηση της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας στο αίμα σε θεραπευτικά επίπεδα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, συγκριτικά με τα επίπεδα που επιτυγχάνονται από την εφ' άπαξ ή επαναλαμβανόμενη χορήγηση

σκευασμάτων άμεσης αποδέσμευσης, γεγονός που βελτιστοποιεί τη φαρμακολογική δράση και διασφαλίζει τη σταθερότητά της.

→ Βελτιώνεται η θεραπεία επειδή αποφεύγεται η αυξομείωση των δόσεων και αυτό συνεισφέρει στην αποφυγή των παρενεργειών και της τοξικότητας.

→ Αυξάνεται η βιοδιαθεσιμότητα σε αρκετά φάρμακα. Αυξάνεται η δραστηριότητα σε φάρμακα με σύντομη διάρκεια ημιζωής.

→ Αυξάνεται η διάρκεια δράσεως του φαρμάκου με αποτέλεσμα να αποφεύγονται οι αλλεπάλληλες χορηγήσεις και να ελαχιστοποιείται η συμμετοχή του ασθενή. Το γεγονός αυτό έχει σημαντικό αντίκτυπο στη συμμόρφωση του ασθενούς και στην τήρηση του θεραπευτικού σχήματος, ιδιαίτερα κατά τις νυκτερινές ώρες, διότι δεν είναι απαραίτητη η αφύπνιση του ασθενούς για να λάβει την απαραίτητη δόση.

→ Χορηγείται μικρότερη ποσότητα φαρμάκου συνολικά, με αποτέλεσμα την ελαχιστοποίηση των ανεπιθύμητων ενεργειών. Μειώνεται η τοξικότητα, από τη συσσώρευση του φαρμάκου σε χρόνιες παθήσεις, και οδηγεί σε οικονομικό όφελος (μείωση κόστους θεραπείας).

→ Αποφεύγεται ο ερεθισμός του γαστρεντερικού σωλήνα, σε περιπτώσεις εκλεκτικής αποδέσμευσης της δραστικής στο επιθυμητό σημείο. (Εφεντάκης Μ., 1989)

4.2.2. Μειονεκτήματα

→ Καθυστέρηση στην έναρξη του θεραπευτικού αποτελέσματος, λόγω του αντίστοιχα μεγαλύτερου χρόνου που απαιτείται για την επίτευξη θεραπευτικών συγκεντρώσεων στο αίμα. Το γεγονός αυτό, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις είναι επιθυμητό, συχνά αποτελεί μειονέκτημα.

→ Μεγάλο μειονέκτημα είναι η απώλεια φαρμάκου λόγω ηπατικού μεταβολισμού (φαινόμενο πρώτης διόδου) ή λόγω μεταβολισμού από το βλεννογόνο του εντέρου.

→ Σε ορισμένες περιπτώσεις είναι δυνατόν να μειωθεί η βιοδιαθεσιμότητα συγκεκριμένων ουσιών. Εάν ο χρόνος που απαιτείται για την πλήρη αποδέσμευση της ουσίας από το σκεύασμα είναι μεγαλύτερος του χρόνου διέλευσής του από το γαστρεντερικό σωλήνα, παραδείγματος χάριν, εμφανίζεται μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα.

- Υπάρχει κίνδυνος συσσώρευσης της δραστικής ουσίας.
- Η ύπαρξη περιορισμών σχετικά με τις ουσίες που είναι δυνατόν να μορφοποιηθούν στα σκευάσματα αυτά. Μερικοί από τους περιοριστικούς αυτούς παράγοντες είναι τα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά της ουσίας (είναι επιθυμητός σχετικά μικρός χρόνος ημιζωής), η απαιτούμενη δόση (φάρμακα που χορηγούνται σε υψηλές δόσεις είναι δύσκολο να μορφοποιηθούν σε τέτοια συστήματα) και η υδατοδιαλυτότητα της ουσίας (εξαιρετικά υδατοδιαλυτές ουσίες είναι δύσκολο να αποδεσμευτούν με τον επιθυμητό ρυθμό).
- Αυξάνεται το κόστος της θεραπείας σε ορισμένες περιπτώσεις (Εφεντάκης Μ., 1989).

4.3. Σύγκριση φαρμακοτεχνικών μορφών άμεσης και ελεγχόμενης αποδέσμευσης

Συγκρίνοντας τις στερεές και τις ημιστερεές μορφές άμεσης αποδέσμευσης με αυτές της ελεγχόμενης, στις πρώτες η διαδικασία μετάβασης του φαρμάκου στα γαστρεντερικά υγρά είναι δυνατό, ανάλογα με τον τύπο του σκευάσματος, να περιλαμβάνει την αποσάθρωση, που είναι μια αρχική πορεία διάβρωσης του σκευάσματος, τη διάλυση ενός εξωτερικού περιβλήματος, που απλώς χρησιμοποιείται για οργανοληπτικούς λόγους, την αποσυσσωμάτωση, που οδηγεί σε μεμονωμένα στερεά σωματίδια του φαρμάκου, και σε όλες τις περιπτώσεις, τη διάλυση του φαρμάκου.

Στα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, οι πορείες μετάβασης του φαρμάκου στα γαστρεντερικά υγρά συνήθως περιλαμβάνουν τη διάλυση του φαρμάκου ή και ποσοστού του υλικού, στο οποίο έχει ενσωματωθεί το φάρμακο με διείσδυση υγρών από το γαστρεντερικό σωλήνα, και την αποδέσμευση του φαρμάκου από το σύστημα με διάφορους μηχανισμούς, όπως διάχυση, ώσμωση ή ιοντανταλλαγή.

Συμπερασματικά, καταλήγουμε ότι οι κινητικά σημαντικότερες πορείες, που επηρεάζουν την παροχή του φαρμάκου από τη μορφή χορήγησης στα γαστρεντερικά υγρά, διακρίνονται ανάλογα με τον τύπο της φαρμακοτεχνικής μορφής. Για τις στερεές μορφές άμεσης αποδέσμευσης οι πορείες είναι : α) αποσάθρωση, η οποία αφορά μόνο στα δισκία και εξαρτάται αποκλειστικά από

μορφοποιητικούς παράγοντες και β) διάλυση των στερεών σωματιδίων του φαρμάκου, που εξαρτάται κυρίως από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του φαρμάκου σε συνδυασμό με τις συνθήκες, οι οποίες επικρατούν στο γαστρεντερικό σωλήνα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, αλλά και από ορισμένα χαρακτηριστικά σχετιζόμενα με την τεχνολογία παρασκευής της φαρμακοτεχνικής μορφής. Βέβαια, στο σημείο αυτό πρέπει να διευκρινιστεί ότι, ενώ η αποσάθρωση αποτελεί προϋπόθεση για την ουσιαστική έναρξη της διάλυσης, ωστόσο η πραγματοποίησή της δεν συνεπάγεται τη διάλυση του φαρμάκου, έτσι ώστε το συνηθέστερο πρόβλημα στη διαδικασία μετάβασης του φαρμάκου από μια στερεή φαρμακοτεχνική μορφή άμεσης αποδέσμευσης στα γαστρεντερικά υγρά να αποτελεί η έγκαιρη διάλυση του στερεού φαρμάκου.

Για τα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης η κινητικά σημαντικότερη διαδικασία είναι η αποδέσμευση του διαλυμένου φαρμάκου από το σύστημα, η οποία εξαρτάται κυρίως από τον τύπο του συστήματος, αλλά και από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του φαρμάκου, σε συνδυασμό με τις συνθήκες που επικρατούν στο γαστρεντερικό σωλήνα καθ' όλο το χρονικό διάστημα, για το οποίο διαρκεί η αποδέσμευση. Για το λόγο αυτό είναι αυτονόητο ότι η ρύθμιση της διαδικασίας της αποδέσμευσης από ένα τέτοιο σύστημα εξαρτάται από τη δυνατότητα πρόβλεψης και αντιμετώπισης των συνθηκών, οι οποίες επικρατούν στο γαστρεντερικό σωλήνα καθ' όλο το χρονικό διάστημα που διαρκεί η αποδέσμευση.

Οι μορφές άμεσης αποδέσμευσης διανέμουν το προς απορρόφηση φάρμακο αμέσως μετά από τη λήψη του. Κάτι τέτοιο δημιουργεί, σε ορισμένες περιπτώσεις, σοβαρά προβλήματα. Σημαντικότερο και συνηθέστερο από τα προβλήματα αυτά είναι η εμφάνιση πολύ υψηλών μέγιστων επιπέδων του φαρμάκου στο αίμα με άμεσο κίνδυνο την εμφάνιση τοξικών συμπτωμάτων, αν το φάρμακο έχει στενό θεραπευτικό εύρος συγκεντρώσεων. Όπως είναι φυσικό, το πρόβλημα αυτό εμφανίζεται συχνότερα σε περιπτώσεις, όπου επιβάλλεται η συχνή χορήγηση εξαιτίας της ταχείας απομάκρυνσης του φαρμάκου από το σώμα.

Προκύπτουν λοιπόν βασικοί λόγοι, οι οποίοι οδηγούν στην τροποποίηση της διαδικασίας αποδέσμευσης του δραστικού συστατικού από τη χορηγούμενη φαρμακοτεχνική μορφή. Οι βασικότεροι λόγοι είναι:

1. Η παράταση της διάρκειας δράσης και η επίτευξη σταθερότερων επιπέδων του φαρμάκου στο αίμα, μετά τη χορήγηση, ειδικά όταν το χορηγούμενο φάρμακο έχει μικρό χρόνο ημιζωής και στενό θεραπευτικό εύρος.
2. Η αύξηση της απορρόφησης όταν είναι επιθυμητή η επιλογή του τόπου αποδέσμευσης, εξαιτίας της αστάθειας του φαρμάκου ή εξαιτίας της εκλεκτικής πρόσληψης του φαρμάκου από το γαστρεντερικό επιθήλιο.
3. Η προγραμματισμένη χρονικά αποδέσμευση του δραστικού συστατικού εξαιτίας του τύπου της παθολογικής κατάστασης, όπως για παράδειγμα, όταν είναι επιθυμητή η καθυστέρηση της έναρξης δράσης του φαρμάκου, όπως σε περιπτώσεις αϋπνίας που εμφανίζεται πολύ αργά τη νύχτα.
4. Η καθυστέρηση της αποδέσμευσης ή εκδήλωσης κάποιας συγκεκριμένης δράσης μέσα στο γαστρεντερικό σωλήνα.
5. Η τοπική και εξειδικευμένη δράση μέσα στο γαστρεντερικό σωλήνα για παράδειγμα, όταν είναι επιθυμητή η τοπική δράση κορτικοστεροειδών στο παχύ έντερο για αντιμετώπιση συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου ή ιδιοπαθών φλεγμονωδών νόσων του εντέρου (Μαχαίρας Π., 1997).

4.4. Κατηγοριοποίηση των συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης

Ένα ιδανικό σύστημα αποδέσμευσης είναι αυτό που αποδεσμεύει τη φαρμακευτική ουσία όποτε και όπου χρειάζεται και στο μικρότερο δοσομετρικό σχήμα που απαιτείται για να επιτευχθεί το επιθυμητό θεραπευτικό αποτέλεσμα.

Η επίτευξη της ελεγχόμενης αποδέσμευσης γίνεται συνήθως με τον περιορισμό της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας από τη φαρμακοτεχνική μορφή. Στις περισσότερες περιπτώσεις εκδηλώνεται αποδέσμευση μίας αρχικής δόσης ώστε να υπάρχει εμφάνιση θεραπευτικού αποτελέσματος σε σύντομο χρονικό διάστημα και μετά η συνεχής αποδέσμευση μικρών σταθερών δόσεων φαρμάκου, ώστε να διατηρηθεί η επιθυμητή θεραπευτική συγκέντρωση.

Η παρασκευή και χρήση των μορφών ή συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης έγινε εφικτή, λόγω της χρησιμοποίησης, ως βασικών εκδόχων, των πολυμερών των οποίων οι φυσικοχημικές ιδιότητες δίδουν τη δυνατότητα σταθεράς και παρατεταμένης αποδέσμευσης της φαρμακευτικής ουσίας από τη

φαρμακοτεχνική μορφή, γεγονός, που δύσκολα είναι δυνατόν να επιτευχθεί με τα άλλα συμβατικά έκδοχα.

Τα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης τροποποιούν είτε το χρόνο αποδέσμευσης, που είναι και η πιο συνηθισμένη προσέγγιση, είτε την κατεύθυνση προς συγκεκριμένο σημείο στόχο που, όμως, ακόμη εφαρμόζεται σε πειραματικό στάδιο.

Στις μεθόδους επίτευξης ελεγχόμενης αποδέσμευσης περιλαμβάνονται οι εξής:

- ✓ Εντερική Επικάλυψη
- ✓ Μίγμα επικαλυμμένων και μη pellets
- ✓ Παρατεταμένη αποσάθρωση, διαλυτοποίηση δισκίου-μήτρας
- ✓ Πλαστική μήτρα
- ✓ Διογκούμενα δισκία - Σχηματισμός gel
- ✓ Δημιουργία ιονταλλακτικού συμπλόκου ρητίνης – φαρμάκου
- ✓ Δράση ωσμωτικής πίεσης
- ✓ Αποδέσμευση ανεξάρτητη από το pH
- ✓ Συνδυασμός διαφορετικής πυκνότητας
- ✓ Παρασκευή λιποσωμάτων
- ✓ Συστήματα Δενδριμερών (Demetzos C., 2006)

Οι πιο συνηθισμένοι τρόποι χορήγησης είναι μέσω του γαστρεντερικού συστήματος, η χορήγηση μέσω της στοματικής και της ρινικής κοιλότητας, η διαδερμική χορήγηση, η οφθαλμική, η παρεντερική, καθώς και η ενδομητριάκη και η ενδοκολπική χορήγηση.

Τα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης διακρίνονται σε τρεις βασικές κατηγορίες, ανάλογα με τον τρόπο αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας από το αντίστοιχο σύστημα (Lee P.L. et al, 1987):

A) Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διάχυσή της διαμέσου του πολυμερούς (Diffusion-Controlled Devices).

B) Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από την διείσδυση του διαλύτη εντός του συστήματος (Solvent-Controlled Devices).

Γ) Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από χημική αντίδραση (Chemically-Controlled Devices).

Είναι άξιο αναφοράς ότι σε μερικά συστήματα μπορεί να ενεργοποιούνται δύο ή περισσότεροι μηχανισμοί.

4.4.1. Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση ελέγχεται από τη διάχυση της δραστικής ουσίας διαμέσου του πολυμερούς (Diffusion-Controlled Devices)

Διάχυση χαρακτηρίζεται η φυσική τάση των μορίων μιας ουσίας να μεταφέρονται με τυχαίο τρόπο από μια φάση στην άλλη, δια μέσου μιας διαχωριστικής επιφάνειας, ώστε να επιτυγχάνεται θερμοδυναμική ισορροπία. Η διεύθυνση της μεταφοράς μάζας εξαρτάται συνήθως από τη συγκέντρωση και η μεταφορά γίνεται από την περιοχή υψηλότερης συγκέντρωσης προς την περιοχή χαμηλότερης συγκέντρωσης. Παρ' όλα αυτά, διάχυση μπορεί να συμβεί ακόμα και όταν δεν υπάρχει διαφορά συγκέντρωσης. Η διέλευση της ύλης από μια μεμβράνη μπορεί να γίνει είτε α) με απλή διέλευση των μορίων ή β) με μετακίνηση της ύλης διαμέσου των πόρων και των διαύλων της μεμβράνης. Η μοριακή διάχυση μέσα από μεμβράνη, που δεν έχει πόρους, εξαρτάται από τη διαλυτότητα των διερχομένων μορίων στη μεμβράνη. Η μοριακή διάχυση διαμέσου μιας μεμβράνης με πόρους κορεσμένους με έναν διαλύτη της ουσίας εξαρτάται από το μέγεθος των μορίων της διερχομένης ουσίας σε σχέση με το μέγεθος των πόρων της μεμβράνης.

Ο πρώτος, που ασχολήθηκε με την ποσοτική έκφραση του φαινομένου της διάχυσης, ήταν ο Fick. Η μεταφορά (αποδέσμευση) της δραστικής ουσίας από τα συστήματα ελεγχόμενης διάχυσης περιγράφεται από τον πρώτο νόμο του Fick. Βασίζεται στην υπόθεση ότι η ροή J , ή αλλιώς ο ρυθμός διάχυσης (ποσότητα της ύλης M , που διέρχεται κάθετα από τη μονάδα επιφάνειας τομής S σε χρόνο t), είναι ανάλογη της διαφοράς της συγκέντρωσης μεταξύ μέσου και φραγμού, δηλαδή:

$$J = \frac{dM}{Sdt} = -D \frac{dC}{dx} \quad (4.1)$$

Ο όρος D ονομάζεται συντελεστής διάχυσης ή διαχυτικότητα και εκφράζεται σε cm^2/sec , όταν η ροή J εκφράζεται σε $\text{g} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{sec}^{-1}$, η συγκέντρωση C σε g/cm^3 , η απόσταση x σε cm , η ποσότητα της ύλης M σε g ή mole και η επιφάνεια S σε cm^2 . Το αρνητικό πρόσημο υποδηλώνει ότι η ροή της μετακινούμενης ύλης είναι αντίθετη προς την αύξηση της συγκέντρωσης, δηλαδή η διαχεόμενη ύλη μεταβαίνει προς το μέρος όπου ελαττώνεται η συγκέντρωσή της.

Ο πρώτος νόμος του Fick περιγράφει τη διάχυση σε συνθήκες σταθερές με το χρόνο, όπου δηλαδή υπάρχει μια διαβαθμισμένη συγκέντρωση (dc/dx), η οποία δεν μεταβάλλεται με το χρόνο. Σε πολλές, όμως, πειραματικές μεθόδους μελέτης της διάχυσης, η συγκέντρωση μεταβάλλεται όχι μόνο με την απόσταση, αλλά και με το χρόνο. Αυτές τις περιπτώσεις καλύπτει ο δεύτερος νόμος του Fick, ο οποίος εκφράζεται από τον τύπο :

$$\frac{dc}{dt} = - \frac{dJ}{dx} \quad (4.2)$$

Αν είναι επιθυμητή η έκφραση της μεταβολής της συγκέντρωσης, που οφείλεται στη διάχυση, σε τρεις διαστάσεις, τότε χρησιμοποιείται η εξίσωση:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} \right) \quad (4.3)$$

Η εξίσωση (4.1) εκφράζει το δεύτερο νόμο του Fick και δείχνει ότι η μεταβολή της συγκέντρωσης με το χρόνο, σε ένα σημείο, είναι ανάλογη με τη μεταβολή της βαθμίδας συγκέντρωσης στο σημείο αυτό και με σταθερά αναλογίας τον συντελεστή διάχυσης D .

Τα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, με βάση τη διάχυση, διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες, τα συστήματα τύπου μήτρας και τα συστήματα τύπου δεξαμενής. Η πορεία αποδέσμευσης ακολουθεί διαφορετικούς μηχανισμούς σε κάθε μία από αυτές τις περιπτώσεις (Martin A., 1993; Βλάχου-Κωνσταντινίδου Μ.Δ., 2009-2010).

4.4.1.1. Συστήματα δεξαμενής (Reservoir systems)

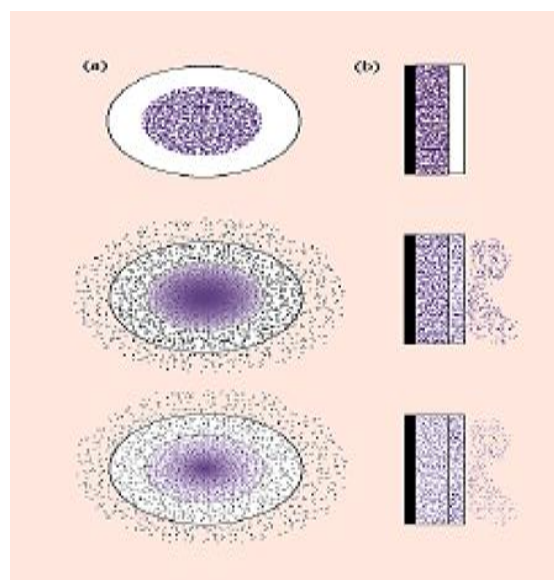
Στην περίπτωση αυτή το δραστικό συστατικό είναι μορφοποιημένο εντός ενός τύπου δεξαμενής (δραστικά συστατικά-έκδοχα), που περιβάλλεται από μεμβράνη πολυμερούς, αδιάλυτη στο νερό, οπότε ο ρυθμός αποδέσμευσης καθορίζεται από την ικανότητα και ταχύτητα διάχυσης του φαρμάκου από τα τοιχώματα της πολυμερικής μεμβράνης. Συγκεκριμένα, τα μόρια του φαρμάκου τα οποία είναι σε επαφή με τη μεμβράνη κατανέμονται εντός αυτής και εν συνεχεία ανταλλάσσονται με τα μόρια του υγρού που περιβάλλουν το σύστημα (Εφεντάκης Μ., 1989). Σε ορισμένες περιπτώσεις ουσιών, που εμφανίζουν υψηλή υδατοδιαλυτότητα, η οσμωτική πίεση μπορεί να επηρεάσει τον τελικό ρυθμό

αποδέσμευσης. Τα συστήματα αυτά μπορούν να οδηγήσουν σε μηδενοταξικές κινητικές αποδέσμευσης, αλλά για να επιτευχθεί ο σταθερός ρυθμός απαραίτητη προϋπόθεση είναι η διατήρηση σταθερής επιφάνειας, σταθερής απόστασης διάχυσης και σταθερός συντελεστής διάχυσης.

Οι βασικοί παράγοντες που ελέγχουν το ρυθμό της αποδέσμευσης στα συστήματα αυτά είναι το είδος των πολυμερών, που αποτελούν τη μεμβράνη επικάλυψης, το πορώδες της μεμβράνης, η δόση της δραστικής και η διαλυτότητά της.

Τα στάδια της αποδέσμευσης ενός φαρμάκου από ένα σύστημα δεξαμενής είναι:

- ✓ Διείσδυση υγρού μέσα από τη μεμβράνη στον πυρήνα της δεξαμενής που βρίσκεται το φάρμακο
- ✓ Διαλυτοποίηση ή διάχυση φαρμάκου στο υλικό διασποράς της δεξαμενής
- ✓ Διάχυση μεταξύ του μέσου διασποράς και της μεμβράνης
- ✓ Διάχυση εντός της μεμβράνης
- ✓ Διάχυση μεταξύ μεμβράνης και του διαλυτικού μέσου που την περιβάλλει
- ✓ Απομάκρυνση από την επιφάνεια του συστήματος προς το διάλυμα (Εφεντάκης. Μ., 2004).

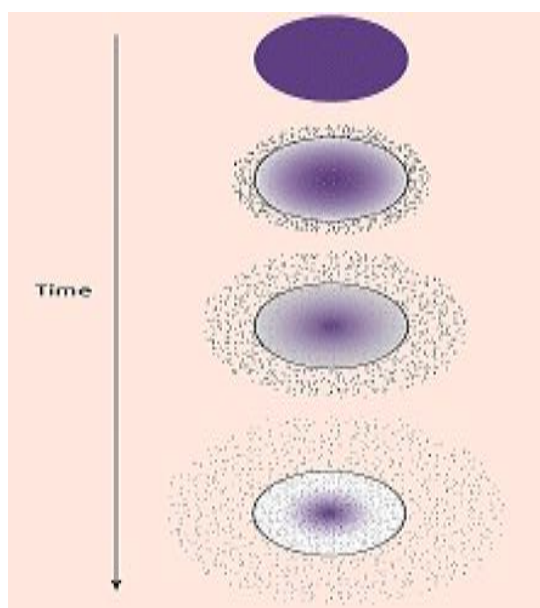


Σχήμα 4.1: Αποδέσμευση της φαρμακευτικής ουσίας από σύστημα δεξαμενής (Παπαδοκωστάκη Κ. 2005).

4.4.1.2. Συστήματα μήτρας (Matrix systems)

Τα συστήματα αυτά αποτελούν την πλέον συνηθισμένη μορφή δισκίων ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Ένα σύστημα τύπου μήτρας αποτελεί ένα ομοιογενές μίγμα της δραστικής ουσίας στη μάζα των εκδόχων (συνήθως ενός πολυμερούς ή μίγματος πολυμερών) οπότε και ο ρυθμός αποδέσμευσής του καθορίζεται από την επακόλουθη διάχυσή του διαμέσου της σχηματιζόμενης μήτρας ή από τη διάλυση της μήτρας. Τα στάδια της αποδέσμευσης του φαρμάκου από τέτοιο σύστημα, είναι:

- ✓ Διείσδυση υγρού μέσα από τους πόρους ή τα κανάλια της μήτρας, όπου έρχεται σε επαφή με τα μόρια του φαρμάκου
- ✓ Διάχυση στην επιφάνεια του συστήματος των μορίων του φαρμάκου
- ✓ Διάχυση μεταξύ επιφανείας και διαλυτικού μέσου
- ✓ Απομάκρυνση από το σύστημα προς το διάλυμα (Εφεντάκης 2004)



Σχήμα 4.2: Αποδέσμευση της φαρμακευτικής ουσίας από σύστημα μήτρας (Παπαδοκωστάκη Κ. 2005).

Το βασικό τους πλεονέκτημα έγκειται στην εύκολη παρασκευή τους με τη χρήση συμβατικών μεθόδων και εξοπλισμού. Επίσης, ο χρόνος και το κόστος παρασκευής τους είναι μειωμένα σε σύγκριση με τα συστήματα τύπου δεξαμενής.

Τέλος, είναι δυνατόν να ενσωματώσουν δραστικές ουσίες με αρκετά μεγάλο εύρος φυσικοχημικών ιδιοτήτων και μάλιστα τόσο σε υψηλές όσο και σε χαμηλές δόσεις.

Τα μειονεκτήματα που παρουσιάζουν συστήματα αυτού του τύπου είναι ότι στερούνται προσαρμοστικότητας σε περίπτωση αλλαγής της δοσολογίας, ενώ σε περιπτώσεις που απαιτούνται ιδιαίτερα στοιχεία και κινητικές αποδέσμευσης είναι συνήθως απαραίτητη η παρασκευή πιο πολύπλοκων συστημάτων τέτοιου τύπου, όπως τα πολυστρωματικά δισκία (Lee P.L. et al., 1987).

Παρασκευάζονται με διάφορους τρόπους, όπως:

1. με ανάμιξη του πολυμερούς με τα σωματίδια του φαρμάκου και συμπίεση σε δισκίο
2. με διάλυση του φαρμάκου και του πολυμερούς σε κατάλληλο διαλύτη και απομάκρυνση του διαλύτη
3. με ενσωμάτωση του φαρμάκου στο πολυμερές με πολυμερισμό μίγματος πολυμερούς φαρμάκου ή με διόγκωση υδροπηκτής εντός του διαλύματος του φαρμάκου
4. πολυμερίζοντας ένα μονομερές παρουσία διαλυμένου/διεσπαρμένου φαρμάκου (Καραγιαννίδου, Σιδερίδου, 2010)

Η μήτρα μέσα στην οποία ενσωματώνεται η δραστική ουσία μπορεί να είναι είτε υδρόφοβης είτε υδρόφιλης φύσης.

A. Υδρόφιλες μήτρες

Αποτελούν στις μέρες μας την ευρύτερα χρησιμοποιούμενη μορφή σκευασμάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Αν και κατηγοριοποιούνται στα ελεγχόμενα από τη διάχυση συστήματα, αναλόγως των χρησιμοποιούμενων πολυμερών και της δραστικής, η διάβρωση και η διόγκωση της μήτρας μπορεί να αποτελούν εξίσου σημαντικούς μηχανισμούς αποδέσμευσης. Η αποδέσμευση στα συστήματα αυτά επηρεάζεται σημαντικά από τη γέλη που σχηματίζεται στη διεπιφάνεια δισκίου-μέσου διάλυσης. Τα βασικά χαρακτηριστικά του σκευάσματος, τα οποία ρυθμίζουν το ρυθμό αποδέσμευσης της ουσίας, είναι ο τύπος του πολυμερούς που χρησιμοποιείται και το μοριακό του βάρος, οι διαστάσεις, το σχήμα και γενικά τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της μήτρας, η δόση της δραστικής και η διαλυτότητά της (Dulin W.A., 1995). Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το ρυθμό αποδέσμευσης, αλλά σε μικρότερο βαθμό, είναι η σκληρότητα του δισκίου και οι

διεργασίες που ακολουθούνται κατά την παρασκευή (τύπος κοκκοποίησης ή απευθείας συμπίεση, κτλ).

Έχουν γίνει εκτεταμένες μελέτες για την κατανόηση του μηχανισμού αποδέσμευσης από τις υδρόφιλες μήτρες. Σε γενικές γραμμές εκτιμάται ότι η διάλυση (διάβρωση) του πολυμερούς (όταν αυτή, ανάλογα με το πολυμερές λαμβάνει χώρα) και η διάχυση των μορίων του φαρμάκου, μέσω της σχηματιζόμενης γέλης στην επιφάνεια του δισκίου, αποτελούν τους βασικούς μηχανισμούς ως προς τον έλεγχο της αποδέσμευσης. Σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η διείδυση του διαλύτη εντός του συστήματος, διότι οδηγεί στη διόγκωση του πολυμερούς, μετατροπή του στην ελαστική κατάσταση και στη δημιουργία της γέλης που λειτουργεί ως φραγμός μεταξύ δισκίου και μέσου διάλυσης (Miranda An. et al., 2006). Σε αντίθεση με τα συστήματα που ελέγχονται καθαρά από τη διάχυση, τα σκευάσματα αυτού του τύπου είναι πιο κατάλληλα για την αποδέσμευση δυσδιάλυτων μορίων. Κατά τη μορφοποίηση μπορεί να επιδιωχθεί ταχύτερος βαθμός διάβρωσης του πολυμερούς για να επιταχυνθεί η αποδέσμευσή τους (Sandip B. Tiwari et al., 2003).

B. Υδρόφοβες μήτρες

Παρ' όλο που αρκετές φορές χρησιμοποιούνται αδιάλυτα πολυμερή, η κατηγορία αυτή σκευασμάτων αποτελεί ενδεχομένως τη μοναδική επιλογή, όπου, βεβαίως, δεν είναι απαραίτητη η παρουσία ενός πολυμερούς για την επίτευξη ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Οι υδρόφοβες μήτρες αποτελούν τις πλέον κατάλληλες μορφές για πιο ευδιάλυτα φάρμακα και για πιο ελεγχόμενες αποδεσμεύσεις (Sandip B. Tiwari, 2003). Τα κλασικά υλικά για την παρασκευή μητρών αυτού του τύπου είναι κηροί, γλυκερίδια, λιπαρά οξέα πολυαιθυλένια, πολυβινυλοχλωρίδια και πολυμερικά υλικά, όπως η αιθυλοκυτταρίνη, ακρυλικά πολυμερή και τα μεθακρυλικά συμπολυμερή. Για τη ρύθμιση της αποδέσμευσης προστίθενται ορισμένες φορές και κάποια υδατοδιαλυτά υλικά, όπως η λακτόζη. Το ρυθμιστικό βήμα γι' αυτού του είδους μορφές είναι η διείδυση του υγρού μέσα στη μήτρα, καθώς οι υδρόφοβες μήτρες μπορεί να καταστούν αδρανείς, λόγω της παρουσίας γαστρεντερικού υγρού και νερού (Sunil Kamboj et al, 2009).

4.4.2. Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διείσδυση του διαλύτη εντός του συστήματος (Solvent-Controlled Devices).

Στα συστήματα αυτά η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από το διαλύτη στο σύστημα και ανάλογα με το μηχανισμό διείσδυσης, τα συστήματα αυτά διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

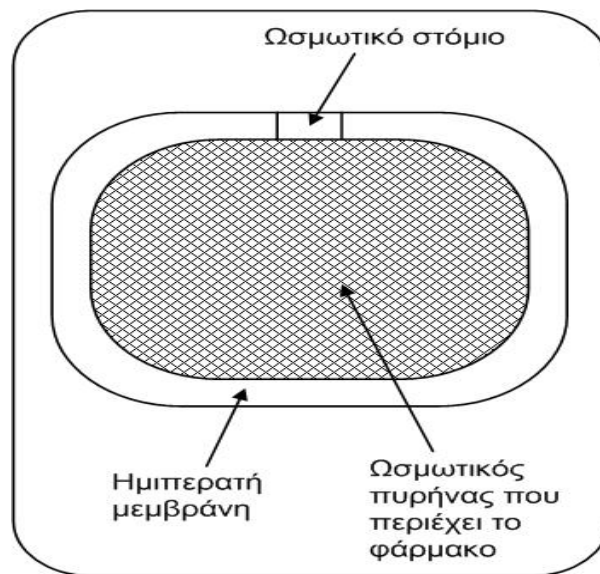
A) Ωσμωτικά συστήματα (Osmotically-Controlled Devices)

B) Διογκούμενα συστήματα (Swelling-Controlled Devices).

4.4.2.1. Ωσμωτικά συστήματα

Στα ωσμωτικά συστήματα η ωσμωτική πίεση, η οποία δημιουργείται από τη διείσδυση του διαλύτη, δρα ως μηχανισμός ώθησης και αποτελεί τον παράγοντα που προκαλεί τη σταθερή και συνεχή αποδέσμευση του φαρμάκου. Ένα απλό ωσμωτικό σύστημα αποτελείται από τον πυρήνα ενός συμπαγούς, στερεού υδατοδιαλυτού φαρμάκου, ο οποίος περιβάλλεται από μια ημιπερατή μεμβράνη η οποία είναι εκλεκτικά περατή σε υγρό αλλά αδιαπέραστη από τη δραστική ουσία και στην οποία υπάρχει ένα ακροφύσιο το οποίο αποτελεί τη μοναδική οπή εξόδου η οποία διανοίγεται με τη βοήθεια ακτινών laser.

Όταν τα γαστρεντερικά υγρά διέλθουν διαμέσου της μεμβράνης διαλυτοποιούν τμήμα του φαρμάκου, που βρίσκεται σε στερεά μορφή και του ωσμωτικού παράγοντα με αποτέλεσμα να δημιουργείται υδροστατική πίεση και το σύστημα να διογκώνεται. Όταν ο πυρήνας διογκωθεί επαρκώς, η ποσότητα της δραστικής ουσίας που έχει διαλυθεί αρχίζει να αποδεσμεύεται μέσω της οπής με σταθερό ρυθμό. Στα συστήματα αυτού του τύπου, ο ρυθμός αποδέσμευσης ελέγχεται από τον όγκο του υγρού που εισέρχεται στο σύστημα και από τη διαλυτότητα του φαρμάκου, ενώ δεν εξαρτάται από το pH του διαλύτη. Η κινητική της αποδέσμευσης είναι μηδενοταξική. Φάρμακα αδιάλυτα ή δυσδιάλυτα στα γαστρικά υγρά δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν στα συστήματα αυτά όμως σε αρκετές περιπτώσεις μπορεί να χρησιμοποιηθούν υπό τη μορφή ευδιάλυτου άλατος. Το σχήμα παρουσιάζει μια απλή ωσμωτική αντλία (Εφεντάκης Μ., 1989).

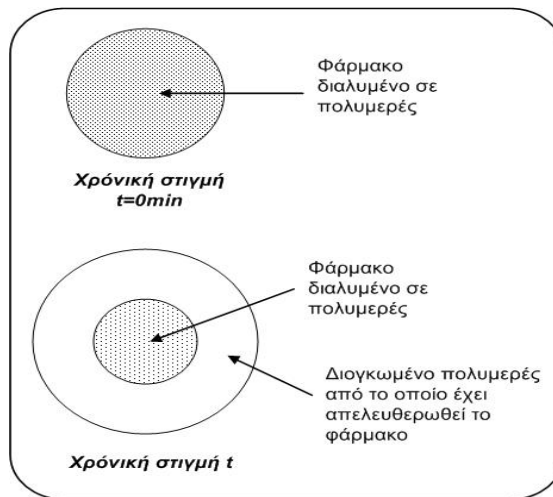


Σχήμα 4.3: Σχηματική παράσταση συστήματος ελεγχόμενης αποδέσμευσης δραστικής ουσίας ελεγχόμενου από ωσμωτική πίεση.

4.4.2.2. Διογκούμενα συστήματα

Ένα τυπικό διογκώσιμο φαρμακευτικό σκεύασμα παρασκευάζεται με διάλυση ή διασπορά του φαρμάκου σε ένα πολυμερικό διάλυμα και στη συνέχεια εξάτμιση του διαλύτη. Έτσι, λαμβάνεται μία υαλώδης πολυμερική μήτρα με το φάρμακο ομοιόμορφα κατανεμημένο εντός αυτής. Επίσης, παρασκευάζονται με απλή συμπίεση σωματιδίων του πολυμερούς και φαρμάκου, οπότε προκύπτουν πορώδη διογκώσιμα συστήματα. Όταν η μήτρα από το πολυμερικό υλικό έρθει σε επαφή με κάποιο μέσο αποδέσμευσης, το οποίο είναι θερμοδυναμικά συμβατό με το πολυμερές, ο διαλύτης αρχίζει να διεισδύει εντός της μήτρας, το πολυμερές διογκώνεται και επιτρέπει τη διάχυση του φαρμάκου προς το περιβάλλον. Αν η πολυμερική φάση αποτελείται από πολύ σταθερές μακρομοριακές αλυσίδες, η διόγκωση συνεχίζεται δημιουργώντας σημαντικές δομικές αλλαγές στη μήτρα, αυξάνοντας την κινητικότητα των αλυσίδων του πολυμερούς μέχρι το σύστημα να φτάσει σε θερμοδυναμική ισορροπία (Lee P.I., Peppas N.A., 1987; Καραγιαννίδου, Σιδερίδου, 2010). Τα συστήματα αυτά έχουν αναφερθεί με διάφορους τρόπους. Για παράδειγμα, ο Lee τα ονόμασε υδρογέλες μήτρες (hydrogel matrices) (Lee P.I., 1985), ενώ ο Πέππας χρησιμοποίησε την έκφραση διογκούμενα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης (Swelling-controlled release systems) (Lee P.I., Peppas N.A., 1987).

Μια σχηματική παράσταση ενός συστήματος αποδέσμευσης με διόγκωση δίνεται στο σχήμα.



Σχήμα 4.4: Σχηματική παράσταση συστήματος ελεγχόμενης αποδέσμευσης που ελέγχεται από τη διόγκωση του πολυμερούς.

4.4.3. Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από χημική αντίδραση (Chemically-Controlled Devices)

Στα συστήματα αυτά, ο ρυθμός αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας ελέγχεται από μια χημική αντίδραση, η οποία μπορεί να είναι υδρόλυση ή μία ενζυματική αντίδραση. Πρόκειται για αποικοδομήσιμα συστήματα σε μορφή σκόνης, φίλμ, κόκκων, όπου η αποδέσμευση της δραστικής ελέγχεται από τη διάβρωση του πολυμερούς ή πρόκειται για συστήματα, στα οποία η δραστική ουσία είναι χημικά συνδεδεμένη με το πολυμερές. Τα συστήματα αυτά χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

- A) Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διάβρωση του πολυμερούς.
- B) Συστήματα στα οποία η δραστική ουσία είναι χημικά συνδεδεμένη με το πολυμερές.

4.4.3.1. Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διάβρωση του πολυμερούς.

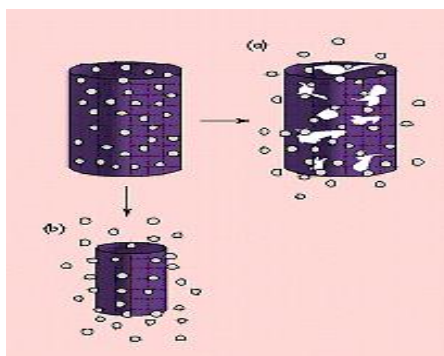
Σ' αυτά τα συστήματα το πολυμερές συμμετέχει ενεργά στο μηχανισμό αποδέσμευσης και δεν λειτουργεί μόνο ως παθητικός φορέας της δραστικής

ουσίας. Έτσι, η αποδέσμευση του εγκλεισμένου συστατικού καθορίζεται από τη διάβρωση ή τη διάλυση ή την τήξη του πολυμερούς ή από την πραγματοποίηση μιας χημικής αντίδρασης. Με τον όρο διάβρωση (erosion) νοείται, η μείωση μάζας της μήτρας πολυμερούς, που μπορεί να οφείλεται στην απώλεια μονομερών, oligομερών, ή και τεμαχίων μη διαβρωμένου πολυμερούς. Η διάβρωση μπορεί να είναι αποτέλεσμα βιολογικών, χημικών ή φυσικών παραγόντων. Στα συστήματα αυτά, η δραστική ουσία εγκλωβίζεται με φυσικές μεθόδους και κατανέμεται ομοιόμορφα στο πολυμερές με το οποίο είναι ενωμένη με δεσμούς, οι οποίοι είναι υδρολυτικά και ενζυματικά ασταθείς. Έτσι, καθώς το πολυμερές διαβρώνεται είτε με υδρόλυση είτε με ενζυματική σχάση, η δραστική ουσία απελευθερώνεται στο περιβάλλοντα χώρο (Lee P.L. et al., 1987). Η διαφορά μεταξύ των συστημάτων όπου η αποδέσμευση της ουσίας ελέγχεται από τη διάβρωση του πολυμερούς με αυτά στα οποία η αποδέσμευση ελέγχεται από την διάχυση της ουσίας διαμέσου του πολυμερούς, είναι ότι στα δεύτερα η πολυμερική φάση παραμένει αμετάβλητη, καθώς η ουσία αποδεσμεύεται ενώ στα πρώτα η πολυμερική φάση μειώνεται με το χρόνο (Katzhendler If. et al., 1997).

Χημική διάβρωση: Σύμφωνα με τον Heller υπάρχουν τρεις μηχανισμοί, οι οποίοι περιγράφουν τη διάβρωση των πολυμερών. Ο πρώτος μηχανισμός περιγράφει τη διάβρωση υδατοδιαλυτών πολυμερών, που έχουν μετατραπεί σε αδιάλυτα, με διασταύρωση των αλυσίδων τους (crosslinks). Η διάβρωσή τους γίνεται είτε με σχάση των σημείων διασταυρώσεών τους ή με σχάση των υδατοδιαλυτών αλυσίδων τους. Ο δεύτερος μηχανισμός περιγράφει τη διάβρωση πολυμερών, που είναι αρχικά αδιάλυτα στο νερό και μετατρέπονται σε υδατοδιαλυτά με υδρόλυση, ιονισμό ή πρωτονίωση των υδρόφοβων ομάδων τους και ο τρίτος μηχανισμός περιγράφει τη διάβρωση πολυμερών, τα οποία είναι αδιάλυτα στο νερό και έχουν πολύ μεγάλο μοριακό βάρος και μετατρέπονται σε μικρά υδατοδιαλυτά μόρια, λόγω υδρολυτικής σχάσης των ασταθών δεσμών (Heller J., 1980; Katzhendler If. et al., 1997; Lee P.L. et al., 1987).

Φυσική διάβρωση: Η διάβρωση ενός πολυμερούς μπορεί να είναι ετερογενής (επιφανειακή), ή ομοιογενής. Κατά την επιφανειακή διάβρωση (surface erosion), το σύστημα χάνει υλικό μόνο από την επιφάνεια. Τα δισκία γίνονται μικρότερα αλλά διατηρούν το σχήμα τους. Έτσι, έχουμε συνδυασμό διάχυσης φαρμάκου και εξωτερική διάβρωση της μήτρας του συστήματος. Στην ομοιογενή διάβρωση (bulk erosion), η διάβρωση δεν γίνεται επιφανειακά και για το λόγο

αυτό η μήτρα των δισκίων δεν αλλάζει μέγεθος κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, μέχρι όλα τα τμήματα της μήτρας να φτάσουν σε ένα κρίσιμο σημείο αντίδρασης, όπου και θα διαλυθεί η μήτρα. Η επιφανειακή διάβρωση είναι προτιμότερη διότι είναι προβλέψιμη και παρέχει αποδέσμευση με κινητική μηδενικής τάξης, ο δε ρυθμός αποδέσμευσης είναι ανεξάρτητος από τις χημικές και φυσικές ιδιότητες του φαρμάκου (Heller J., 1980; Katzhendler If. et al., 1997).



Σχήμα 4.5: Απεικόνιση α) ομοιογενούς και β) ετερογενούς διάβρωσης

4.4.3.2. Συστήματα στα οποία η δραστική ουσία είναι χημικά συνδεδεμένη με το πολυμερές

Σε αυτά τα συστήματα η φαρμακευτική ουσία είναι χημικά συνδεδεμένη με τον πολυμερικό φορέα. Η αποδέσμευση γίνεται με υδρολυτική ή ενζυμική σχάση των ασταθών δεσμών. Τέτοιοι φαρμακοπολυμερικοί φορείς αναφέρονται και ως πολυμερικά προφάρμακα. Είναι προφανές ότι ο τύπος του δεσμού δραστικής ουσίας-πολυμερικού φορέα διαφέρει ανάλογα με το είδος της δραστικής ουσίας. Τα συστήματα, που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο υποκατηγορίες :

- I) Στην πρώτη δημιουργείται χημικός δεσμός μεταξύ δραστικής ουσίας και πολυμερούς.
- II) Στη δεύτερη γίνεται συμπολυμερισμός της δραστικής ουσίας ή των προϊόντων τους.

Η αποδέσμευση από τα συστήματα αυτού του τύπου ελέγχεται από την κινητική της σχάσης του συγκεκριμένου δεσμού (Lee P.L. et al., 1987).

4.5. Μαθηματικά μοντέλα για την κινητική της αποδέσμευσης ενός φαρμάκου από σύστημα ελεγχόμενης αποδέσμευσης

Η αναλυτική μελέτη της κινητικής της αποδέσμευσης στην περίπτωση των συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης καθίσταται εξαιρετικά δύσκολη εξαιτίας, όχι μόνο λόγω των ποικίλων μηχανισμών, αλλά και της πολυπλοκότητας της διαδικασίας που ακολουθείται σε κάθε μηχανισμό. Κατά συνέπεια, η διαδικασία της αποδέσμευσης στην περίπτωση αυτή μελετάται με εμπειρικές σχέσεις, οι οποίες συνήθως βασίζονται στη μορφή της απεικόνισης της ποσότητας του φαρμάκου στο διάλυμα σε συνάρτηση με το χρόνο.

Παρακάτω περιγράφονται οι καταγεγραμμένοι κατά καιρούς μηχανισμοί και οι εξισώσεις της κινητικής, δηλαδή της συσχέτισης της αποδέσμευσης με το χρόνο.

4.5.1. Εξίσωση Higuchi (Square Root Law)

Το μοντέλο αυτό αναπτύχθηκε από τους Higuchi T. και Higuchi W.I. (Higuchi W.I.,1962; Higuchi T.,1963) για αδιάλυτες μήτρες, αλλά στη συνέχεια εφαρμόστηκε και για υδατοδιαλυτές από τους Lapidus και Lordi (Lapidus et al,1966; Lapidus et al,1968).

Σύμφωνα με αυτό το πρότυπο, αφού η υδρόφιλη μήτρα βρεθεί στο μέσο διάλυσης, λαμβάνουν χώρα οι ακόλουθες διεργασίες:

- Αρχικά, κατά την επαφή του δισκίου με το μέσο διάλυσης παρατηρείται μια γρήγορη αποδέσμευση ενός ποσοστού της δραστικής ουσίας, πριν τη διόγκωση του πολυμερούς και το σχηματισμό ενός στρώματος γέλης στην επιφάνεια της μήτρας.
- Στη συνέχεια και αφού σχηματισθεί η επιφανειακή γέλη, ακολουθεί διείσδυση νερού, ενυδατώνοντας το πολυμερές και διαλύοντας τη δραστική ουσία, η οποία διαχέεται προς τα έξω, λόγω της διαβάθμισης της συγκέντρωσης (Lapidus et al, 1968). Σε περιπτώσεις περιορισμένης διαλυτότητας της δραστικής ουσίας, παρά την ενυδάτωση του πολυμερούς, μπορεί αυτή να μη διαλύεται πλήρως, οπότε η διάχυση ξεκινά από ένα κεκορεσμένο διάλυμα.

Ο Higuchi λοιπόν ανέπτυξε μια εξίσωση για την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας, ύστερα από διάχυσή της, από δισκία με ομοιογενή ή και ετερογενή μήτρα.

Στην περίπτωση της ομοιογενούς μήτρας, όπου η δραστική ουσία είναι ομοιογενώς κατανομημένη στην πολυμερική μήτρα του δισκίου, η εξίσωση που περιγράφει την αποδέσμευση είναι:

$$Q = \sqrt{D(2A - C_s)C_s t} \quad (4.4)$$

όπου, Q είναι η ποσότητα της δραστικής ουσίας που αποδεσμεύεται μέχρι τη χρονική στιγμή t, D είναι ο συντελεστής διάχυσης της ουσίας στη μήτρα, C_s είναι η διαλυτότητα της δραστικής ουσίας ή η συγκέντρωση κορεσμού της στη μήτρα και A η συνολική συγκέντρωση διαλυμένης ή μη, δραστικής ουσίας.

Στην περίπτωση της ετερογενούς μήτρας αρχικά λαμβάνει χώρα διείσδυση του υγρού και στη συνέχεια διαλύεται η δραστική ουσία και απομακρύνεται μέσω των διαύλων του δισκίου. Η δεύτερη μορφή της εξίσωσης Higuchi περιλαμβάνει το πορώδες της ετερογενούς μήτρας ε και το ελικοειδές του τριχοειδούς συστήματος του δισκίου της μήτρας τ και είναι η:

$$Q = \sqrt{\frac{D\varepsilon}{\tau}(2A - \varepsilon C_s)C_s t} \quad (4.5)$$

Οι παραπάνω εξισώσεις υπόκεινται σε πολλούς περιορισμούς και ισχύουν κάτω από ορισμένες προϋποθέσεις, όπως:

- Κατά την αποδέσμευση διατηρείται μια ψευδο-σταθερή κατάσταση.
- Η συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στο διάλυμα διατηρείται μηδενική (perfect sink conditions).
- Οι κόκκοι της δραστικής είναι ομοιόμορφα διεσπαρμένοι στη μήτρα, ενώ το μέγεθός τους είναι μικρό συγκριτικά με τη μέση απόσταση διάχυσης.
- Δεν υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ δραστικής ουσίας και μήτρας, ενώ ο συντελεστής διάχυσης διατηρείται σταθερός.
- Η εξίσωση ισχύει μόνο σε «συνθήκες δεξαμενής» (Sink conditions).
- Η διάχυση είναι μονοδιάστατη. Η αποδέσμευση δηλαδή γίνεται μόνο από τη μία πλευρά του δισκίου (Higuchi W.I.,1962; Higuchi T.,1963; Lapidus et al,1966; Lapidus et al,1968; Siepmann J. et al., 2011; Borodkin S. et al., 1974).

Το πρότυπο Higuchi είναι προφανές ότι δεν μπορεί να περιγράψει με ακρίβεια τις διεργασίες αποδέσμευσης από υδρόφιλες μήτρες. Αυτό οφείλεται στο ότι δεν λαμβάνονται υπ' όψιν όλες οι διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας. Επίσης, δεν λαμβάνεται υπ' όψιν η διάλυση της μήτρας, γνωστή και ως διάβρωση, η οποία οδηγεί σε θετικές αποκλίσεις σχετικά με το πρότυπο Higuchi.

4.5.2. Η προσέγγιση Bamba

Είναι γνωστό, ότι τα συστήματα υδρόφιλων μητρών δεν ακολουθούν πάντα την κινητική της τετραγωνικής ρίζας του χρόνου. Το γεγονός αυτό, καθώς και όλα τα μειονεκτήματα που περιγράφονται στην προηγούμενη παράγραφο, καταδεικνύουν την αδυναμία του πρότυπου Higuchi να περιγράψει το σύνολο των διεργασιών και να τύχει συνολικής αποδοχής. Μία νεώτερη προσπάθεια πλήρους περιγραφής όλων των διαδικασιών έγινε από το Bamba και τους συνεργάτες του, οι οποίοι εντόπισαν ότι το βραδύτερο στάδιο της διεργασίας της αποδέσμευσης, αποτελεί και το καθοριστικό, για το ρυθμό και την κινητική της αποδέσμευσης (Bamba M. et al, 1979).

Το σύνολο των διεργασιών που καταγράφηκαν είναι οι εξής:

- Διείσδυση του νερού στο εσωτερικό της μήτρας
- Ενυδάτωση του πολυμερούς και μετατροπή του σε γέλη
- Διάλυση της δραστικής ουσίας στο διεισδύον νερό
- Διάχυση της δραστικής διαμέσου της γέλης
- Αποδέσμευση της δραστικής μέσω πόρων με διάχυση σύμφωνα με το πρότυπο Higuchi

Σύμφωνα με την προσέγγιση του Bamba (Bamba M. et al, 1979), εάν η αποδέσμευση γίνεται κατά το πρότυπο Higuchi, τότε προφανώς ισχύουν οι εξισώσεις που αναφέρθηκαν παραπάνω. Εάν η καθοριστική για την αποδέσμευση διεργασία είναι η διάλυση της δραστικής ουσίας, τότε θα ισχύει η κινητική της κυβικής ρίζας σύμφωνα με την εξίσωση των Hixson-Crowell (Wong L.P. et al., 1992) :

$$\sqrt[3]{\left(1 - \frac{M_t}{M_\infty}\right)} = -Kt \quad (4.6)$$

όπου M_t και M_∞ είναι οι ποσότητες της δραστικής ουσίας που αποδεσμεύονται σε χρόνους t και άπειρο (∞) και K είναι η σταθερά διάλυσης της κυβικής ρίζας.

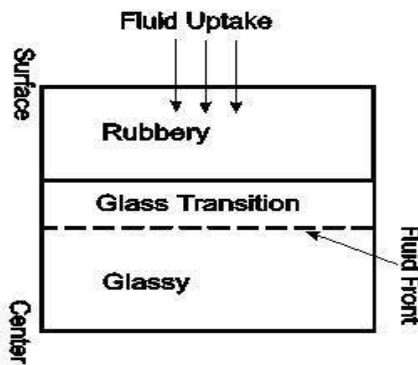
Σε περίπτωση που κάποια άλλη διεργασία καθορίζει το ρυθμό αποδέσμευσης, θα ισχύει εκθετική κινητική (Bamba M. et al., 1979).

4.5.3. Σχέση Peppas-Korsmeyer (Power Law)

Σύμφωνα με τους Korsmeyer και Gurny (Korsmeyer R.W. et al., 1983), η αποδέσμευση μιας δραστικής από μια υδρόφιλη μήτρα μπορεί να περιγραφεί από μια σειρά φαινομένων μεταφοράς μάζας, ως ακολούθως:

α) Στο πρώτο στάδιο λαμβάνει χώρα διαβροχή της επιφάνειας της μήτρας, ενώ οι πόροι κοντά στην επιφάνεια πληρώνονται με νερό. Στο στάδιο αυτό διαλύεται μέρος της δραστικής ουσίας τόσο από την επιφάνεια που έρχεται σε άμεση επαφή με το υγρό διαλυτοποίησης όσο και από τους γεμάτους με νερό πόρους. Ταυτόχρονα, το υγρό διαλυτοποίησης διεισδύει στην υδρόφιλη μήτρα προκαλώντας την διόγκωσή της. Κατά τη διεργασία αυτή λαμβάνει χώρα μακρομοριακή χαλάρωση, αύξηση της κινητικότητας των πολυμερικών αλυσίδων και οριστική ανακατανομή του σχήματος και του μεγέθους των πόρων, που οδηγούν σε σημαντική διαφοροποίηση τόσο του πορώδους όσο και του ελικοειδούς της μήτρας.

β) Στο δεύτερο στάδιο, κατά την ενυδάτωση, δημιουργείται ένα μέτωπο διόγκωσης που διαχωρίζει την υαλώδη φάση από την ελαστική (εξωτερική) στην οποία μεταπίπτει το πολυμερές. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται σταδιακά και η μετατροπή του σε γέλη, ξεκινώντας από την επιφάνεια της μήτρας. Η δραστική σε αυτό το στάδιο διαχέεται μέσω του πλέγματος του πολυμερούς. Σε αυτό το στάδιο η διάχυση μέσω των πόρων της μήτρας θεωρείται αμελητέα για δύο λόγους: αφ' ενός γιατί αυτοί αποτελούν μικρό μόνο μέρος της επιφάνειας, αφ' ετέρου γιατί η στοιβάδα γέλης στην επιφάνεια έχει επιφέρει απόφραξη αυτών των πόρων. Ο μηχανισμός αποδέσμευσης κυμαίνεται μεταξύ της απλής διάχυσης με πρωτοταξική κινητική (Fickian) και της μεταφοράς δεύτερου τύπου (Case II). Συνήθως, όμως, παρατηρείται η ενδιάμεση κατάσταση που αντιστοιχεί στην ανώμαλη διάχυση στην οποία το μέτωπο του διογκούμενου παράγοντα διεισδύει στην αρχική υαλώδη κατάσταση του πολυμερούς με σταθερή ταχύτητα (Langer R.S. et al., 1981).



Σχήμα 4.6: Ροή υγρού σε υαλώδη μήτρα. Ανώμαλη διάχυση (non-Fickian) στο μεταβατικό στάδιο μετατροπής από την υαλώδη στην ελαστική φάση (κοντά στην θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης T_g - glass transition temperature). Στην υαλώδη και ελαστική φάση λαμβάνει χώρα διάχυση κατά Fick.

Σε αυτήν την περίπτωση προτάθηκε για την περιγραφή της κινητικής αποδέσμευσης η εξίσωση (Ritger P.L. et al., 1987; Korsmeyer R.W. et al., 1983):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K * t^n \quad (4.7)$$

όπου: M_t/M_∞ εκφράζει το % ποσοστό της αποδεσμευθείσας ουσίας, K = η κινητική σταθερά του ρυθμού αποδέσμευσης, t = ο χρόνος, n = εκθέτης που καθορίζει το μηχανισμό της αποδέσμευσης και λαμβάνει τιμές από 0,5 έως 1, για αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από μια μόνο επιφάνεια και εξαρτάται από τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της φαρμακοτεχνικής μορφής. Έτσι, για n 0,5/0,45/0,43 και 0,1/0,89/0,85 (λεπτό φίλμ/κύλινδρος/σφαίρα) γίνεται Fickian διάχυση και διάχυση μεταφοράς δεύτερου τύπου (Case II), αντίστοιχα (Kosmidis K. et al., 2003).

Προκειμένου, όμως, να ληφθούν ασφαλή συμπεράσματα για το μηχανισμό αποδέσμευσης, βάσει του εκθέτη n , θα πρέπει να τηρούνται όλοι οι περιορισμοί που ελήφθησαν υπ' όψιν για την εξαγωγή της προηγούμενης εξίσωσης, και συγκεκριμένα:

- ✓ Η διόγκωση της μήτρας δεν πρέπει να υπερβαίνει το 30% του αρχικού όγκου της μήτρας,
- ✓ Να εφαρμόζεται σε υδατοδιαλυτή δραστική, σε συνθήκες δεξαμενής (sink conditions)

✓ Η εξίσωση ισχύει για περιοχές αποδέσμευσης 15%-60% (Ritger P.L. et al., 1987) ή κατά άλλους 5%-80% (Mockel J.E. et al., 1993), όπου λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα, φαινόμενα διάχυσης και μακρομοριακής χαλάρωσης.

✓ Ο συντελεστής διάχυσης της δραστικής να είναι ανεξάρτητος της συγκέντρωσης.

Είναι πολλές οι περιπτώσεις όπου γίνεται λανθασμένη εφαρμογή του εν λόγω προτύπου είτε γιατί δεν τηρούνται οι περιορισμοί που τίθενται είτε γιατί ο προσδιορισμός του n δεν γίνεται με την απαιτούμενη στατιστική ακρίβεια και με χρήση κατάλληλων ορίων εμπιστοσύνης (Peppas N.A., 1985).

Πίνακας 4.1: Συσχέτιση των τιμών του εκθέτη n με το μηχανισμό αποδέσμευσης και ανάλογα με το σχήμα της μήτρας με βάση τη σχέση Peppas.

Τιμή εκθέτη n			Μηχανισμός αποδέσμευσης
Λεπτό φιλμ	Κύλινδρος	Σφαίρα	
0,5	0,45	0,43	Fickian διάχυση
$0,5 < n < 1$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Ανώμαλη διάχυση (non-Fickian)
1	0,89	0,85	Case II
$n > 1$	$n > 0,89$	$n > 0,85$	Super Case II αποδέσμευση

γ) Το τρίτο στάδιο αφορά στην αποδέσμευση του υπολειπόμενου ποσού της δραστικής (~70–100%). Η αποδέσμευση αυτής της ποσότητας γίνεται με παθητική διάχυση μέσω της πλήρως ενυδατωμένης μήτρας, και απουσία του φαινομένου διόγκωσης λόγω ολοκλήρωσής του. Το εν λόγω πρότυπο βρίσκει ευρύτατη εφαρμογή κυρίως διότι είναι αρκετά απλό και δεύτερον γιατί από τον υπολογισμό του εκθέτη n μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα και πληροφορίες για το μηχανισμό της αποδέσμευσης. Ο εκθέτης μπορεί να υπολογισθεί από τη καμπύλη αποδέσμευσης-χρόνου, με απευθείας χρήση κατάλληλου λογισμικού είτε μετά από εφαρμογή των ελαχίστων τετραγώνων στην εξίσωση ευθείας που προκύπτει μετά από λογαρίθμηση της εξίσωσης, ως εξής:

$$\ln \frac{M_t}{M_\infty} = \ln k + n \ln t \quad (4.8)$$

Αργότερα, οι Sahlin και Peppas (Peppas N.A. et al, 1989) τροποποίησαν την εξίσωση (4.8), προτείνοντας μια αναλυτικότερη, η οποία λαμβάνει υπ' όψιν το

συνδυασμό των δύο κυριότερων μηχανισμών που λαμβάνουν χώρα κατά την αποδέσμευση. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι η διάχυση και η μακρομοριακή χαλάρωση. Η πρώτη οδηγεί σε Fickian κινητική, ενώ η δεύτερη σε μεταφορά 2^{ου} τύπου (Case II). Όλες οι ενδιαμέσες τιμές του n προκύπτουν από ταυτόχρονη δράση και των δύο μηχανισμών (Miranda An. et al., 2006). Η αναλυτικότερη εξίσωση έχει τη μορφή:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 t^m + k_2 t^{2m} \quad (4.9)$$

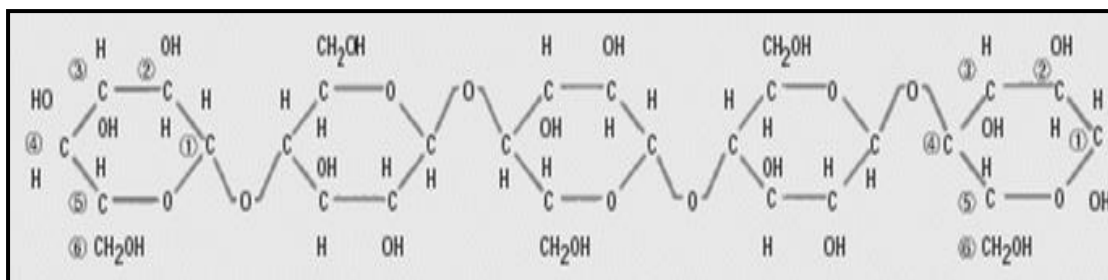
όπου: k_1 είναι η σταθερά της διάχυσης, k_2 είναι η σταθερά της μακρομοριακής χαλάρωσης και m είναι ο καθαρός συντελεστής διάχυσης κατά Fick, ο οποίος λαμβάνει συγκεκριμένες τιμές, ανάλογα με το σχήμα της μήτρας. Είναι φανερό ότι όταν η μακρομοριακή χαλάρωση είναι αμελητέα τότε $m=n$ (Peppas N.A. et al, 1989).

5. ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ

5.1. Μικροκρυσταλλική κυτταρίνη (Avicel PH 102)

Η μικροκρυσταλλική κυτταρίνη είναι ευρέως χρησιμοποιούμενο έκδοχο άμεσης συμπίεσης. Έχει άριστες ιδιότητες συμπίεσης και καλές ιδιότητες ροής. Παρά το ότι αποτελεί πολύ καλό συνδετικό μέσο δρα επίσης και ως μέσο καταθρυμματισμού. Μειονέκτημά του το σχετικά υψηλό κόστος. Αποτελεί ένα φυσικό πολυμερές υψηλής καθαρότητας, σε μορφή μικροκρυσταλλικής λευκής κόνεως. Παρουσιάζει μεγαλύτερο βαθμό κρυσταλλικότητας από την κυτταρίνη σε σκόνη (Powder Cellulose), λόγω της παραλαβής της μέσω μερικής υδρόλυσης της α-κυτταρίνης με οξέα. Στο νερό σχηματίζει ένα τρισδιάστατο πλέγμα από αδιάλυτους μικροκρυσταλλούς, δημιουργώντας έτσι μία εξαιρετικά σταθερή θιξοτροπική γέλη με αποτέλεσμα το τελικό προϊόν να ανθίσταται στις διάφορες θερμοκρασίες στις οποίες μπορεί να βρεθεί. Για το λόγο αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως παράγοντας απαιώρησης σε εναιωρήματα, και ως σταθεροποιητής σε γαλακτώματα, τύπου έλαιο σε νερό. Χρησιμοποιείται ευρέως στις στερεές *per os* χορηγούμενες φαρμακοτεχνικές μορφές, ως συνδετικό, λόγω των άριστων ιδιοτήτων ροής που

παρουσιάζει. Επιπροσθέτως, εμφανίζει μικρή ευθρυπτότητα και ήπιες λιπαντικές ιδιότητες. Αποτελεί έκδοχο κατάλληλο για απ' ευθείας συμπίεση και προσδίδει στα δισκία εξαιρετικά τεχνολογικά χαρακτηριστικά (Product Information Brochure, 2005). Εκτός από τη χρήση της στην απ' ευθείας συμπίεση, η μικροκρυσταλλική κυτταρίνη χρησιμοποιείται ως αραιωτικό σε δισκία που δημιουργούνται με υγρή κοκκοποίηση, στην πλήρωση καψουλών και στη δημιουργία σφαιριδίων (Gohel M.C. et al., 2005). Αποτελεί ιδανικό έκδοχο, καθώς έχει καλή συμβατότητα με φάρμακα (Ragnar Ek et al., 1994). Έτσι, τα τελευταία 35 χρόνια χρησιμοποιείται ευρέως τόσο στη βιομηχανία τροφίμων, όσο και στη φαρμακευτική βιομηχανία.



Σχήμα 5.1: Η μοριακή αλυσίδα της κυτταρίνης – β -1,4-γλυκοζιδικοί δεσμοί μεταξύ των μορίων της γλυκόζης.

Οι πρώτες ύλες για την παρασκευή της μικροκρυσταλλικής κυτταρίνης είναι φυσικές πηγές κυτταρίνης, όπως φρούτα και λαχανικά. Στη συνέχεια, μέσω ποικίλων τεχνικών, παρασκευάζονται διάφορα προϊόντα μικροκρυσταλλικής κυτταρίνης, τα οποία χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένες ιδιότητες, όπως το ιξώδες, η ικανότητα σχηματισμού γέλης ή εναιωρήματος και η σταθερότητα (Product Information Brochure, 2005).

Στο εμπόριο κυκλοφορούν διάφοροι τύποι Avicel, οι οποίοι κατά κύριο λόγο διαφέρουν στο μέγεθος των σωματιδίων. Οι παρακάτω πίνακες αναφέρονται στους διάφορους τύπους Avicel με τα κυριότερα χαρακτηριστικά τους και τις ιδιότητές τους:

Πίνακας 5.1: Οι διάφοροι τύποι Avicel PH (Product Information Brochure, 2005).

	Τύπος Avicel	Μέγεθος σωματιδίων	Ποσοστό υγρασίας	Πυκνότητα μάζας
Υγρή κοκκοποίηση	Avicel 101	50	3,0- 5,0	0,26- 0,31
Άμεση συμπίεση	Avicel 102	100	3,0- 5,0	0,28- 0,33
Καλή συμπιεστότητα	Avicel 105	20	≤ 5,0	0,20- 0,30
Καλή ροή	Avicel 102	100	3,0- 5,0	0,28- 0,34
	Avicel 200	180	2.0- 5,0	0,29- 0,36
Υψηλή πυκνότητα	Avicel 301	50	3,0- 5,0	0,34- 0,45
	Avicel 302	100	3,0- 5,0	0,35- 0,46
Χαμηλή υγρασία	Avicel 103	50	≤ 3,0	0,26- 0,31
	Avicel 113	50	≤ 2,0	0,27- 0,34
	Avicel 112	100	≤ 1,5	0,28- 0,34

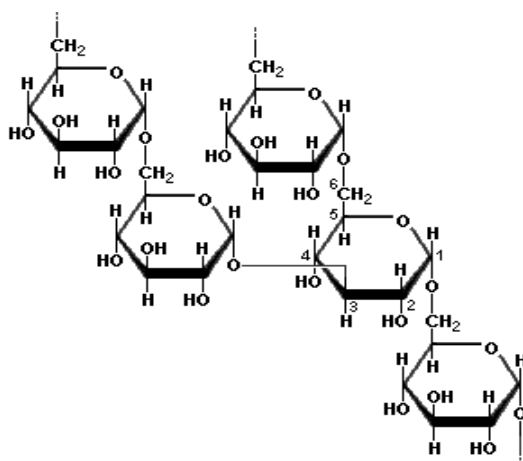
Πίνακας 5.2: Ιδιότητες τύπων Avicel (Gohel M.C. et al, 2005).

Τύποι Avicel	Ιδιότητες
PH101	Ευρέως χρησιμοποιούμενο για απευθείας συμπίεση και για υγρή κοκκοποίηση
PH102	Μεγαλύτερου μεγέθους σωματίδια. Ιδιότητες συμπίεσης ίδιες με αυτές του Avicel PH101
PH103, PH112, PH113	Μειωμένο περιεχόμενο υγρασίας και ιδανικό για υλικά ευαίσθητα στην υγρασία
PH105	Μικρότερου μεγέθους σωματίδια και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απ' ευθείας συμπίεση κοκκιδίων, τραχέων και κρυσταλλικών ουσιών. Αναμειγνύεται με τα PH101, PH102 για καλύτερες ρεολογικές ιδιότητες και ιδιότητες συμπίεσης.
PH200	Μεγαλύτερο μέγεθος σωματιδίων που προσφέρει καλύτερη ρευστότητα με λιγότερη επιρροή στα χαρακτηριστικά της συμπίεσης. Χρησιμοποιείται για να μειώσει τη διακύμανση βάρους & να βελτιώσει την ομοιομορφία περιεχομένου.
PH301	Μεγαλύτερη πυκνότητα σε σχέση με του παρόμοιου μεγέθους σωματιδίων ισοδύναμο PH101 δίνοντας μεγαλύτερη ρευστότητα, καλύτερη ομοιομορφία

	βάρους δισκίων και τη δυνατότητα για δημιουργία μικρότερου μεγέθους δισκίων.
PH302	Πυκνότητα παρόμοια με αυτή του PH301 και μέσο όρο μέγεθος σωματιδίων μ' αυτό του PH102 και PH302 δίνοντας μεγαλύτερη ρευστότητα, καλύτερη ομοιομορφία βάρους δισκίων και τη δυνατότητα για δημιουργία μικρότερου μεγέθους δισκίων.

5.2. Δεξτράνη (Dextran)

Είναι ένα πολυμερές σύμπλεγμα γλυκόζης αποτελούμενο από αλυσίδες με διαφορετικά μήκη (από 10 μέχρι 150 kilodaltons). Στην κεντρική αλυσίδα τα μόρια γλυκόζης ενώνονται με α -1,6 γλυκοζιδικό δεσμό, ενώ στις ακριανές αλυσίδες με α -1,3 ή α -1,4 γλυκοζιδικό δεσμό. Οι δεξτράνες παράγονται από συγκεκριμένα οξυγαλακτικά βακτήρια, όπως είδη *Streptococcus* και το *Leuconostoc mesenteroides* (Steinbüchel Al. et al, 2005).



Σχήμα 5.2: Ο συντακτικός τύπος της δεξτράνης

Η δεξτράνη είναι πολύ διαλυτή στο νερό και σε ηλεκτρολυτικούς διαλύτες δημιουργώντας σταθερά διαλύματα. Το pH δεν επηρεάζει σημαντικά τη διαλυτότητά της. Η δεξτράνη δεν διαλύεται σε αλκοολικά διαλύματα, όπως μεθανόλης, αιθανόλης, ισοπροπανόλης και στις περισσότερες κετόνες. Είναι σταθερή για πάνω από 5 χρόνια όταν αποθηκεύεται σε θερμοκρασία δωματίου σε αεροστεγείς συσκευασίες, καθώς απορροφά αργά την υγρασία της ατμόσφαιρας. Χρησιμοποιείται στην ιατρική ως αντιθρομβωτικό μειώνοντας την πυκνότητα του αίματος. Επίσης, χρησιμοποιείται σε

κολλύρια και σε ενδοφλέβια χορηγούμενα υγρά διατροφής, καθώς είναι πλούσια σε γλυκόζη (Product Information Brochure: Dextran Fractions, 2001-11).

5.3. Υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη (HPMC K15M, METHOCEL)

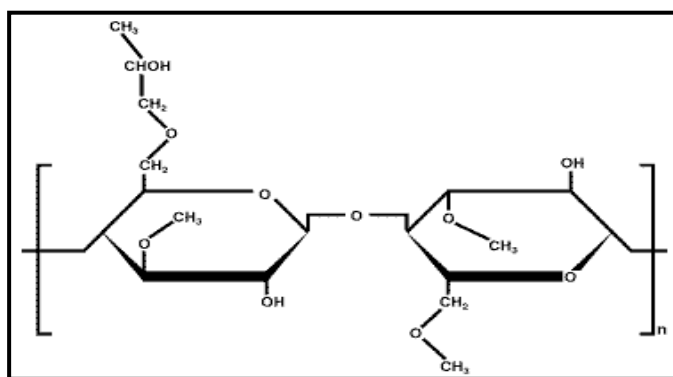
Μεταξύ των πολυμερών που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή υδρόφιλων συστημάτων τύπου μήτρας, την πλέον εξέχουσα θέση κατέχουν τα παράγωγα της κυτταρίνης. Το πολυμερές HPMC είναι ένα υδατοδιαλυτό ημισυνθετικό αιθερικό παράγωγο της κυτταρίνης, που έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα από τις αρχές του 1960 σε υδρόφιλη μήτρα σε συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, τα οποία χορηγούνται από το στόμα. Άλλες εφαρμογές του συγκεκριμένου πολυμερούς περιλαμβάνουν τη χρήση του ως συνδετικού υλικού δισκίων και σε επικαλύψεις. Η ευρεία του χρήση μπορεί να αποδοθεί στις εξής ιδιότητες

- ⇒ Πρόκειται για ένα μη τοξικό και ασφαλές έκδοχο σύμφωνα με το FDA
- ⇒ Η παρασκευή του είναι εύκολη (ημισυνθετικά) από την κυτταρίνη, μία πρώτη ύλη άφθονη και φθηνή.
- ⇒ Διαθέτει επιθυμητή διαλυτότητα στα υγρά του γαστρεντερικού σωλήνα και σε υδατικά και μη υδατικά μέσα (διαλυτό σε ψυχρό νερό, και σε μίγματα αιθανόλης/διχλωρομεθανίου και μεθανόλης/διχλωρομεθανίου)
- ⇒ Έχει την ικανότητα σχηματισμού γέλης.
- ⇒ Διαθέτει την ικανότητα ενσωμάτωσης υψηλού ποσοστού φαρμάκου.
- ⇒ Διαθέτει ευκαμψία και μηχανική αντοχή, καθώς και σταθερότητα, παρουσία θερμότητας, φωτός, αέρα και λογικά επίπεδα υγρασίας.
- ⇒ Δεν επηρεάζει τον καταθρυμματισμό των δισκίων.
- ⇒ Εμφανίζει πλεονεκτήματα από άποψη κόστους – αποτελεσματικότητας.
- ⇒ Η συμπεριφορά του είναι ανεξάρτητη από το pH.
- ⇒ Αποτελεί έκδοχο κατάλληλο για απ' ευθείας συμπίεση και γενικότερα παρέχει τη δυνατότητα παρασκευής συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης με συμβατικές μεθόδους, χωρίς να απαιτείται ειδικός εξοπλισμός.
- ⇒ Η διαθεσιμότητά του στο εμπόριο σε μεγάλη ποικιλία ειδών, που διαφέρουν ως προς τους υποκαταστάτες της κυτταρίνης και σε μεγάλη ποικιλία τύπων, με διαφορετικό μοριακό βάρος είναι μεγάλη, γεγονός που προσφέρει ευελιξία στην προσπάθεια για επίτευξη του επιθυμητού ρυθμού αποδέσμευσης.

⇒ Στα υμένιά του μπορούν να προστεθούν χωρίς πρόβλημα χρωστικές και άλλες βοηθητικές ουσίες (Αντιμησιάρη Σ., 1989; Εικοσιπεντάκη Αφ., 2011).

Γενικά, οι ιδιότητες του HPMC πλησιάζουν αυτές του ιδεώδους υλικού για τον σχηματισμό υμενίου επικάλυψης. Όταν χρησιμοποιείται μόνο του έχει την τάση να δημιουργεί γέφυρες ή να γεμίζει τα χαραγμένα σημάδια ταυτοποίησης στην επιφάνεια των δισκίων. Γι' αυτό χρησιμοποιείται σε μίγμα με κατάλληλους πλαστικοποιητές (Αντιμησιάρη Σ., 1989).

Η υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη (HPMC) είναι μία μερικώς *O*-μεθυλιωμένη και *O*-(2-υδροξυπροπυλιωμένη) κυτταρίνη, με διαφορετικό βαθμό υποκατάστασης και αναλογίας των δύο υποκαταστατών μεταξύ των διαφόρων ειδών HPMC. Είναι διαλυτή στο νερό και σχηματίζει ένα ιξώδες κολλοειδές διάλυμα. Σε υδατικό διάλυμα 2% στους 20 °C το ιξώδες κυμαίνεται από 2,4 έως 120.000 mPas. Υψηλοί βαθμοί ιξώδους μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να παρατείνουν την αποδέσμευση υδατοδιαλυτών φαρμάκων από ένα σύστημα μήτρας (Εικοσιπεντάκη Αφ., 2011).



Σχήμα 5.3: Η δομή της υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης (HPMC)

Εμφανίζει θερμοκρασία διάλυσης < 40 °C. Ο ρυθμός ενυδάτωσης, διόγκωσης και σχηματισμού γέλης του HPMC είναι ταχύτατος, ενώ ο τύπος του HPMC φαίνεται να έχει μικρή επίδραση στο ρυθμό αυτό. Αντίθετα, ο ρυθμός διάβρωσης εξαρτάται άμεσα από τον χρησιμοποιούμενο τύπο. Η αποδέσμευση ουσιών από μήτρες HPMC είναι ανεξάρτητη από το pH. Είναι διαλυτό στους περισσότερους πολικούς οργανικούς διαλύτες, αλλά αδιάλυτο στο καθαρό χλωροφόρμιο, την αιθανόλη και τον αιθέρα.

Ο ρυθμός αποδέσμευσης από συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, με βασικό πολυμερές το HPMC, εξαρτάται από ένα συνδυασμό των διαδικασιών

ενυδάτωσης, διόγκωσης, διάλυσης του φαρμάκου, διάχυσης και διάβρωσης. Σε γενικές γραμμές, οι ευδιάλυτες ουσίες φαίνεται να αποδεσμεύονται κυρίως μέσω διάχυσης, ενώ η αποδέσμευση των δυσδιάλυτων καθορίζεται συνήθως από τη διάβρωση του πολυμερούς.

Ένα από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά του πολυμερούς είναι η αυξημένη διόγκωση, η οποία έχει ουσιαστική επίδραση στην κινητική αποδέσμευσης του φαρμάκου. Δύο βασικά γνωρίσματα περιγράφουν αυτή τη διόγκωση: α) η αλλαγή του όγκου, που επιφέρει δραστική μεταβολή στη συγκέντρωση όλων των συστατικών του συστήματος και β) η αυξημένη κινητικότητα των μακρομορίων, που οδηγεί σε αυξανόμενη διάχυση νερού και φαρμάκου (Bettini R. Et al, 2001). Ο υψηλός βαθμός διόγκωσης οφείλεται στην παρουσία των υδροξυπροπυλομάδων, οι οποίες αυξάνουν τον υδρόφιλο χαρακτήρα του μορίου.

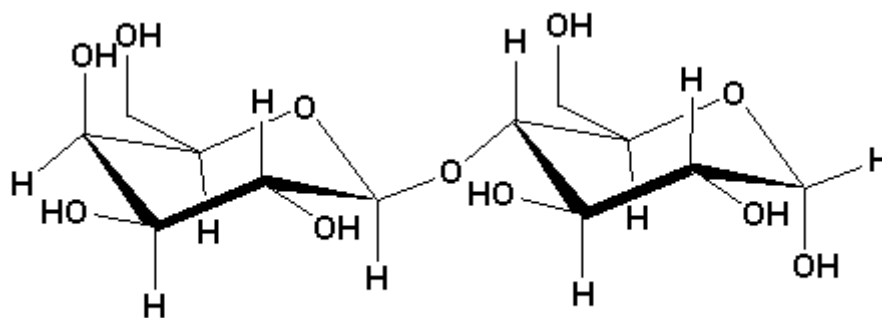
Ο καθηγητής Colombo και οι συνεργάτες του, που ανέλυσαν τον μηχανισμό αποδέσμευσης από μήτρες HPMC, κατέληξαν στο ότι τα υψηλής διαλυτότητας φάρμακα από δισκία υψηλού ιξώδους HPMC ακολουθούν μηχανισμό αποδέσμευσης, ο οποίος ελέγχεται από διόγκωση και διάχυση, ενώ για της χαμηλής διαλυτότητας δραστικές και δισκία χαμηλού ιξώδους HPMC, ο ρυθμός διάλυσης του πολυμερούς διαδραματίζει σημαντικότερο ρόλο (Bettini R. Et al, 2001).

Η Αμερικανική Φαρμακοποιία (USP) διακρίνει τέσσερις διαφορετικούς τύπους HPMC, που ταξινομούνται με βάση το βαθμό της μεθοξυ- και υδροξυπροπυλο-υποκατάστασης: HPMC 1828, HPMC 2208 (Methocel K), HPMC 2906 (Methocel F) και HPMC 2910 (Methocel E). Οι δύο πρώτοι αριθμοί υποδηλώνουν το ποσοστό της μεθοξυ-υποκατάστασης, ενώ οι δύο τελευταίοι το ποσοστό των υδροξυπροπυλομάδων. Τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα είναι το HPMC 2910 (Methocel E) και το HPMC 2208 (Methocel K) (Xiaoguang Wen et al., 2010; Honkanen Outi et al., 2004).

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το HPMC K 15M, όπου το K χαρακτηρίζει το πολυμερές ανάλογα με το σημείο σχηματισμού γέλης σε 2% διάλυμα στους 20 °C, και το 15M (15.000) το βαθμό ιξώδους.

5.4. Μονοϋδρική Λακτόζη (Lactose monohydrate)

Η λακτόζη είναι ένας φυσικός δισακχαρίτης που προέρχεται από το γάλα και δημιουργείται από τη συνένωση του μονομερούς γαλακτόζης με αυτό της γλυκόζης με β -1,4-γλυκοζιδικό δεσμό. Εμφανίζεται σε διάφορες πολυμορφικές μορφές από τις οποίες αυτές που χρησιμοποιούνται περισσότερο είναι η κρυσταλλική μορφή (άνυδρη ή ένυδρη) και η “spray dried” ξηρανθείσα με ψεκασμό (Εφεντάκης Μ., 2004). Κάθε πολυμορφική μορφή έχει συγκεκριμένες ιδιότητες. Η μονοϋδρική λακτόζη έχει μεγάλους κρυστάλλους και είναι μη υγροσκοπική (Gohel M.C. et al, 2005). Είναι το πιο συνηθισμένο αραιωτικό και η μονοϋδρική λακτόζη συνδυάζεται σε μεγάλο βαθμό με την μικροκρυσταλλική κυτταρίνη, το άμυλο και τα διάφορα λιπαντικά. Η περιεκτικότητα της λακτόζης σε τέτοιες συνταγές μπορεί να φτάσει το 65-85% (Εφεντάκης Μ., 2004). Ο συνδυασμός της με την μικροκρυσταλλική κυτταρίνη έχει ισχυρό συνεργιστικό αποτέλεσμα στο χρόνο αποδέσμευσης, όπου η σκληρότητα του δισκίου αυξάνεται όσο αυξάνεται το ποσοστό της μικροκρυσταλλικής κυτταρίνης στο μίγμα. Η σκληρότητα των δισκίων που περιέχουν μονοϋδρική λακτόζη αυξάνεται με τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων της (Gohel M.C. et al, 2005). Η λακτόζη είναι ευδιάλυτη στο νερό και σπάνια εμφανίζει αλληλεπιδράσεις με φαρμακευτικές ουσίες είτε είναι στην άνυδρη είτε στην ένυδρη μορφή της.



Lactose

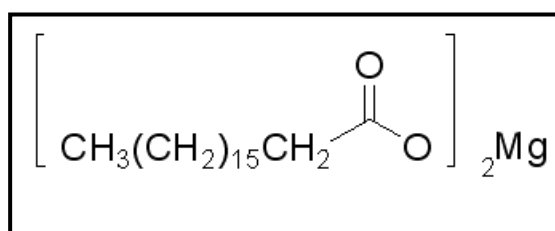
Σχήμα 5.4: Συντακτικός τύπος της λακτόζης

Προσοχή χρειάζεται κατά την αποθήκευσή της γιατί η ύπαρξη υγρασίας στο χώρο είναι δυνατόν να προκαλέσει αλλοιώσεις ή μεταβολές κατά τη συμπίεση ακόμα και ανάπτυξη μικροοργανισμών. Πρόσφατα διατίθεται στο εμπόριο παράγωγο της λακτόζης που περιέχει 25% κυτταρίνης με αυξημένη αποσαθρωτική ικανότητα με το όνομα cellactose (Εφεντάκης Μ., 2004).

5.5. Στεατικό Μαγνήσιο (Magnesium Stearate)

Τα μίγματα των κόνεων που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή των δισκίων απαιτούν συνήθως την προσθήκη λιπαντικών. Τα λιπαντικά χρησιμοποιούνται για δυο λόγους, 1) για αποφυγή της επικόλλησης τεμαχιδίων/κόκκων πάνω στην επιφάνεια των εμβόλων και το τοίχωμα της μήτρας κατά την δισκιοποίηση και 2) για τη βελτίωση των ιδιοτήτων ροής των τεμαχιδίων/κόκκων που πρόκειται να συμπιεσθούν προς δισκία, ελαττώνοντας τις τριβές και βοηθώντας με αυτό τον τρόπο στην ομοιόμορφη διευθέτηση των τεμαχιδίων/κόκκων κατά την πλήρωση της μήτρας, στην εξαγωγή του δισκίου (άθικτου) από την μήτρα μετά την συμπίεση και στην επίτευξη ομοιομορφίας βάρους στα παραγόμενα δισκία.

Το στεατικό μαγνήσιο (άλας μαγνησίου του οκταδεκανοϊκού οξέος) είναι λευκή κόνις σταθερή σε θερμοκρασία δωματίου. Έχει χημικό τύπο $\text{Mg}(\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{O}_2)_2$, είναι αδιάλυτο στο νερό με σημείο τήξης 88°C . Δημιουργεί μια υδρόφοβη επιφάνεια με γωνία επαφής 121° . Θεωρείται μη τοξικό και χρησιμοποιείται συχνά και ως αραιωτικό για την παρασκευή δισκίων, καψουλών και κόνεων. Ωστόσο, έχει σημαντικές λιπαντικές ιδιότητες δίνοντας καλές ιδιότητες ροής στους κόκκους κατά την μετακίνηση τους μέσα στη δισκιοποιητική μηχανή. Αποτελεί το πλέον συχνά χρησιμοποιούμενο λιπαντικό κατά την παρασκευή στερεών φαρμακοτεχνικών μορφών.

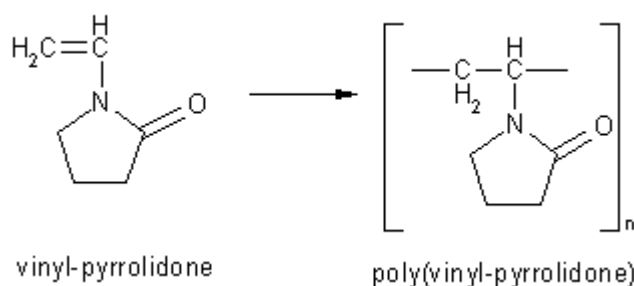


Σχήμα 5.5: Ο χημικός τύπος του στεατικού μαγνησίου.

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι το στεατικό μαγνήσιο μπορεί να επηρεάσει το χρόνο αποδέσμευσης της φαρμακευτικής ουσίας από το δισκίο χωρίς να μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα της ουσίας. Αυτό γίνεται γιατί λόγω του υδρόφοβου χαρακτήρα του είναι δυνατόν να μειώσει τη διαβρεκτικότητα των δισκίων παρατείνοντας συνεπώς τη διαλυτοποίηση και την αποδέσμευση της φαρμακευτικής ουσίας. (Uzunovic A et al, 2007).

5.6. Πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP)

Λευκή, υποκίτρινη, υγροσκοπική άμορφη σκόνη. Είναι πολυμερές που δημιουργείται από το μονομερές *N*-βινυλοπυρρολιδόνη είτε στο νερό είτε στην ισοπροπανόλη.



Σχήμα 5.6: Πολυμερισμός *N*-βινυλοπυρρολιδόνης σε πολυβινυλοπυρρολιδόνη

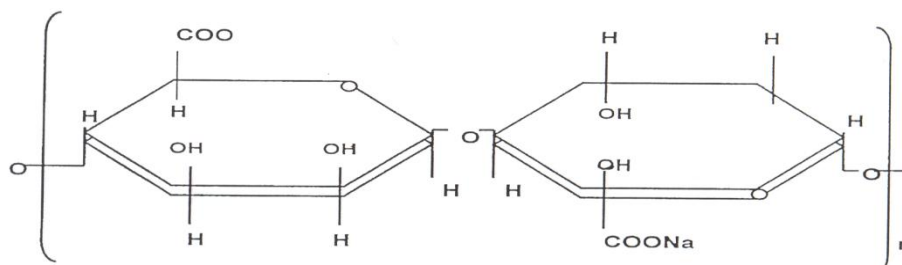
Η πολυβινυλοπυρρολιδόνη έχει πολύ καλή διαλυτότητα στο νερό, στα γαστρεντερικά υγρά και σε πολλούς οργανικούς διαλύτες (π.χ. αιθανόλη, μεθανόλη, χλωροφόρμιο). Όταν είναι ξηρή σκόνη μπορεί να απορροφήσει σχεδόν μέχρι 40% του βάρους της την υγρασία της ατμόσφαιρας. Σε διάλυμα εμφανίζει εξαιρετική ικανότητα διαβροχής και δημιουργεί film, γεγονός που την καθιστά ιδανική για επικάλυψη. Χρησιμοποιείται ως συνδετικό σε δισκία. Η διαλυτότητα της πολυβινυλοπυρρολιδόνης σε διάφορους διαλύτες, της επιτρέπει να χρησιμοποιείται ως πυκνωτικό (thickener) σε υδατικά/αλκοολικά διαλύματα. Επίσης, έχει εξαιρετική βιοπροσκολλητικότητα και λόγω του γεγονότος ότι είναι μη τοξική ουσία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για προσκόλληση σε δέρμα και βλεννογόνους. Χρησιμοποιείται λόγω χάριν σε διαδερμικά συστήματα, σε γέλες και έμπλαστρα στόματος.

Πρωτοσυντέθηκε από τον καθηγητή Reppe το 1939 και στο δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο χρησιμοποιήθηκε ως υποκατάστατο πλάσματος του αίματος. Παρόλο που είχε εξαιρετικές ιδιότητες για αυτό το σκοπό, δεν χρησιμοποιείται πλέον για παρεντερική χρήση γιατί ο οργανισμός δεν μπορεί να μεταβολίσει όλο το πολυμερές με αποτέλεσμα μικρές ποσότητες μεγαλομοριακού πολυμερούς να παραμένουν στο σώμα. Αυτό το πρόβλημα δεν υφίσταται με την *per os* χορήγηση. Σήμερα, η πολυβινυλοπυρρολιδόνη είναι ένα από τα πιο ευέλικτα και πιο ευρέως

χρησιμοποιούμενα φαρμακευτικά βοηθητικά έκδοχα. Το PVP έχει τη δυνατότητα να ενώνεται με πολλές ουσίες, δημιουργώντας συμπλέγματα, μειώνοντας έτσι την τοξικότητα των ουσιών με τις οποίες ενώνεται. Επί παραδείγματι, το PVP ενωμένο με ιώδιο δημιουργεί το σύμπλεγμα που ονομάζεται povidone-iodine, το γνωστό τοπικό αντισηπτικό Betadine (Bühler Volker, 2005). Διατίθεται στο εμπόριο σε πολλά μοριακά βάρη. Η ποβιδόνη είναι πολύ κολλώδης, όμως είναι δυνατόν να τροποποιηθούν οι ιδιότητές της με τη χρήση πλαστικοποιητών, εναιωρημένων κόνεων ή άλλων πολυμερών (Αντιμησιάρη Σ., 1989).

5.7. Αλγινικό νάτριο (Sodium alginate)

Το αλγινικό νάτριο είναι ένας φυσικός υδρόφιλος πολυσακχαρίτης, που προέρχεται από φύκη. Είναι το μετά νατρίου άλας του αλγινικού οξέος και το κυριότερο εμπορικό, υδατοδιαλυτό άλας του. Συνιστά ένα υψηλού μοριακού βάρους γραμμικό τυχαίο συμπολυμερές, που αποτελείται από μονάδες *D*-μαννουρονικού και *L*-υαλουργονικού οξέος ενωμένων με (1 → 4) γλυκοζιτικούς δεσμούς.



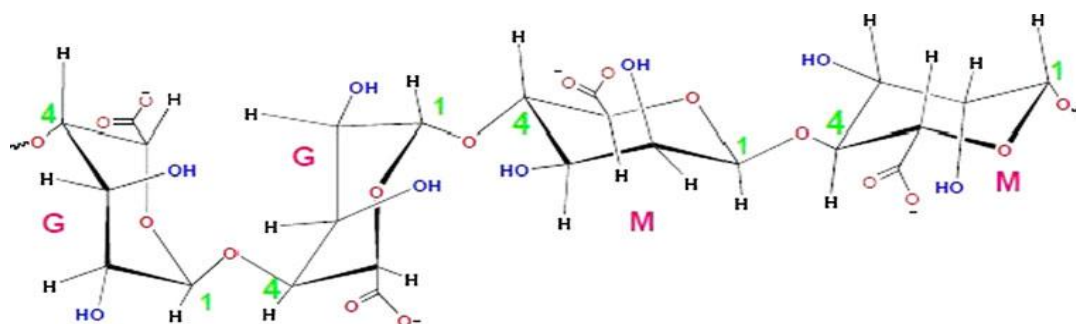
Σχήμα 5.7: Συντακτικός χημικός τύπος αλγινικού νατρίου

Δίνει pH 7,2 σε ένα 1% κ.ό υδατικό διάλυμα. Είναι πρακτικά αδιάλυτο στην αιθανόλη, στον αιθέρα και σε μίγματα αιθανόλης – νερού, στα οποία το ποσοστό της αιθανόλης είναι μεγαλύτερο από 30%. Επίσης, πρακτικά αδιάλυτο σε οργανικούς διαλύτες και οξέα, στα οποία το pH του διαλύματος που προκύπτει είναι λιγότερο από 3. Διαλύεται βραδέως στο νερό και δίνει ιξώδη κολλοειδή διαλύματα.

Στο εμπόριο κυκλοφορούν διάφοροι τύποι αλγινικού νατρίου, οι οποίοι δίνουν διαλύματα με ποικίλα ιξώδη. Γενικά ένα υδατικό διάλυμα 1% κ.ό. στους 20 °C αποφέρει ιξώδες 20-400 mPas (20-400cP). Το ιξώδες αυξάνεται με την αύξηση

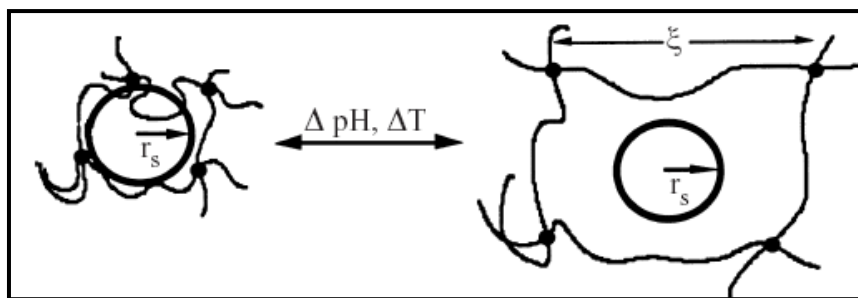
της συγκέντρωσης του αλγινικού νατρίου (0,5% κ.ό υδατικό διάλυμα: ιξώδες 20 mPas, 2% κ.ό υδατικό διάλυμα : ιξώδες 2000 mPas).

Αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί μείωση του ιξώδους (αύξηση κατά 1°C οδηγεί σε 2,5% μείωση του ιξώδους). Στις μικρές συγκεντρώσεις το ιξώδες του αυξάνεται με την προσθήκη ενός ασβεστούχου άλατος, όπως κιτρικό ασβέστιο. Τέλος, σε τιμές pH πάνω από 10, το ιξώδες μειώνεται. Αυτό οφείλεται στους προκαλούμενους διασταυρούμενους δεσμούς (cross-linking), που οδηγεί σε αύξηση του MB του πολυμερούς (Εικοσιπεντάκη Αφ., 2011).



Σχήμα 5.8: Δομή της αλγινικής αλυσίδας

Το αλγινικό νάτριο χρησιμοποιείται ευρέως σε πολλές *per os* χορηγούμενες φαρμακοτεχνικές μορφές. Στην παρασκευή δισκίων χρησιμοποιείται ως συνδετικό και αποσθρωτικό. Μια σπουδαία ιδιότητα των αλγινικών αλάτων είναι η ικανότητά τους να σχηματίζουν γέλες ανταλλάσσοντας τα ιόντα Na^+ με δισθενή, κυρίως ιόντα Ca^{2+} ή πολυσθενή μεταλλικά ιόντα. Η δημιουργία γέλης ή σταυροδεσμών εξαρτάται από το πλήθος των μονάδων υαλουρονικού οξέος στις αλυσίδες του πολυμερούς. Όταν το αλγινικό νάτριο έρθει σε επαφή με υδατικά συστήματα σχηματίζει ταχύτατα παχύρευστα διαλύματα ή γέλες. Η ιδιότητα αυτή είναι πρωταρχικής σημασίας για τη φαρμακευτική τεχνολογία, δεδομένου ότι το αλγινικό νάτριο χρησιμοποιείται κατ' εξοχήν ως υλικό για την παρασκευή υδρόφιλων συστημάτων τύπου μήτρας ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκου. Μήτρες αποτελούμενες από αλγινικό άλας ή συνδυασμό αλάτων χρησιμοποιούνται σε συστήματα παρατεταμένης αποδέσμευσης πολλών φαρμάκων *in vitro* και *in vivo* (Ghahramanpoor M.K. et al, 2011).



Σχήμα 5.9: Δημιουργία γέλης, καθώς το δισκίο έρχεται σε επαφή με το υδατικό διάλυμα. Η δημιουργία της γέλης επηρεάζεται από την μεταβολή του pH και της θερμοκρασίας.

Όταν το δισκίο τύπου μήτρας, που περιέχει αλγινικό νάτριο συναντά νερό ή κάποιο βιολογικό υγρό, ενυδατώνεται και διογκώνεται σχηματίζοντας μία παχύρρευστη υδροκολλοειδική στοιβάδα που διαλύεται σχετικά αργά. Η αντοχή και η σταθερότητα της στοιβάδας γέλης εξαρτώνται από τη χημική δομή του πολυμερούς μορίου. Έχει βρεθεί ότι όταν το μόριο του πολυμερούς είναι πλούσιο σε μονάδες β -D-μαννουρονικού οξέος, είναι πιο αποτελεσματικό σε ότι αφορά την ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμάκου από συστήματα τύπου μήτρας, σε όξινες συνθήκες, καθώς η μορφή αυτή, ενυδατώνεται ταχύτατα σε χαμηλό pH.

Τα αλγινικά άλατα χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων και για την παραγωγή γαλακτοκομικών προϊόντων. Επίσης, χρησιμοποιούνται στη φαρμακευτική και τη βιομηχανία καλλυντικών ως σταθεροποιητές σε γαλακτώματα και ως υλικά επικάλυψης (Technical Information). Χρησιμοποιείται στη βιομηχανία παραγωγής μέσων αδυνατίσματος ως καταστολέας της όρεξης. Χρησιμοποιείται, επίσης, ευρέως σε από του στόματος χορηγούμενες και τοπικά εφαρμοζόμενες φαρμακοτεχνικές μορφές. Επίσης, έχει χρησιμοποιηθεί και σε από του στόματος χορηγούμενες μορφές παρατεταμένης αποδέσμευσης, αφού μπορεί να καθυστερεί τη διαλυτοποίηση του φαρμάκου από τα δισκία και τα υδατικά εναιωρήματα. Πρόσφατες εφαρμογές του αλγινικού νατρίου αποτελούν τη χρησιμοποίηση του δικτυωτού πλέγματος του μορίου ως μέσου ακινητοποίησης ή ως προστατευτικής μεμβράνης για ζωντανά κύτταρα (Τσιακούλια Αθ., 2007).

6. ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Τα *per os* χορηγούμενα σκευάσματα και ιδιαίτερα τα δισκία, αποτελούν το 90% περίπου των χρησιμοποιούμενων φαρμακοτεχνικών μορφών. Ειδικότερα, τα δισκία ελεγχόμενης αποδέσμευσης αποτελούν τις καταλληλότερες φαρμακοτεχνικές μορφές, καθώς τα συστήματα αυτά παρέχουν τη δυνατότητα τροποποίησης του ρυθμού αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας βελτιώνοντας τα φαρμακολογικά αποτελέσματά της.

Ο στόχος της παρούσας εργασίας είναι διττός και περιλαμβάνει αφενός την παρασκευή δισκίων ελεγχόμενης αποδέσμευσης με ταχύ αρχικό ρυθμό αποδέσμευσης (burst effect) προς αντιμετώπιση προβλημάτων έναρξης ύπνου (sleep onset) και αφετέρου την παρασκευή δισκίων ελεγχόμενης αποδέσμευσης με σχετικά βραδύ αρχικό ρυθμό για τη βελτίωση της ποιότητας του ύπνου (sleep quality ή maintenance). Και στις δύο περιπτώσεις επιδιώκεται η ολοκλήρωση της αποδέσμευσης της εναπομείνουσας ποσότητας της ορμόνης εντός οχτώ ωρών.

Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ
ΜΕΘΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ακολουθεί αναφορά και περιγραφή των υλικών, των συσκευών που χρησιμοποιήθηκαν, καθώς και των πειραματικών μεθόδων και υπολογισμών που εφαρμόστηκαν κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους.

2. ΥΛΙΚΑ-ΟΡΓΑΝΑ

2.1. ΥΛΙΚΑ

-  Μελατονίνη (MP Biomedicals, lot 88067)
-  Υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη (HPMC K 15M)
-  Αλγινικό νάτριο χαμηλού ιξώδους (2% viscosity Sigma)
-  Μικροκρυσταλλική κυτταρίνη (Avicel PH 102)
-  Στεατικό Μαγνήσιο (Riedel-De Haen)
-  Δεξτράνη (Dextran from Leuconostoc mesederoides-Sigma)
-  Μονοϋδρική Λακτόζη (Merck)
-  Πολυβινυλοπυρρολιδόνη χαμηλού μοριακού βάρους (PVP MW:10000) (Aldrich)
-  Πολυβινυλοπυρρολιδόνη υψηλού μοριακού βάρους (PVP MW:55000) (Aldrich)
-  KH_2PO_4 (Merck)
-  NaOH (Merck)
-  HCl πυκνό (Merck)
-  NaCl (Panreac)

2.2. ΟΡΓΑΝΑ-ΣΥΣΚΕΥΕΣ

-  Συσκευή υπερήχων (Branson)
-  Ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας (Mettler Toledo)
-  Αναμικτήρας κόνεων (Wab Turbula Type T2F)
-  Υδραυλική πρέσσα συμπίεσης δισκίων (Carver 3393)
-  Συσκευή μέτρησης σκληρότητας δισκίων (Erweka TBH 28)
-  Συσκευή διάλυσης (Pharma Test Type PTW SIII)
-  Φασματοφωτόμετρο UV-Vis (Shimadzu UV-1700 PharmaSpec)
-  Φίλτρα κυτταρίνης 0,45 μm (Titan 2 HPLC Filter-Lt Brown)
-  Σύριγγες μιας χρήσης 5ml (Nipro)

3. ΜΕΘΟΔΟΙ

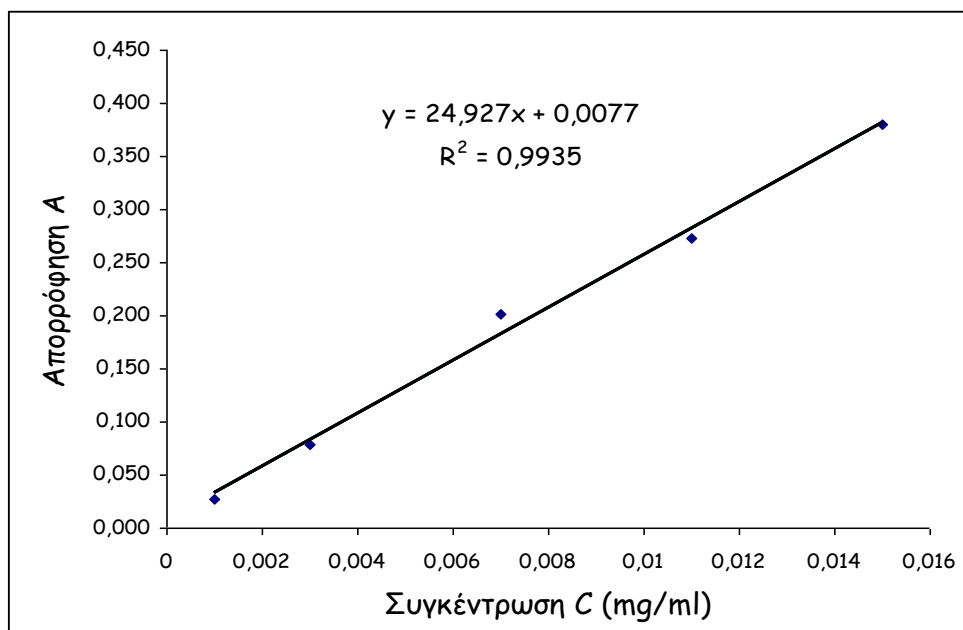
3.1. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ-ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Η παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων έγινε κατά τέτοιο τρόπο, ώστε η καμπύλη αναφοράς που προκύπτει στο φασματοφωτόμετρο UV-Vis να καλύπτει όλη την περιοχή απορροφήσεων που μπορούν να προκύψουν κατά τον υπολογισμό της αποδέσμευσης από τα δισκία.

Αρχικά παρασκευάστηκε μητρικό διάλυμα με διάλυση 50 mg μελατονίνης σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και αραιώση με ρυθμιστικό διάλυμα pH 7.4 και 1.2. Η φιάλη τοποθετήθηκε σε συσκευή υπερήχων για την πλήρη διάλυση της ουσίας, οπότε και προέκυψε διάλυμα συγκεντρώσεως 0.5 $\mu\text{g/ml}$. Από το μητρικό διάλυμα προέκυψαν με διαδοχικές αραιώσεις, οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων που μετρήθηκαν στο φασματοφωτόμετρο για τη δημιουργία της καμπύλης αναφοράς.

Πίνακας 3.1: Απορροφήσεις των πρότυπων διαλυμάτων που παρασκευάστηκαν για τη λήψη της καμπύλης αναφοράς σε pH=1.2.

C (mg/ml)	A
0.001	0.027
0.003	0.078
0.007	0.202
0.011	0.273
0.015	0.380

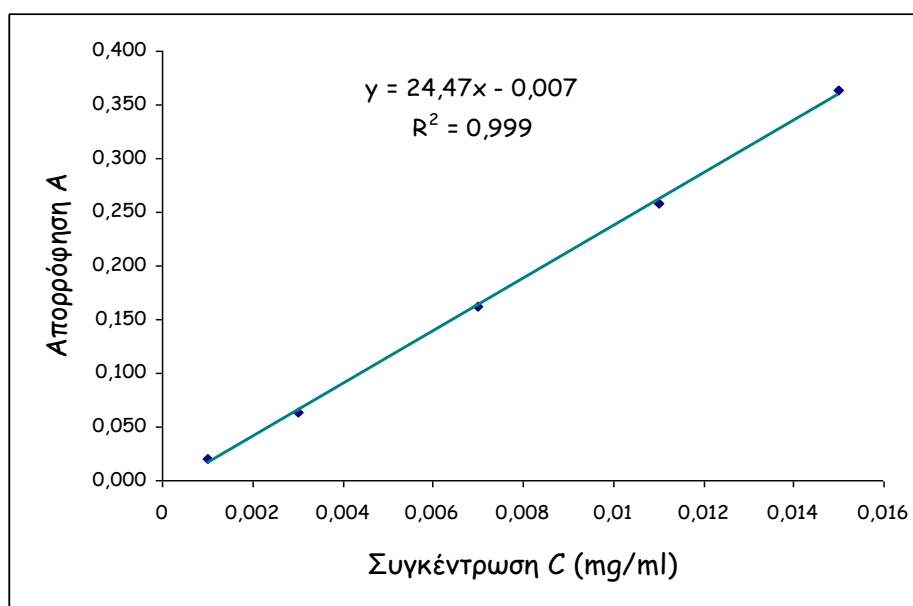


Σχήμα 3.1: Ενδεικτική καμπύλη αναφοράς της μελατονίνης σε ρυθμιστικό διάλυμα με $pH=1.2$

Η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς είναι $y=24.927x+0.0077$ και το $R^2=0.9935$

Πίνακας 3.2: Απορροφήσεις των πρότυπων διαλυμάτων που παρασκευάστηκαν για τη λήψη της καμπύλης αναφοράς για $pH=7.4$.

C (mg/ml)	A
0.001	0.020
0.003	0.064
0.007	0.162
0.011	0.258
0.015	0.363



Σχήμα 3.2: Ενδεικτική καμπύλη αναφοράς της μελατονίνης σε ρυθμιστικό διάλυμα με pH=7,4

Η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς είναι $y=24.47x-0.007$ και το $R^2=0.999$

3.2. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΣΚΙΩΝ

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των δισκίων, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στις μελέτες της παρούσας εργασίας, είναι η ακόλουθη:

1. Ζύγιση όλων των συστατικών σε ζυγό ακριβείας
2. Ανάμιξη των συστατικών στον αναμικτήρα για 15 λεπτά στις 32 στροφές/λεπτό
3. Ζύγιση της επιθυμητής μάζας του δισκίου στο ζυγό (σύνολο 200 mg/δισκίο) και τοποθέτηση της ποσότητας αυτής στην κατάλληλη μήτρα
4. Απευθείας συμπίεση σε υδραυλική πρέσα με τέτοια πίεση ώστε η προκύπτουσα σκληρότητα των δισκίων να κυμαίνεται μεταξύ 8-10 Kp. Η κατάλληλη πίεση για τα δισκία της κάθε συνταγής υπολογίστηκε αφού προηγουμένως είχαν παρασκευαστεί δισκία πανομοιότυπα και ελεγχθεί στο σκληρόμετρο. Όλα τα δισκία τα οποία παρασκευάστηκαν ήταν κυλινδρικού σχήματος.

Στους πίνακες που ακολουθούν αναφέρονται οι συνταγές των δισκίων που παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν. Η διάμετρος των δισκίων που παρασκευάστηκαν ήταν σε όλες τις περιπτώσεις 10 mm.

ΣΥΝΤΑΓΗ 1

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΒΑΡΟΣ (mg)	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ(%)
Melatonin	2	1
Dextran	32	16
Sodium Alginate (low viscosity)	144	72
Avicel PH 102	20	10
Magnesium Stearate	2	1
Σύνολο	200	100

ΣΥΝΤΑΓΗ 2

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΒΑΡΟΣ (mg)	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ(%)
Melatonin	2	1
Dextran	16	8
HPMC K 15M	16	8
Sodium Alginate (low viscosity)	144	72
Avicel PH 102	20	10
Magnesium Stearate	2	1
Σύνολο	200	100

ΣΥΝΤΑΓΗ 3

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΒΑΡΟΣ (mg)	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ(%)
Melatonin	2	1
Dextran	16	8
Lactose monohydrate	16	8
Sodium Alginate (low viscosity)	144	72
Avicel PH 102	20	10
Magnesium Stearate	2	1
Σύνολο	200	100

ΣΥΝΤΑΓΗ 4

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΒΑΡΟΣ (mg)	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ(%)
Melatonin	2	1
Lactose monohydrate	32	16
Sodium Alginate (low viscosity)	144	72
Avicel PH 102	20	10
Magnesium Stearate	2	1
Σύνολο	200	100

ΣΥΝΤΑΓΗ 5

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΒΑΡΟΣ (mg)	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ(%)
Melatonin	2	1
Lactose monohydrate	16	8
HPMC K 15M	16	8
Sodium Alginate (low viscosity)	144	72
Avicel PH 102	20	10
Magnesium Stearate	2	1
Σύνολο	200	100

ΣΥΝΤΑΓΗ 6

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΒΑΡΟΣ (mg)	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ(%)
Melatonin	2	1
Lactose monohydrate	52	26
Sodium Alginate (low viscosity)	144	72
Magnesium Stearate	2	1
Σύνολο	200	100

ΣΥΝΤΑΓΗ 7

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΒΑΡΟΣ (mg)	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ(%)
Melatonin	2	1
PVP (M.B: 10000)	52	26
Sodium Alginate (low viscosity)	144	72
Magnesium Stearate	2	1
Σύνολο	200	100

ΣΥΝΤΑΓΗ 8

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΒΑΡΟΣ (mg)	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ(%)
Melatonin	2	1
PVP (M.B: 55000)	52	26
Sodium Alginate (low viscosity)	144	72
Magnesium Stearate	2	1
Σύνολο	200	100

ΣΥΝΤΑΓΗ 9

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΒΑΡΟΣ (mg)	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ(%)
Melatonin	2	1
PVP (M.B: 10000)	26	13
Lactose monohydrate	26	13
Sodium Alginate (low viscosity)	144	72
Magnesium Stearate	2	1
Σύνολο	200	100

ΣΥΝΤΑΓΗ 10

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΒΑΡΟΣ (mg)	ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ(%)
Melatonin	2	1
PVP (M.B: 55000)	26	13
Lactose monohydrate	26	13
Sodium Alginate (low viscosity)	144	72
Magnesium Stearate	2	1
Σύνολο	200	100

3.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ ΑΠΟ ΤΑ ΔΙΣΚΙΑ

Η αποδέσμευση της μελατονίνης από τα προαναφερθέντα δισκία προσδιορίστηκε σε συσκευή διάλυσης, με τη μέθοδο του περιστρεφόμενου περυγίου και επακόλουθη μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis. Χρησιμοποιήθηκαν:

- ποτήρια κυλινδρικού σχήματος με σφαιρικό πυθμένα, ύψους 16 cm και εσωτερικής διαμέτρου 10 cm.
- ρυθμιστικό διάλυμα pH 1.2 και 7.4 όγκου 450 ml
- θερμοκρασία 37 ± 0.5 °C

Η περιστροφή των περυγίων ρυθμίστηκε σε 50 στροφές/λεπτό. Η δειγματοληψία γινόταν κάθε μισή ώρα για τις πρώτες 3 ώρες και στη συνέχεια κάθε μία ώρα μέχρι τη συμπλήρωση των 8 ωρών. Ο όγκος του δείγματος ήταν 5 ml και μετά από τη δειγματοληψία η ποσότητα αυτή αντικαθίστατο με 5 ml ρυθμιστικού

διαλύματος, προκειμένου να παραμείνει σταθερός ο όγκος καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Στη συνέχεια ακολουθούσε διήθηση των δειγμάτων από φίλτρα κυτταρίνης, διαμέτρου 0.45 mm, ώστε να προσδιοριστεί η απορροφητικότητα του διηθήματος με φασματοφωτόμετρο UV-Vis. Η μέτρηση της μέγιστης απορρόφησης των διαλυμάτων των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε μήκος κύματος $\lambda_{\max}=278$ nm και μετά από σύγκριση με τη μέγιστη απορρόφηση της αντίστοιχης συγκέντρωσης του διαλύματος αναφοράς προσδιορίστηκε ποσοτικά η αποδεσμευμένη δραστική ουσία.

Ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων των διαλυμάτων αυτών έγινε με βάση τις προαναφερθείσες καμπύλες αναφοράς.

4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

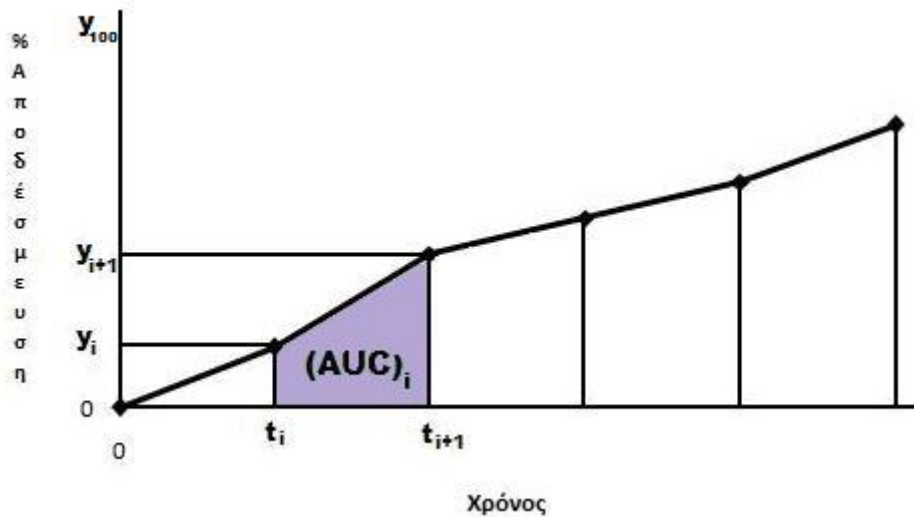
Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ANOVA P) έγινε με τη χρήση του λογισμικού GraphPad Prism 5.00. Τιμές $p>0,05$ αναφέρονται σε στατιστικά μη σημαντικές διαφορές, ενώ τιμές $p<0,05$ σε στατιστικά σημαντικές. Αναλυτικοί πίνακες ANOVA P παρατίθενται στο παράρτημα.

Με τον όρο AUC (Area Under Curve) ορίζουμε το συνολικό εμβαδό της επιφάνειας που βρίσκεται μεταξύ της καμπύλης αποδέσμευσης-χρόνου και του οριζώντιου άξονα του χρόνου. Μαθηματικά εκφράζεται ως το ολοκλήρωμα:

$$AUC = \int_0^t y * dt$$

όπου, y το % ποσοστό της συνολικής ποσότητας της δραστικής ουσίας που έχει αποδεσμευτεί στη χρονική στιγμή t.

Ο υπολογισμός του AUC γίνεται με βάση τον κανόνα των τραπεζίων από το διάγραμμα αποδέσμευσης-χρόνου. Η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη αποδέσμευσης-χρόνου, μπορεί να διαιρεθεί σε τραπέζια, με την ένωση των πειραματικών σημείων μεταξύ τους με ευθείες γραμμές και με κάθετες ευθείες με τον άξονα του χρόνου.



Σχήμα 4.1: Απεικόνιση της μεθόδου εκτίμησης της παραμέτρου AUC_i με τη μέθοδο των τραπεζίων

Με βάση το σχήμα 2, το εμβαδό του κάθε τέτοιου τραπεζίου είναι:

$$AUC_i = \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} * (t_{i+1} - t_i)$$

Το συνολικό εμβαδό της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη αποδέσμευσης χρόνου είναι το άθροισμα των επί μέρους επιφανειών (τραπεζίων), δηλαδή:

$$AUC = \sum_{i=0}^{n-1} AUC_i$$

όπου, n είναι ο αριθμός των πειραματικών σημείων.

Ο συντελεστής επάρκειας διάλυσης (Dissolution Efficiency) (D.E%) αποτελεί το λόγο της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη αποδέσμευσης-χρόνου προς την επιφάνεια του ορθογωνίου που ορίζεται από το 100% της αποδέσμευσης και της χρονικής στιγμής για την οποία γίνεται ο υπολογισμός του συντελεστή.

Η μαθηματική έκφραση του Dissolution Efficiency είναι η ακόλουθη:

$$D.E\% = \frac{AUC}{y_{100}t} * 100\%$$

όπου, y_{100} το 100% της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας και t ο χρόνος της τελευταίας δειγματοληψίας.

Ο δείκτης D.E% επιτρέπει την εκτίμηση των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας αποδέσμευσης με μία μόνο αριθμητική τιμή, γεγονός που επιτρέπει την εύκολη σύγκριση μεταξύ διαφορετικών πειραμάτων αποδέσμευσης, καθώς και την εκτίμηση της επίδρασης της μεταβολής κάποιων παραγόντων στη συνολική αποδέσμευση.

5. ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΤΙΚΟΣ ΠΙΝΑΚΑΣ ΜΕ ΤΙΣ ΣΥΝΤΑΓΕΣ

[illegible]

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ ΑΠΟ ΔΙΣΚΙΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ

1.1. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 1 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 16% DEXTRAN ΚΑΙ 10% AVICEL PH 102

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα αποτελέσματα των τιμών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης από τρία δισκία της συνταγής 1 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ο μέσος όρος των τιμών τους, η σχετική απόκλιση (STDEV), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

Πίνακας 1.1: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 1 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	11.10	10.20	12.01	11.10	0.90	8.13
60	18.32	17.42	20.13	18.62	1.38	7.40
90	26.45	24.64	27.35	26.15	1.38	5.27
120	33.67	32.77	33.67	33.37	0.52	1.56
150	39.99	39.08	38.18	39.08	0.90	2.31
180	42.69	42.69	42.69	42.69	0.00	0.00
240	55.33	52.62	53.53	53.83	1.38	2.56
300	60.75	61.65	62.55	61.65	0.90	1.46
360	67.07	67.97	66.16	67.07	0.90	1.35
420	72.48	70.68	72.48	71.88	1.04	1.45
480	76.99	76.09	78.80	77.30	1.38	1.78

Αντίστοιχα, η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της ίδιας συνταγής μελετήθηκε και σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.

***Πίνακας 1.2:** % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 1 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4 σε συνάρτηση με το χρόνο*

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	8.28	6.44	8.28	7.66	1.06	13.86
60	9.19	8.28	11.95	9.81	1.91	19.52
90	11.95	11.03	17.47	13.49	3.48	25.81
120	17.47	19.31	24.83	20.54	3.83	18.64
150	22.99	37.70	33.10	31.26	7.53	24.07
180	28.50	40.46	39.54	36.17	6.65	18.39
240	43.22	57.01	56.09	52.10	7.71	14.80
300	64.36	77.24	66.20	69.27	6.96	10.05
360	71.72	81.83	80.00	77.85	5.39	6.92
420	82.75	96.55	99.31	92.87	8.87	9.55
480	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00

1.2. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 2 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 8% DEXTRAN, 8% HPMC K 15M ΚΑΙ 10% AVICEL PH 102

Η συνταγή 2 προέκυψε από την αντικατάσταση της μισής ποσότητας της Dextran, στη συνταγή 1, με HPMC K 15M, διατηρώντας την αναλογία δραστικής προς τα έκδοχα σταθερή και το συνολικό βάρος του δισκίου αμετάβλητο.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα των τιμών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης από τρία δισκία της συνταγής 2 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ο μέσος όρος των τιμών τους, η σχετική απόκλιση (STDEV), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

Πίνακας 1.3: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 2 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	9.30	7.49	8.39	8.39	0.90	10.75
60	14.71	14.71	12.01	13.81	1.56	11.32
90	19.23	18.32	17.42	18.32	0.90	4.93
120	27.35	24.64	24.64	25.54	1.56	6.12
150	32.77	32.77	30.96	32.16	1.04	3.24
180	39.99	39.08	39.99	39.69	0.52	1.31
240	54.43	51.72	52.62	52.92	1.38	2.61
300	59.84	59.84	59.84	59.84	0.00	0.00
360	67.97	67.07	67.07	67.37	0.52	0.77
420	72.48	69.77	70.68	70.98	1.38	1.94
480	76.99	74.29	75.19	75.49	1.38	1.83

Αντίστοιχα, η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της ίδιας συνταγής μελετήθηκε και σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.

Πίνακας 1.4: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 2 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	19.31	17.47	20.23	19.00	1.40	7.39
60	30.34	26.67	28.50	28.50	1.84	6.45
90	40.46	34.02	36.78	37.09	3.23	8.71
120	50.57	42.30	46.89	46.59	4.15	8.90
150	61.61	49.65	57.01	56.09	6.03	10.75
180	70.80	59.77	68.04	66.20	5.74	8.67
240	82.75	70.80	82.75	78.77	6.90	8.76
300	93.79	82.75	98.39	91.64	8.03	8.77
360	100.00	97.47	100.00	99.16	1.46	1.48
420	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00
480	-	-	-	-	-	-

1.3. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 3 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 8% DEXTRAN, 8% LACTOSE MONOHYDRATE ΚΑΙ 10% AVICEL PH 102

Η συνταγή 3 προέκυψε από την αντικατάσταση του HPMC στη συνταγή 2 με ίση ποσότητα Lactose monohydrate.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα των τιμών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης από τρία δισκία της συνταγής 3 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ο μέσος όρος των τιμών τους, η σχετική απόκλιση (STDEV), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

Πίνακας 1.5: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 3 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	5.69	4.78	4.78	5.08	0.52	10.25
60	16.52	12.01	12.01	13.51	2.61	19.29
90	21.03	20.13	19.23	20.13	0.90	4.48
120	27.35	27.35	28.25	27.65	0.52	1.88
150	37.28	37.28	37.28	37.28	0.00	0.00
180	44.50	45.40	43.60	44.50	0.90	2.03
240	54.43	52.62	58.04	55.03	2.76	5.01
300	60.75	60.75	63.46	61.65	1.56	2.54
360	69.77	67.97	69.77	69.17	1.04	1.51
420	76.09	75.19	77.90	76.39	1.38	1.80
480	78.80	79.70	78.80	79.10	0.52	0.66

Αντίστοιχα, η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της ίδιας συνταγής μελετήθηκε και σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.

***Πίνακας 1.6:** % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 3 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4 σε συνάρτηση με το χρόνο*

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	18.39	19.31	19.31	19.00	0.53	2.79
60	28.50	30.34	30.34	29.73	1.06	3.57
90	37.70	39.54	40.46	39.23	1.40	3.58
120	47.81	49.65	51.49	49.65	1.84	3.70
150	57.01	62.53	61.61	60.38	2.96	4.90
180	68.96	76.32	73.56	72.95	3.72	5.09
240	83.67	89.19	85.51	86.13	2.81	3.26
300	94.71	100.00	99.31	98.00	2.88	2.93
360	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00
420	-	-	-	-	-	-
480	-	-	-	-	-	-

1.4. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 4 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 16% LACTOSE MONOHYDRATE ΚΑΙ 10% AVICEL PH 102

Η συνταγή 4 προέκυψε από την προσθήκη ίσης ποσότητας Lactose monohydrate με αυτή της Dextran, που περιλαμβάνεται στις συνταγές 1, 2 και 3. Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα αποτελέσματα των τιμών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης από τρία δισκία της συνταγής 4 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ο μέσος όρος των τιμών τους, η σχετική απόκλιση (STDEV), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

Πίνακας 1.7: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 4 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	14.71	14.71	15.62	15.01	0.52	3.47
60	21.03	21.93	22.84	21.93	0.90	4.12
90	30.06	30.96	30.96	30.66	0.52	1.70
120	39.08	39.99	39.99	39.69	0.52	1.31
150	48.11	49.92	49.01	49.01	0.90	1.84
180	55.33	55.33	55.33	55.33	0.00	0.00
240	67.07	69.77	65.26	67.37	2.27	3.37
300	74.29	74.29	73.38	73.99	0.52	0.70
360	79.70	79.70	78.80	79.40	0.52	0.66
420	82.41	83.31	80.61	82.11	1.38	1.68
480	86.02	87.83	85.12	86.32	1.38	1.60

Αντίστοιχα, η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της ίδιας συνταγής μελετήθηκε και σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.

Πίνακας 1.8: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 4 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	13.79	11.03	14.71	13.18	1.91	14.52
60	30.34	23.91	29.42	27.89	3.48	12.48
90	45.06	39.54	43.22	42.60	2.81	6.59
120	61.61	52.41	57.93	57.32	4.63	8.07
150	78.16	64.36	72.64	71.72	6.94	9.68
180	91.03	72.64	83.67	82.45	9.26	11.23
240	100.00	88.27	97.47	95.25	6.17	6.48
300	100.00	98.39	100.00	99.46	0.93	0.94
360	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00
420	-	-	-	-	-	-
480	-	-	-	-	-	-

1.5. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 5 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 8% LACTOSE MONOHYDRATE, 8% HPMC K 15M ΚΑΙ 10% AVICEL PH 102

Η συνταγή 5 προέκυψε από αντικατάσταση της μισής ποσότητας Lactose monohydrate της συνταγής 4 από HPMC K 15M.

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα αποτελέσματα των τιμών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης από τρία δισκία της συνταγής 5 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ο μέσος όρος των τιμών τους, η σχετική απόκλιση (STDEV), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

Πίνακας 1.9: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 5 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	12.91	12.01	12.91	12.61	0.52	4.13
60	19.23	19.23	19.23	19.23	0.00	0.00
90	25.54	25.54	24.64	25.24	0.52	2.06
120	33.67	34.57	32.77	33.67	0.90	2.68
150	41.79	42.69	40.89	41.79	0.90	2.16
180	45.40	46.31	45.40	45.70	0.52	1.14
240	56.23	56.23	54.43	55.63	1.04	1.87
300	63.46	64.36	62.55	63.46	0.90	1.42
360	68.87	71.58	68.87	69.77	1.56	2.24
420	74.29	75.19	73.38	74.29	0.90	1.22
480	76.99	78.80	76.99	77.60	1.04	1.34

Αντίστοιχα, η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της ίδιας συνταγής μελετήθηκε και σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.

Πίνακας 1.10: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 5 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	24.83	25.75	26.67	25.75	0.92	3.57
60	39.54	39.54	40.46	39.84	0.53	1.33
90	55.17	53.33	53.33	53.94	1.06	1.97
120	70.80	66.20	68.04	68.35	2.31	3.39
150	83.67	77.24	79.08	80.00	3.32	4.14
180	94.71	87.35	91.03	91.03	3.68	4.04
240	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00
300	-	-	-	-	-	-
360	-	-	-	-	-	-
420	-	-	-	-	-	-
480	-	-	-	-	-	-

1.6. ΔΙΣΚΙΑ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 6 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 26% LACTOSE MONOHYDRATE

Η συνταγή 6 προέκυψε με την αντικατάσταση του Avicel, έκδοχο στις συνταγές 1, 2, 3, 4 και 5 από Dextran, έκδοχο των συνταγών 1, 2 και 3 και του HPMC K 15M (συνταγές 2, 5) από Lactose monohydrate.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα των τιμών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης από τρία δισκία της συνταγής 6 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ο μέσος όρος των τιμών τους, η σχετική απόκλιση (STDEV), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

Πίνακας 1.11: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 6 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο

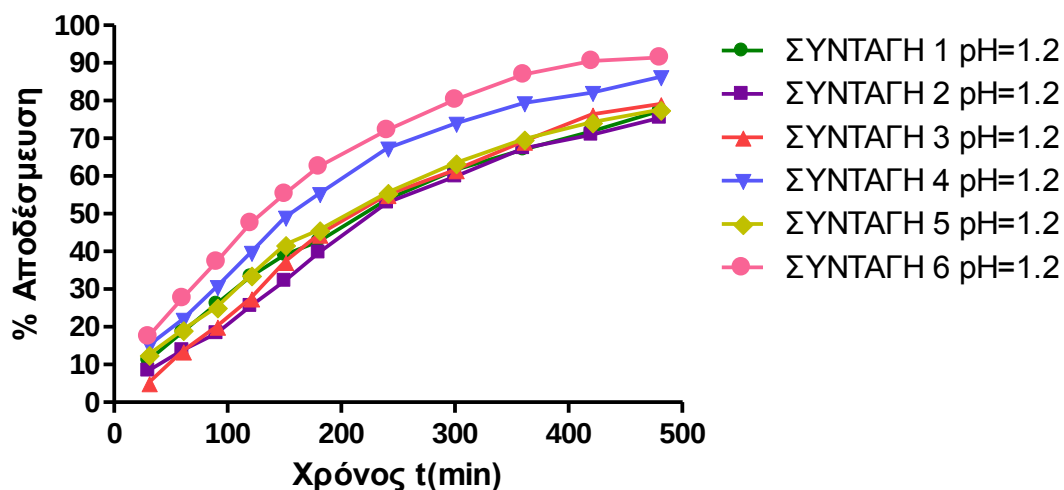
Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	16.52	18.32	17.42	17.42	0.90	5.18
60	26.45	30.06	26.45	27.65	2.08	7.54
90	36.38	39.99	35.47	37.28	2.39	6.41
120	48.11	48.11	46.31	47.51	1.04	2.19
150	55.33	56.23	54.43	55.33	0.90	1.63
180	63.46	62.55	61.65	62.55	0.90	1.44
240	73.38	71.58	71.58	72.18	1.04	1.44
300	81.51	79.70	79.70	80.30	1.04	1.30
360	86.92	87.83	86.02	86.92	0.90	1.04
420	91.44	91.44	88.73	90.53	1.56	1.73
480	92.34	89.63	92.34	91.44	1.56	1.71

Αντίστοιχα, η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της ίδιας συνταγής μελετήθηκε και σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.

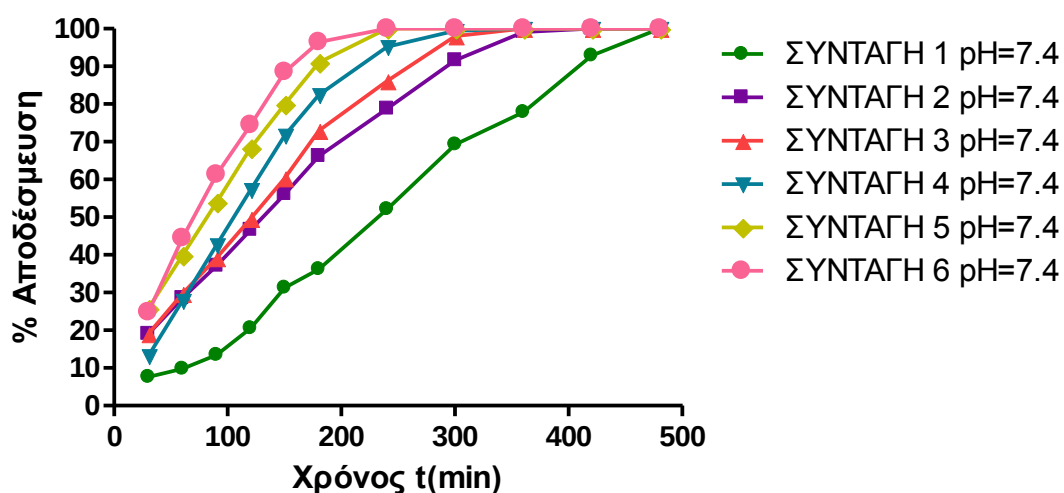
Πίνακας 1.12: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 6 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	27.58	22.99	23.91	24.83	2.43	9.80
60	48.73	38.62	45.97	44.44	5.23	11.76
90	68.04	60.69	55.17	61.30	6.46	10.54
120	84.59	68.96	69.88	74.48	8.77	11.78
150	99.31	83.67	82.75	88.58	9.30	10.50
180	100.00	94.71	94.71	96.47	3.06	3.17
240	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00
300	-	-	-	-	-	-
360	-	-	-	-	-	-
420	-	-	-	-	-	-
480	-	-	-	-	-	-

Στα σχήματα 1.1 και 1.2 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 1, 2, 3, 4, 5 και 6, συγκεντρωτικά. Το σχήμα 1.1 αφορά στις αποδεσμεύσεις σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 ενώ το σχήμα 1.2 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.



Σχήμα 1.1: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 1,2,3,4,5 και 6 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2.



Σχήμα 1.2: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 1,2,3,4,5 και 6 σε μέσο διάλυσης με pH=7.4.

1.7. ΔΙΣΚΙΑ ΤΗΣ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 7 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 26% PVP (M.W: 10.000)

Στη συνταγή 7, προκειμένου να παραμείνει αμετάβλητο το συνολικό βάρος του δισκίου, καθώς και η αναλογία της δραστικής ουσίας προς τα έκδοχα, αντικαταστάθηκε η Lactose monohydrate της συνταγής 6 με ίση ποσότητα PVP (M.W: 10.000).

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα των τιμών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης από τρία δισκία της συνταγής 7 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ο μέσος όρος των τιμών τους, η σχετική απόκλιση (STDEV), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

***Πίνακας 1.13:** % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 7 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο*

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	8.39	5.69	6.59	6.89	1.38	20.01
60	7.49	9.30	6.59	7.79	1.38	17.69
90	26.45	21.93	29.16	25.85	3.65	14.11
120	37.28	46.31	44.50	42.69	4.78	11.19
150	47.21	62.55	58.94	56.23	8.02	14.27
180	55.33	71.58	67.07	64.66	8.39	12.97
240	66.16	81.51	78.80	75.49	8.19	10.85
300	73.38	86.02	84.22	81.21	6.83	8.42
360	79.70	89.63	91.44	86.92	6.32	7.27
420	86.92	93.24	100.00	93.39	6.54	7.00
480	85.12	92.34	100.00	92.49	7.44	8.05

Αντίστοιχα, η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της ίδιας συνταγής μελετήθηκε και σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.

Πίνακας 1.14: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 7 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	15.63	11.95	11.95	13.18	2.12	16.11
60	17.47	16.55	14.71	16.24	1.40	8.65
90	22.99	19.31	18.39	20.23	2.43	12.03
120	29.42	22.07	22.99	24.83	4.01	16.14
150	30.34	30.34	27.58	29.42	1.59	5.41
180	33.10	31.26	33.10	32.49	1.06	3.27
240	93.79	91.95	90.11	91.95	1.84	2.00
300	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00
360	-	-	-	-	-	-
420	-	-	-	-	-	-
480	-	-	-	-	-	-

1.8. ΔΙΣΚΙΑ ΤΗΣ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 8 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 26% PVP (M.W: 55.000)

Το PVP (M.B: 10.000) της συνταγής 7 αντικαταστάθηκε με ίση ποσότητα PVP (M.B: 55.000), οπότε προέκυψε η συνταγή 8.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα των τιμών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης από τρία δισκία της συνταγής 8 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ο μέσος όρος των τιμών τους, η σχετική απόκλιση (STDEV), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

Πίνακας 1.15: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 8 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	14.71	8.39	11.10	11.40	3.17	27.80
60	13.81	12.01	12.91	12.91	0.90	6.99
90	35.47	28.25	32.77	32.16	3.65	11.34
120	47.21	44.50	44.50	45.40	1.56	3.44
150	58.04	55.33	54.43	55.93	1.88	3.36
180	71.58	67.07	65.26	67.97	3.25	4.79
240	78.80	76.09	75.19	76.69	1.88	2.45
300	85.12	82.41	80.61	82.71	2.27	2.75
360	95.05	86.02	86.02	89.03	5.21	5.85
420	97.76	90.53	87.83	92.04	5.13	5.58
480	98.66	94.14	92.34	95.05	3.25	3.42

Αντίστοιχα, η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της ίδιας συνταγής μελετήθηκε και σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.

Πίνακας 1.16: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 8 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	13.79	21.15	15.63	16.86	3.83	22.71
60	15.63	24.83	18.39	19.62	4.72	24.05
90	22.07	22.99	22.99	22.68	0.53	2.34
120	25.75	30.34	30.34	28.81	2.65	9.21
150	36.78	47.81	45.06	43.22	5.74	13.29
180	77.24	74.48	77.24	76.32	1.59	2.09
240	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00
300	-	-	-	-	-	-
360	-	-	-	-	-	-
420	-	-	-	-	-	-
480	-	-	-	-	-	-

1.9. ΔΙΣΚΙΑ ΤΗΣ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 9 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 13% PVP (M.W: 10.000) ΚΑΙ 13% LACTOSE MONOHYDRATE

Στη συνταγή 9, προκειμένου να παραμείνει αμετάβλητο το συνολικό βάρος του δισκίου, καθώς και η αναλογία της δραστικής ουσίας προς τα έκδοχα αντικαταστάθηκε η μισή ποσότητα PVP (M.B: 10.000), σε σχέση με τη συνταγή 7, με Lactose monohydrate.

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα των τιμών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης από τρία δισκία της συνταγής 9 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ο μέσος όρος των τιμών τους, η σχετική απόκλιση (STDEV), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

***Πίνακας 1.17:** % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 9 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο*

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	7.49	5.69	4.78	5.99	1.38	23.03
60	8.39	7.49	7.49	7.79	0.52	6.69
90	12.01	13.81	13.81	13.21	1.04	7.89
120	29.16	30.96	30.96	30.36	1.04	3.43
150	48.11	49.01	52.62	49.92	2.39	4.78
180	67.07	65.26	66.16	66.16	0.90	1.36
240	80.61	76.99	76.09	77.90	2.39	3.07
300	83.31	83.31	79.70	82.11	2.08	2.54
360	86.02	85.12	83.31	84.82	1.38	1.63
420	87.83	86.92	86.02	86.92	0.90	1.04
480	89.63	85.12	85.12	86.62	2.61	3.01

Αντίστοιχα, η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της ίδιας συνταγής μελετήθηκε και σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.

Πίνακας 1.18: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 9 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	18.39	16.55	18.39	17.78	1.06	5.97
60	22.99	22.07	24.83	23.29	1.40	6.03
90	27.58	26.67	29.42	27.89	1.40	5.04
120	35.86	34.02	39.54	36.47	2.81	7.70
150	42.30	43.22	47.81	44.44	2.96	6.65
180	48.73	48.73	61.61	53.02	7.43	14.02
240	70.80	74.48	100.00	81.76	15.90	19.45
300	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00
360	-	-	-	-	-	-
420	-	-	-	-	-	-
480	-	-	-	-	-	-

1.10. ΔΙΣΚΙΑ ΤΗΣ ΣΥΝΤΑΓΗΣ 10 ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ 13% PVP (M.W: 55.000) ΚΑΙ 13% LACTOSE MONOHYDRATE

Αντίστοιχα με τη συνταγή 9, η συνταγή 10 προέκυψε περιλαμβάνοντας, όμως, ως έκδοχο το PVP (M.B: 55.000).

Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα των τιμών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης από τρία δισκία της συνταγής 10 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ο μέσος όρος των τιμών τους, η σχετική απόκλιση (STDEV), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

Πίνακας 1.19: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 10 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο

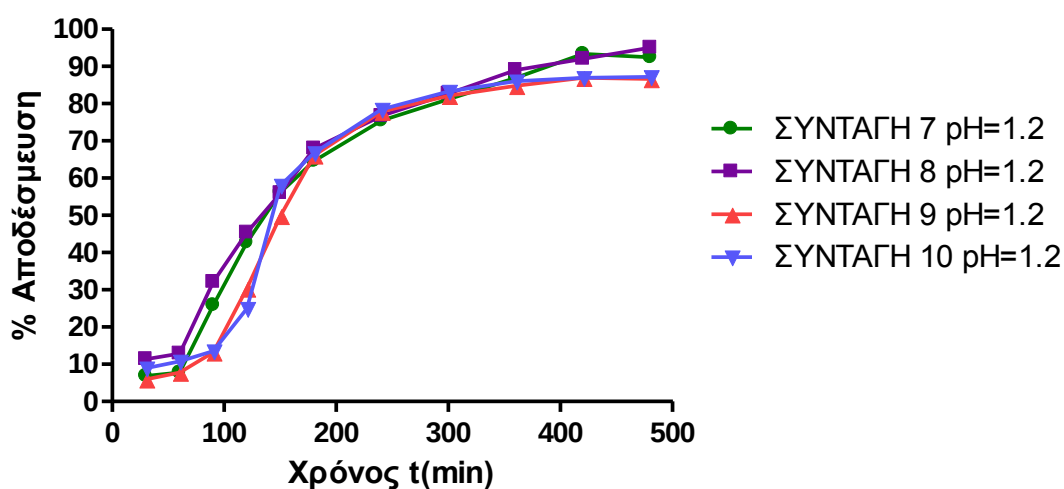
Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	9.30	8.39	9.30	9.00	0.52	5.79
60	10.20	11.10	11.10	10.80	0.52	4.82
90	13.81	12.91	13.81	13.51	0.52	3.86
120	22.84	21.93	30.06	24.94	4.45	17.85
150	59.84	55.33	58.94	58.04	2.39	4.11
180	67.07	66.16	67.07	66.76	0.52	0.78
240	79.70	78.80	76.99	78.50	1.38	1.76
300	84.22	84.22	81.51	83.31	1.56	1.88
360	86.92	86.92	84.22	86.02	1.56	1.82
420	87.83	87.83	85.12	86.92	1.56	1.80
480	88.73	87.83	85.12	87.22	1.88	2.15

Αντίστοιχα, η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της ίδιας συνταγής μελετήθηκε και σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.

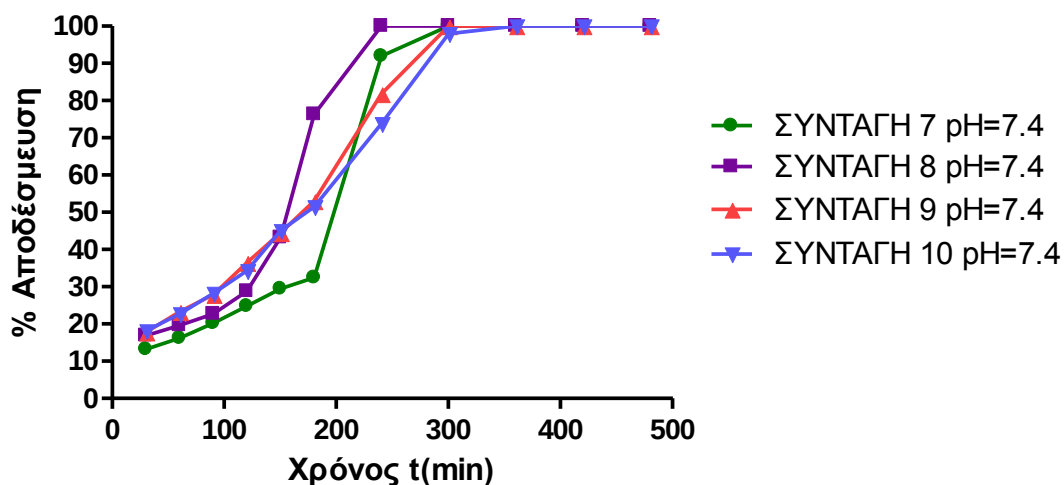
Πίνακας 1.20: % αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 10 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4 σε συνάρτηση με το χρόνο

Χρόνος t(min)	% Αποδέσμευση 1	% Αποδέσμευση 2	% Αποδέσμευση 3	Μέσος Όρος	STDEV	RSD
30	18.39	18.39	17.47	18.08	0.53	2.94
60	22.99	22.99	22.07	22.68	0.53	2.34
90	29.42	28.50	26.67	28.20	1.40	4.98
120	36.78	34.02	32.18	34.33	2.31	6.74
150	52.41	43.22	39.54	45.06	6.63	14.72
180	66.20	45.97	42.30	51.49	12.87	25.00
240	100.00	65.28	56.09	73.79	23.16	31.38
300	100.00	100.00	93.79	97.93	3.59	3.66
360	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00
420	-	-	-	-	-	-
480	-	-	-	-	-	-

Στα σχήματα 1.3 και 1.4 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 7, 8, 9 και 10, συγκεντρωτικά. Το σχήμα 1.3 αφορά στις αποδεσμεύσεις σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ενώ το σχήμα 1.4 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.



Σχήμα 1.3: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 7, 8, 9 και 10 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2.

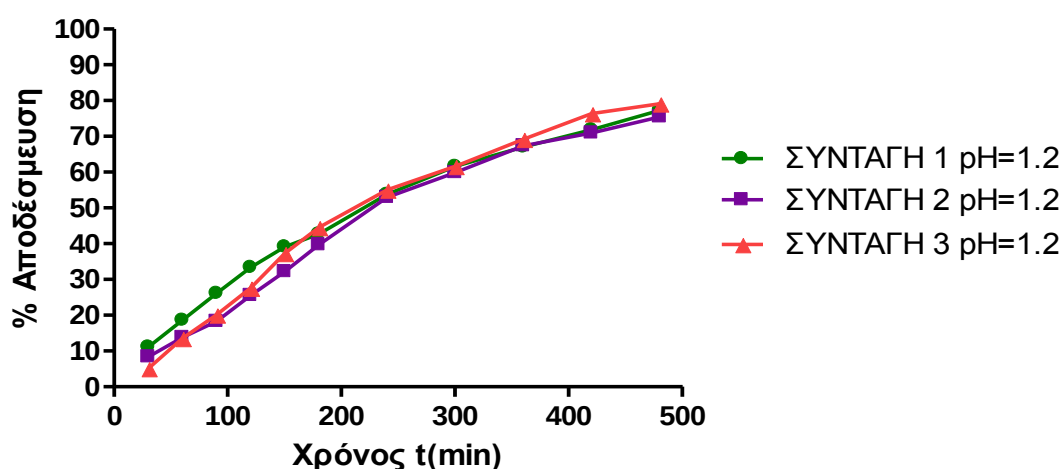


Σχήμα 1.4: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 7, 8, 9 και 10 σε μέσο διάλυσης με pH=7.4.

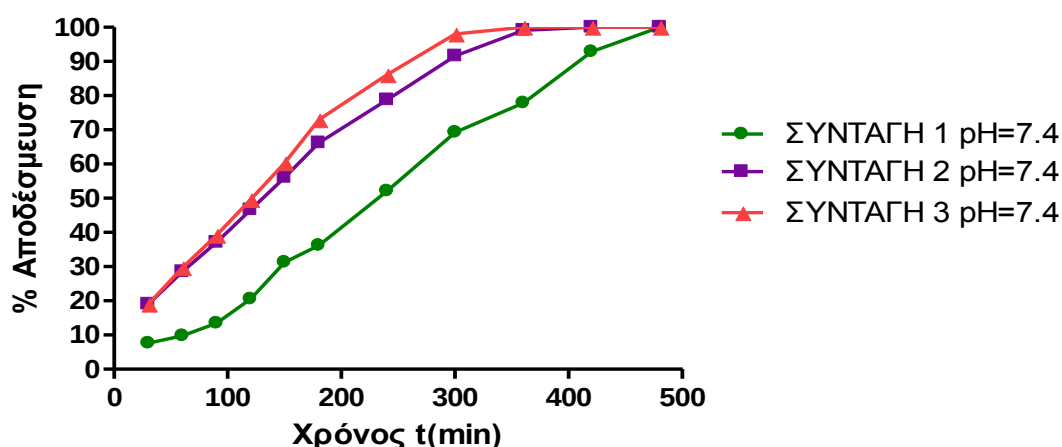
2. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΣΥΝΤΑΓΩΝ ΣΤΑ ΔΥΟ ΜΕΣΑ ΔΙΑΛΥΣΗΣ

2.1. Σύγκριση συνταγών 1, 2, και 3

Στα σχήματα 2.1 και 2.2 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 1, 2 και 3, συγκεντρωτικά. Το σχήμα 2.1 αφορά στις αποδεσμεύσεις σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, ενώ το σχήμα 2.2 σε μέσο διάλυσης με pH 7.4.



Σχήμα 2.1: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 1, 2 και 3 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2.



Σχήμα 2.2: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 1, 2 και 3 σε μέσο διάλυσης με pH=7.4.

Οι συνταγές 1, 2 και 3 περιέχουν όλες Dextran. Οι 2 και 3 στη μισή ποσότητα απ' ότι η συνταγή 1. Η συνταγή 2 περιέχει HPMC K 15M, ενώ η 3 Lactose monohydrate. Από τα διαγράμματα του σχήματος 2.2 διαπιστώνεται ότι στην περίπτωση που:

- το μέσο διάλυσης έχει pH 1.2, δεν παρατηρούνται διαφορές στην αποδέσμευση μεταξύ των συνταγών 1, 2 και 3.
- το μέσο διάλυσης έχει pH 7.4, η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 1 που περιέχει μόνο Dextran, ενώ δεν περιέχει HPMC K 15M και Lactose monohydrate, όπως οι συνταγές 2 και 3 αντίστοιχα, είναι πιο βραδεία σε σχέση με τις άλλες δύο συνταγές.

Πίνακας 2.1: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 1, 2 και 3.

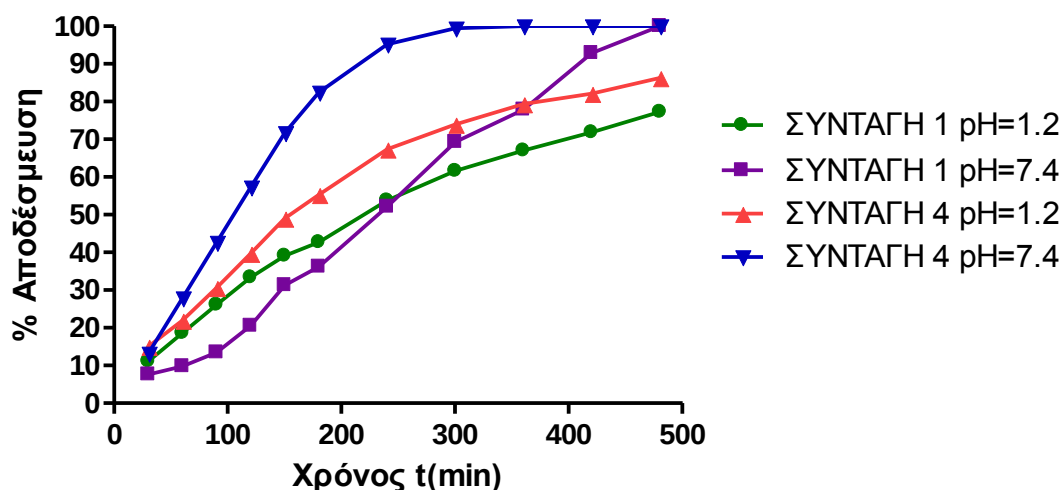
ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E. %	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 1- μέσο διάλυσης pH 1.2	48.31 %	0.72
Συνταγή 1- μέσο διάλυσης pH 7.4	51.09 %	1.23
Συνταγή 2- μέσο διάλυσης pH 1.2	45.70 %	0.93
Συνταγή 2- μέσο διάλυσης pH 7.4	69.76 %	0.71
Συνταγή 3- μέσο διάλυσης pH 1.2	48.21 %	0.91
Συνταγή 3- μέσο διάλυσης pH 7.4	72.89 %	0.75

Οι τιμές D.E. % του πίνακα 2.1 είναι σύμφωνες με τις καμπύλες αποδέσμευσης.

2.2. Σύγκριση συνταγών 1 και 4

Η διαφορά της συνταγής 1 σε σχέση με τη συνταγή 4 είναι ότι στην 4, η ποσότητα της Dextran (συνταγή 1) αντικαθίσταται από ίση ποσότητα Lactose monohydrate.

Στο σχήμα 2.3 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 1 και 4 στα δύο μέσα διάλυσης (pH 1.2 και pH 7.4).

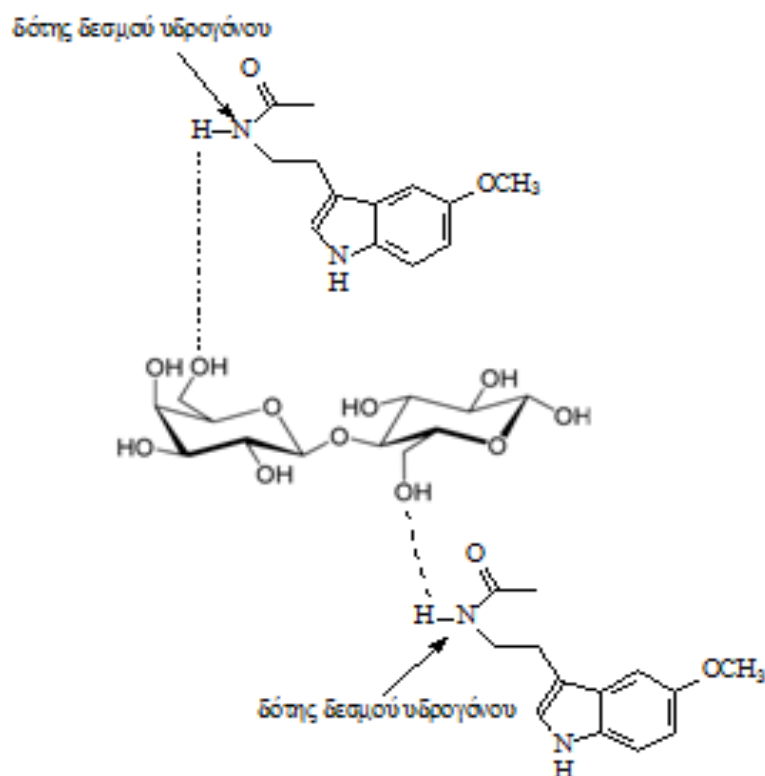


Σχήμα 2.3: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 1 και 4 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2 και pH=7.4.

Η διαφορά που παρατηρείται στην αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 4 σε μέσο διάλυσης με pH 1.2, πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι στην περίπτωση της συνταγής 4 υπάρχει δυνατότητα σχηματισμού δεσμού υδρογόνου μεταξύ των C₆ ή C₆' υδροξυλίων της λακτόζης και του υδρογόνου του αμιδικού NH στο μόριο της μελατονίνης. Αντίθετα, η έλλειψη πρωτοταγών OH στο μόριο της δεξτράνης (συνταγή 1) δεν επιτρέπει τον ευχερή σχηματισμό δεσμών υδρογόνου με το υδρογόνο του αμιδικού NH του μορίου της μελατονίνης. Για το λόγο αυτό η αποδέσμευση της ορμόνης από τα δισκία της συνταγής 4 είναι μεγαλύτερη καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Το αυτό παρατηρείται και στην περίπτωση των συνταγών 3 και 4, όπου στη συνταγή 3 περιλαμβάνεται εκτός της λακτόζης και δεξτράνη σε ποσοστό 8 %.

Οι παραπάνω διαφορές, κυρίως στις συνταγές 1 και 4, παρατηρούνται και στην περίπτωση που το μέσο διάλυσης έχει pH 7.4. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι στο pH αυτό, όπου δεν υπάρχει περίπτωση μερικής πρωτονίωσης των C₆ ή C₆' υδροξυλίων, ο σχηματισμός δεσμού υδρογόνου μεταξύ των υδροξυλίων αυτών και του υδρογόνου του αμιδικού NH του μορίου της μελατονίνης καθίσταται ακόμα πιο ευχερής (σχήμα 2.4).



Σχήμα 2.4: Σχηματισμός δεσμών υδρογόνου μεταξύ των $C_6\text{-OH}$ και $C'_6\text{-OH}$ της λακτόζης και του υδρογόνου του αμιδικού NH της μελατονίνης

Πίνακας 2.2: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 1 και 4.

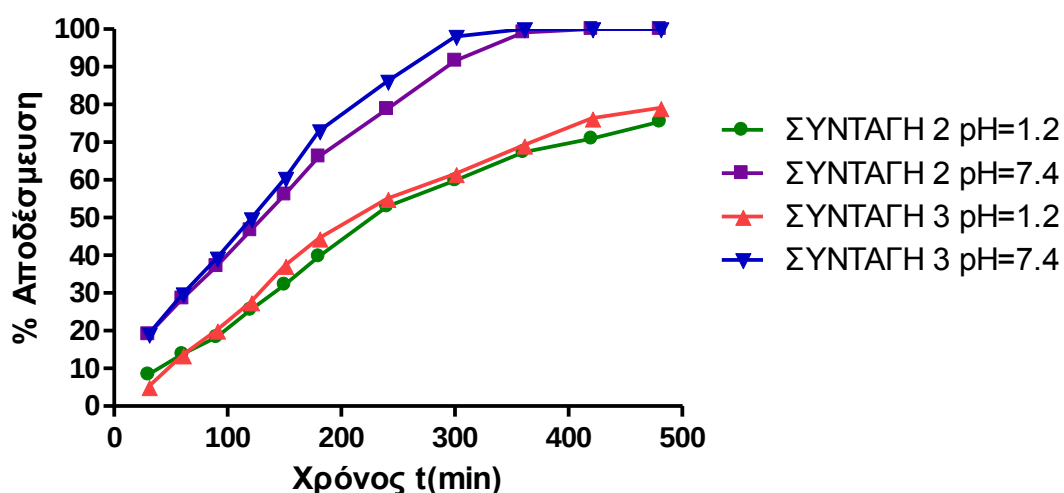
ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E.%	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 1- μέσο διάλυσης pH 1.2	48.31 %	0.72
Συνταγή 1- μέσο διάλυσης pH 7.4	51.09 %	1.23
Συνταγή 4- μέσο διάλυσης pH 1.2	57.74 %	0.80
Συνταγή 4- μέσο διάλυσης pH 7.4	76.20 %	1.05

Οι τιμές D.E. % του πίνακα 2.2 είναι σύμφωνες με τις καμπύλες αποδέσμευσης. Είναι εμφανές ότι η παρουσία Lactose στη συνταγή οδήγησε σε ταχύτερη και πιο απότομη αποδέσμευση.

2.3. Σύγκριση συνταγών 2 και 3

Η διαφορά των συνταγών 2 και 3 είναι ότι στη συνταγή 2 περιλαμβάνεται HPMC K 15M το οποίο αντικαθίσταται στη συνταγή 3 με ίση ποσότητα Lactose monohydrate, ενώ όλα τα άλλα έκδοχα παραμένουν ίδια και σε ίδιες ποσότητες και στις δύο συνταγές.

Στο σχήμα 2.5 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 2 και 3 στα δύο μέσα διάλυσης (pH 1.2 και pH 7.4).



Σχήμα 2.5: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 2 και 3 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2 και pH=7.4.

Πίνακας 2.3: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 2 και 3.

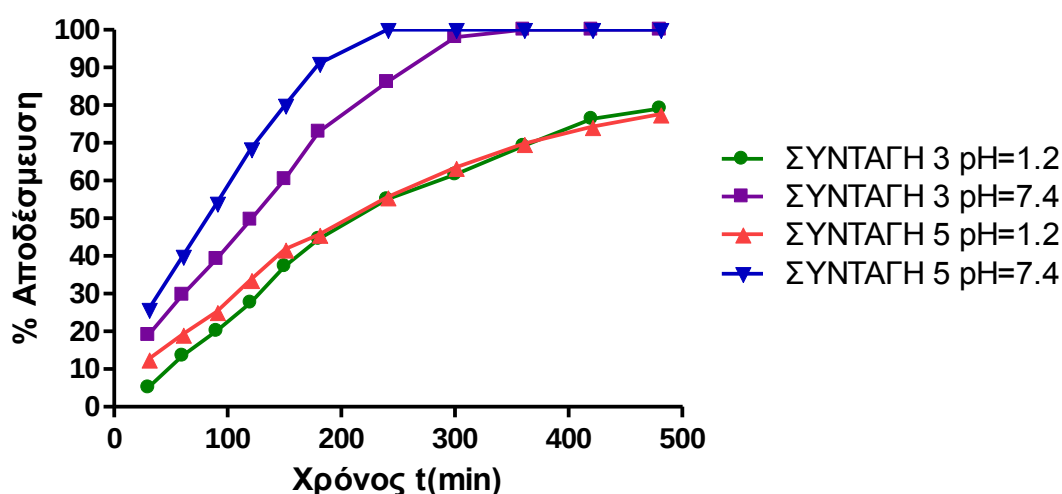
ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E.%	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 2- μέσο διάλυσης pH 1.2	45.70 %	0.93
Συνταγή 2- μέσο διάλυσης pH 7.4	69.76 %	0.71
Συνταγή 3- μέσο διάλυσης pH 1.2	48.21 %	0.91
Συνταγή 3- μέσο διάλυσης pH 7.4	72.89 %	0.75

Οι τιμές D.E. % του πίνακα 2.3 είναι σύμφωνες με τις καμπύλες αποδέσμευσης οι οποίες εμφανίζουν παρεμφερή χαρακτηριστικά και στις δύο περιπτώσεις.

2.4. Σύγκριση συνταγών 3 και 5

Η διαφορά των συνταγών 3 και 5 έγκειται στο ότι η συνταγή 3 περιέχει Dextran, έκδοχο που αντικαθίσταται στη συνταγή 5 με ίση ποσότητα HPMC K 15M, ενώ όλα τα άλλα έκδοχα παραμένουν ίδια και σε ίδιες ποσότητες και στις δύο συνταγές.

Στο σχήμα 2.6 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 3 και 5 στα δύο μέσα διάλυσης (pH 1.2 και pH 7.4).



Σχήμα 2.6: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 3 και 5 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2 και pH=7.4.

Από τις καμπύλες του σχήματος 2.6 διαπιστώνεται ότι:

- όταν το μέσο διάλυσης έχει pH 1.2 δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες διαφορές στην αποδέσμευση της μελατονίνης μεταξύ των συνταγών 3 και 5.
- όταν το μέσο διάλυσης έχει pH 7.4 η αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 3, που περιέχει Dextran, είναι πιο βραδεία σε σχέση με την αποδέσμευσή της από δισκία της συνταγής 5, που περιέχει HPMC K 15M.

Πίνακας 2.4: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 3 και 5.

ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E. %	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 3- μέσο διάλυσης pH 1.2	48.21 %	0.91
Συνταγή 3- μέσο διάλυσης pH 7.4	72.89 %	0.75
Συνταγή 5- μέσο διάλυσης pH 1.2	49.92 %	0.75
Συνταγή 5- μέσο διάλυσης pH 7.4	80.72 %	0.68

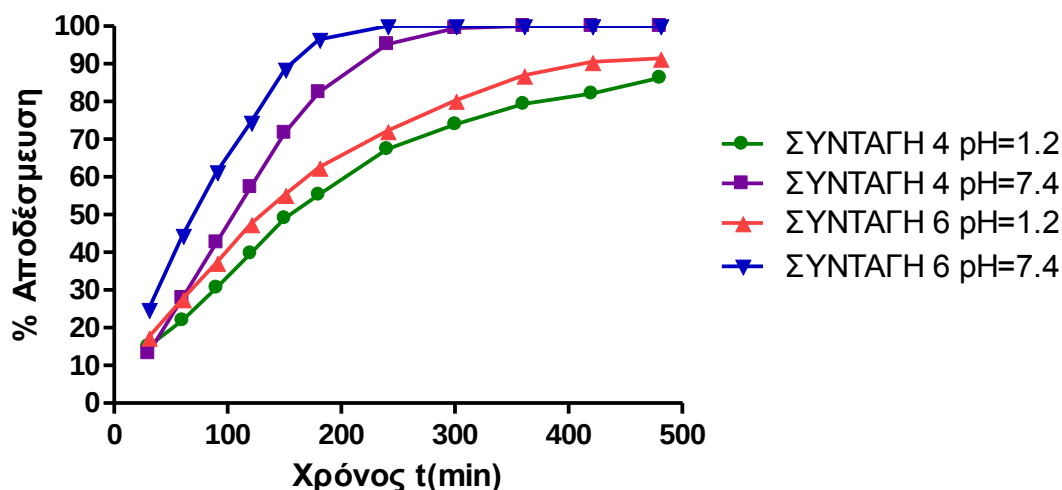
Οι τιμές D.E. % του πίνακα 2.4 είναι σύμφωνες με τις καμπύλες αποδέσμευσης.

Η ταχύτερη και μεγαλύτερη αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 5, η οποία περιέχει HPMC K 15M, σε σχέση με την αποδέσμευση που παρατηρείται από δισκία της συνταγής 3, που περιλαμβάνει δεξτράνη, πιθανόν να οφείλεται στο διαφορετικό μηχανισμό αποδέσμευσης φαρμακευτικών δυσδιάλυτων ουσιών από δισκία που περιέχουν ως έκδοχα διογκούμενα υδρόφιλα πολυμερή, όπως το HPMC K15 M. Όπως φαίνεται και από τις τιμές του εκθέτη n στον πίνακα 2.4, η αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία της συνταγής 5 ακολουθεί μηχανισμό ανώμαλης διάχυσης (Bettini R. et al., 2001)

2.5. Σύγκριση συνταγών 4 και 6

Η διαφορά των συνταγών 4 και 6 έγκειται στο ότι η συνταγή 4 περιέχει Avicel PH 102, το οποίο δεν περιλαμβάνεται στη συνταγή 6 και προκειμένου να παραμείνει αμετάβλητο το συνολικό βάρος του δισκίου η αντίστοιχη ποσότητά του αντικαθίσταται από Lactose, καθώς οι προηγούμενες συνταγές δίνουν σχετικά ταχείες αποδεσμεύσεις, παρουσία του συγκεκριμένου εκδόχου.

Στο σχήμα 2.7 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 4 και 6 στα δύο μέσα διάλυσης (pH 1.2 και pH 7.4).



Σχήμα 2.7: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 4 και 6 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2 και pH=7.4.

Όπως ήταν αναμενόμενο, από τις αντίστοιχες προηγούμενες περιπτώσεις, στη συνταγή 6, που περιέχει Lactose monohydrate σε μεγαλύτερο ποσοστό, παρατηρείται ταχύτερη αποδέσμευση της δραστικής ουσίας και στα δύο μέσα διάλυσης σε σχέση με τη συνταγή 4. Αυτό καθίσταται εμφανές και από τις τιμές D.E. % στον πίνακα 2.5, που συμφωνούν με τις καμπύλες αποδέσμευσης.

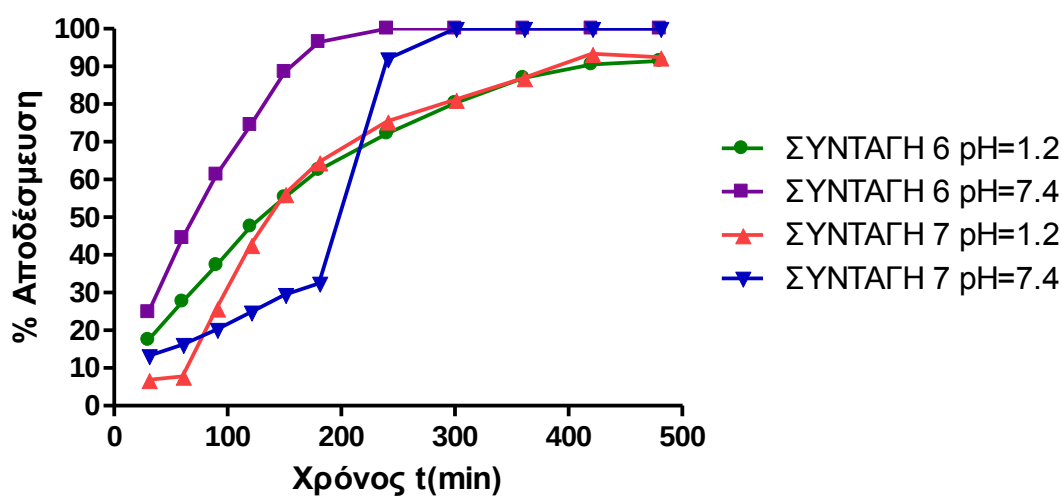
Πίνακας 2.5: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 4 και 6.

ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E.%	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 4- μέσο διάλυσης pH 1.2	57.74 %	0.80
Συνταγή 4- μέσο διάλυσης pH 7.4	76.20 %	1.05
Συνταγή 6- μέσο διάλυσης pH 1.2	63.85 %	0.74
Συνταγή 6- μέσο διάλυσης pH 7.4	82.87 %	0.77

2.6. Σύγκριση συνταγών 6 και 7

Η διαφορά των συνταγών 6 και 7 έγκειται στο ότι στη συνταγή 7, αντικαταστάθηκε όλη η ποσότητα του εκδόχου Lactose monohydrate (συνταγή 6) με PVP (M.W: 10.000), ενώ όλα τα άλλα έκδοχα παρέμειναν ίδια και σε ίδιες ποσότητες και στις δύο συνταγές.

Στο σχήμα 2.8 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 6 και 7 στα δύο μέσα διάλυσης (pH 1.2 και pH 7.4).



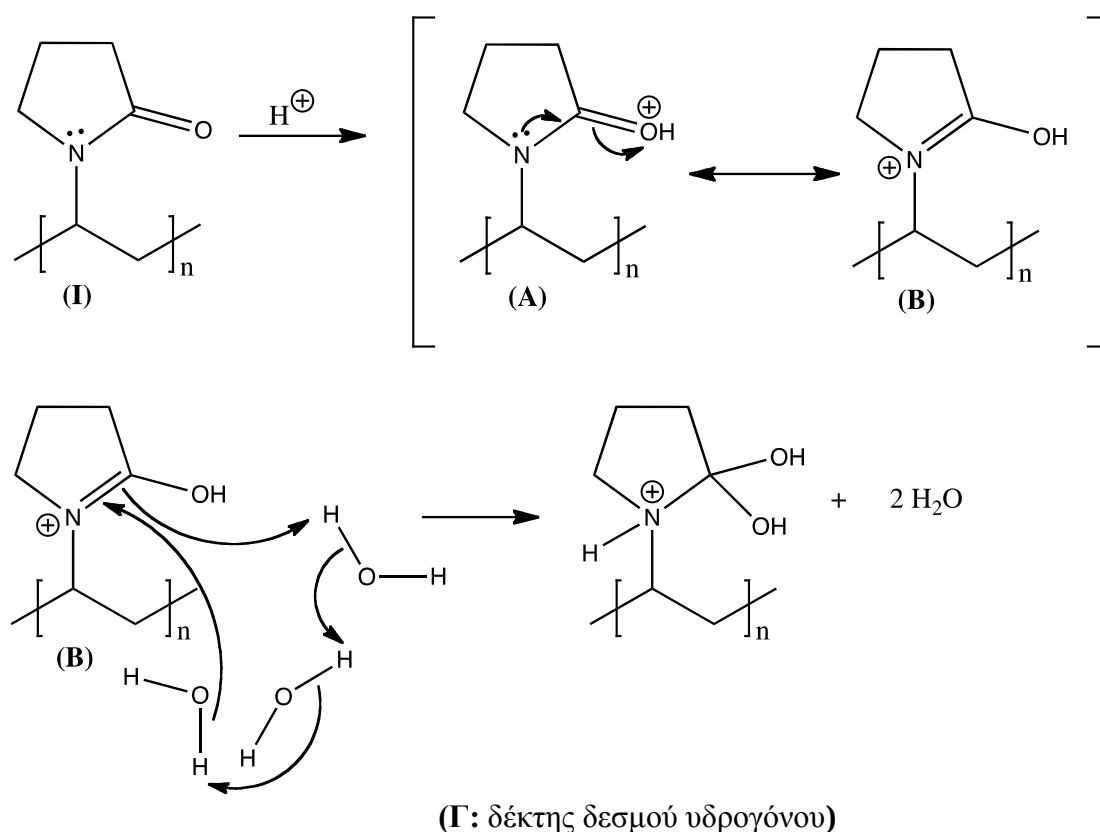
Σχήμα 2.8: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 6 και 7 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2 και pH=7.4.

Από τα διαγράμματα του σχήματος 2.8 προκύπτει ότι:

- στην περίπτωση που το μέσο διάλυσης έχει pH 1.2, παρατηρείται ταχεία αρχική αποδέσμευση της ορμόνης από τα δισκία της συνταγής 6, σε σχέση με τα αντίστοιχα δισκία της συνταγής 7, πιθανόν λόγω του ότι στη δεύτερη περίπτωση, όπου περιλαμβάνεται στα δισκία PVP με M.B:10.000, λαμβάνουν χώρα οι παρακάτω χημικές μετατροπές μόλις το μόριο του PVP έλθει σε επαφή με το όξινο υδατικό μέσο (σχήμα 2.9).

Όπως παρατηρείται στο σχήμα 2.9, το PVP, αρχικά υπό τη μορφή της γ-λακτάμης, μετατρέπεται κατόπιν ακολουθίας αντιδράσεων προς το gem-διολοπαράγωγο Γ. Η μετατροπή αυτή έχει ως αποτέλεσμα την αρχικά

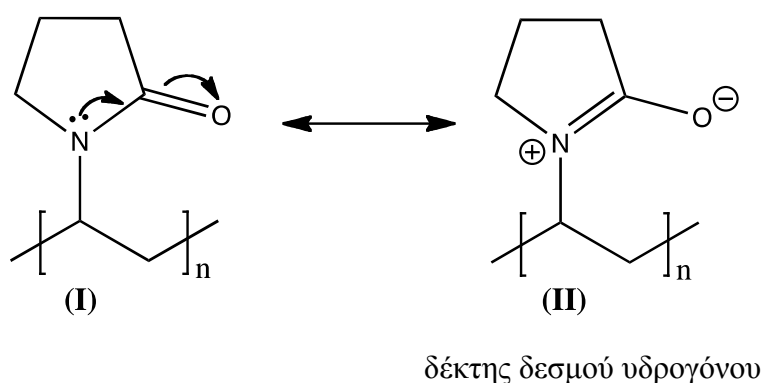
παρατηρούμενη ελαττωμένη αποδέσμευση της μελατονίνης, διότι περιλαμβάνονται αρκετά στάδια μέχρι το σχηματισμό της *gem*-διόλης Γ. Όμως, μετά το σχηματισμό της, το υδρογόνο του αμιδικού NH του μορίου της μελατονίνης δημιουργεί ως δότης, δεσμούς υδρογόνου με τα OH του παραγώγου Γ (δέκτης).



Σχήμα 2.9: Μετατροπή PVP στο *gem*-διολοπαράγωγο Γ

- στην περίπτωση που το μέσο διάλυσης έχει pH 7.4, οι αντίστοιχες διαφοροποιήσεις στην αποδέσμευση της μελατονίνης από τις δύο συνταγές είναι πολύ πιο διακριτές με στατιστικά σημαντική διαφορά ($P < 0.05$). Η μεγάλη αρχική καθυστέρηση που παρατηρείται στην περίπτωση που η μελατονίνη αποδεσμεύεται από δισκία της συνταγής 7 (με PVP M.B:10.000), τα πρώτα 180', οφείλεται στο ότι στο συγκεκριμένο pH, το μόριο του PVP παρίσταται με δύο δομές συντονισμού, η μία εκ των οποίων είναι ικανή να δράσει ως δέκτης δεσμού υδρογόνου (δομή II-σχήμα 2.10). Στη συνέχεια, παρατηρείται απότομη αποδέσμευση σχεδόν όλης της ποσότητας της δραστικής ουσίας εντός μίας

ώρας. Αντίθετα, στη συνταγή 6 λαμβάνει χώρα σταδιακή αποδέσμευση της μελατονίνης.



Σχήμα 2.10: Δομές συντονισμού της γ-λακτάμης στο μόριο του PVP

Πιθανόν στην παραπάνω μεσομέρεια η συμμετοχή της δομής **II** να είναι μικρότερη, με αποτέλεσμα να καθίσταται δυσχερέστερος ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου μεταξύ του PVP με M.B: 10.000 και του μορίου της μελατονίνης.

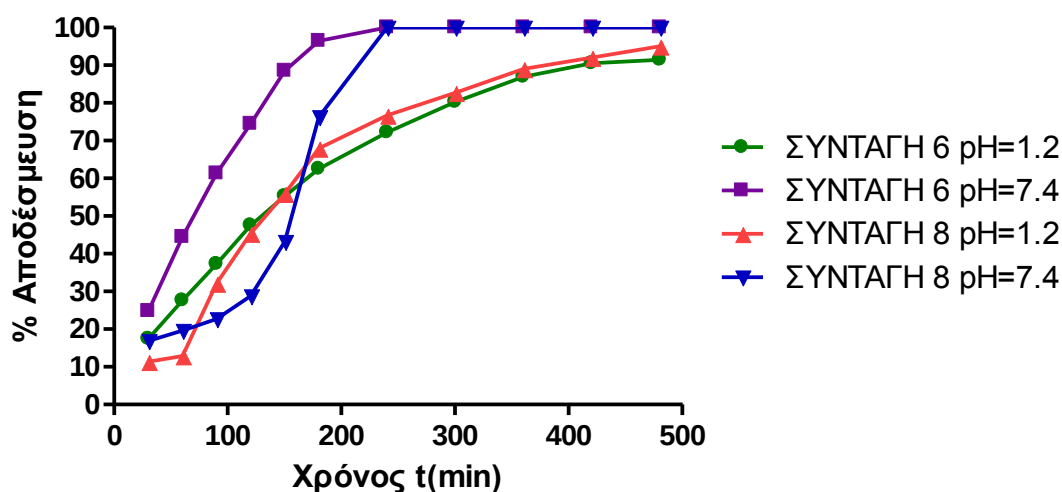
Πίνακας 2.6: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 6 και 7.

ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E. %	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 6- μέσο διάλυσης pH 1.2	63.85 %	0.74
Συνταγή 6- μέσο διάλυσης pH 7.4	82.87 %	0.77
Συνταγή 7- μέσο διάλυσης pH 1.2	62.47 %	1.66
Συνταγή 7- μέσο διάλυσης pH 7.4	64.37 %	0.57

2.7. Σύγκριση συνταγών 6 και 8

Η συνταγή 8 περιέχει PVP μεγαλύτερου μοριακού βάρους σε σχέση με το PVP της συνταγής 7, η οποία σχολιάστηκε στην παράγραφο 2.6. Η διαφορά των συνταγών 6 και 8 έγκειται στο ότι στη συνταγή 8, αντικαταστάθηκε η ποσότητα του εκδόχου Lactose monohydrate με PVP (M.W: 55.000), ενώ όλα τα άλλα έκδοχα παρέμειναν ίδια και σε ίδιες ποσότητες και στις δύο συνταγές.

Στο σχήμα 2.11 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 6 και 8 στα δύο μέσα διάλυσης (pH 1.2 και pH 7.4).



Σχήμα 2.11: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 6 και 8 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2 και pH=7.4.

Από τα διαγράμματα του σχήματος 2.11 διαπιστώνεται ότι:

- σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 υπάρχει μια καθυστέρηση της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας στη συνταγή 8 τα πρώτα 90', σε σχέση με τη συνταγή 6. Στη συνέχεια, δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες διαφορές στην αποδέσμευση μεταξύ των συνταγών 6 και 8.
- σε μέσο διάλυσης με pH 7.4, παρατηρείται καθυστέρηση της αποδέσμευσης της μελατονίνης στη συνταγή 8 τα πρώτα 150', ενώ στη συνέχεια ακολουθείται παρόμοιο προφίλ αποδέσμευσης σε σύγκριση με αυτό των συνταγών 6 και 7.

Πίνακας 2.7: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 6 και 8.

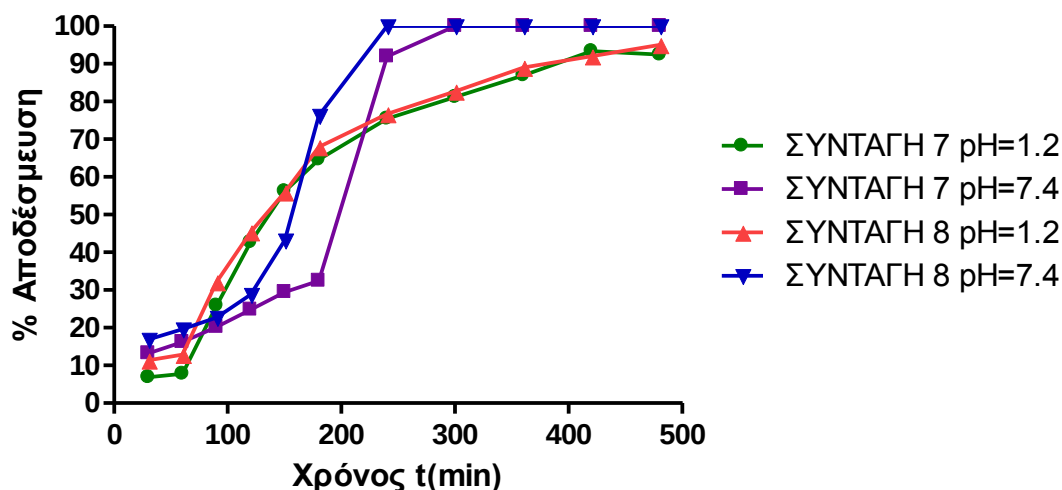
ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E. %	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 6- μέσο διάλυσης pH 1.2	63.85 %	0.74
Συνταγή 6- μέσο διάλυσης pH 7.4	82.87 %	0.77
Συνταγή 8- μέσο διάλυσης pH 1.2	64.38 %	1.24
Συνταγή 8- μέσο διάλυσης pH 7.4	71.08 %	0.71

Οι τιμές D.E. % του πίνακα 2.7 είναι σύμφωνες με τις καμπύλες αποδέσμευσης.

2.8. Σύγκριση συνταγών 7 και 8

Η διαφορά των συνταγών 7 και 8 έγκειται στο ότι έχει χρησιμοποιηθεί διαφορετικού βάρους PVP, αλλά ίδιας ποσότητας. Το PVP που χρησιμοποιήθηκε στη συνταγή 7 έχει μοριακό βάρος 10.000, ενώ το PVP, που χρησιμοποιήθηκε στη συνταγή 8, έχει μοριακό βάρος 55.000.

Στο σχήμα 2.12 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 7 και 8 στα δύο μέσα διάλυσης (pH 1.2 και pH 7.4).



Σχήμα 2.12: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 7 και 8 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2 και pH=7.4.

Από τα διαγράμματα του σχήματος 2.12 διαπιστώνεται ότι:

- σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 οι δύο συνταγές έχουν παρόμοια συμπεριφορά, ως προς την αποδέσμευση της μελατονίνης.
- όταν το μέσο διάλυσης έχει pH 7.4, στη συνταγή 8 που περιέχει PVP (M.W: 55.000) παρατηρείται ταχύτερη αποδέσμευση της δραστικής ουσίας και άλλος μηχανισμός αποδέσμευσης, σε σχέση με τη συνταγή 7 (πίνακας 2.8 με τις τιμές εκθέτη n). Αρχικά, στη συνταγή 7, λαμβάνει χώρα χαμηλό ποσοστό αποδέσμευσης, ενώ στα 150 λεπτά έχει αποδεσμευτεί το 29 %. Την ίδια χρονική στιγμή, στη συνταγή 8, έχει αποδεσμευτεί το 43 %. Στα 180 λεπτά, ενώ στη συνταγή 7 η αποδέσμευση παραμένει χαμηλή (32 %), στη συνταγή 8 η αποδέσμευση φτάνει στο 76 %. Η αποδέσμευση στη συνταγή 7 φτάνει σε παρόμοια επίπεδα μετά από μία ώρα.

Η σημαντική, υψηλότερου ποσοστού αποδέσμευση της μελατονίνης από δισκία της συνταγής 8, που περιέχουν το PVP με M.B: 55.000 σε σχέση με τα δισκία της συνταγής 7, που περιλαμβάνουν το χαμηλότερου μοριακού βάρους PVP (10.000), πιθανόν να οφείλεται στις αυξημένες λιπόφιλες αλληλεπιδράσεις του περισσότερου λιπόφιλου PVP (με M.B: 55.000) με το ινδολικό τμήμα του μορίου της μελατονίνης.

Στη συνέχεια, παρατίθεται ο πίνακας με τις μέσες τιμές της παραμέτρου D.E % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τις συνταγές 7 και 8.

Πίνακας 2.8: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 7 και 8.

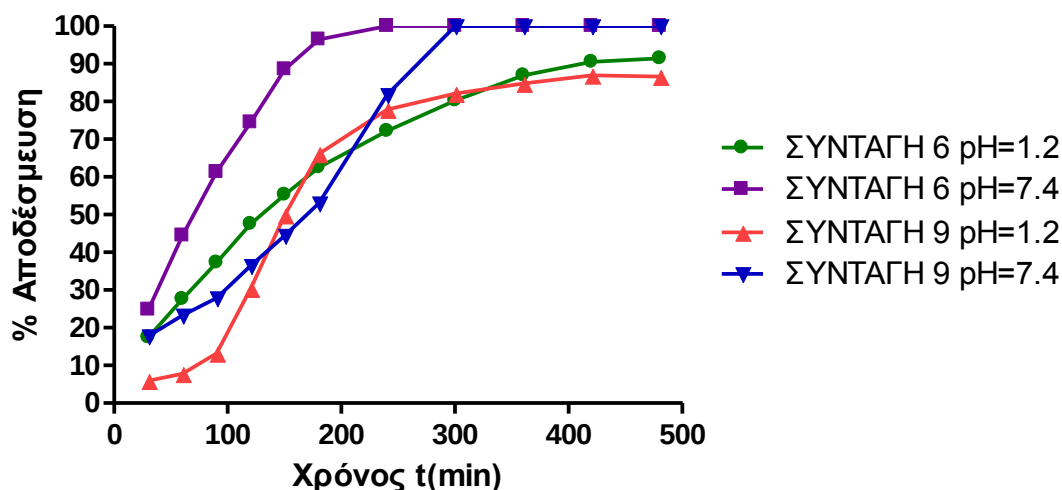
ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E. %	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 7- μέσο διάλυσης pH 1.2	62.47 %	1.66
Συνταγή 7- μέσο διάλυσης pH 7.4	64.37 %	0.57
Συνταγή 8- μέσο διάλυσης pH 1.2	64.38 %	1.24
Συνταγή 8- μέσο διάλυσης pH 7.4	71.08 %	0.71

Οι τιμές D.E. % του πίνακα 2.8 είναι σύμφωνες με τις καμπύλες αποδέσμευσης.

2.9. Σύγκριση συνταγών 6 και 9

Η διαφορά μεταξύ των συνταγών 6 και 9 οφείλεται στο ότι στη συνταγή 9, αντικαταστάθηκε η μισή ποσότητα του εκδόχου Lactose monohydrate (συνταγή 6) με PVP (M.W: 10.000), ενώ όλα τα άλλα έκδοχα παραμένουν ίδια και σε ίδιες ποσότητες και στις δύο συνταγές.

Στο σχήμα 2.13 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 6 και 9 στα δύο μέσα διάλυσης (pH 1.2 και pH 7.4).



Σχήμα 2.13: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 6 και 9 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2 και pH=7.4.

Από τα διαγράμματα του σχήματος 2.13 διαπιστώνεται ότι:

- σε μέσο διάλυσης, με pH 1.2, λαμβάνει χώρα καθυστέρηση της αποδέσμευσης της μελατονίνης στη συνταγή 9 τα πρώτα 120 λεπτά, σε σχέση με τη συνταγή 6. Στη συνέχεια, δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες διαφορές στην αποδέσμευση της ορμόνης μεταξύ των συνταγών 6 και 9.
- όταν το μέσο διάλυσης έχει pH 7.4, καθυστερεί η αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία της συνταγής 9 τα πρώτα 180 λεπτά, ενώ τις επόμενες 2 ώρες παρατηρείται σχετικά ταχεία αποδέσμευση της μελατονίνης. Αντίθετα, στη συνταγή 6 παρατηρείται αρκετά ταχύτερη αποδέσμευση της δραστικής ουσίας.

Οι διαφοροποιήσεις αυτές οφείλονται, κατά πάσα πιθανότητα, στις αιτίες που προαναφέρθηκαν στις περιπτώσεις των συνταγών 6 με 7.

Στη συνέχεια, παρατίθεται ο πίνακας 2.9 με τις μέσες τιμές της παραμέτρου D.E % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τις συνταγές 6 και 9.

Πίνακας 2.9: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 6 και 9.

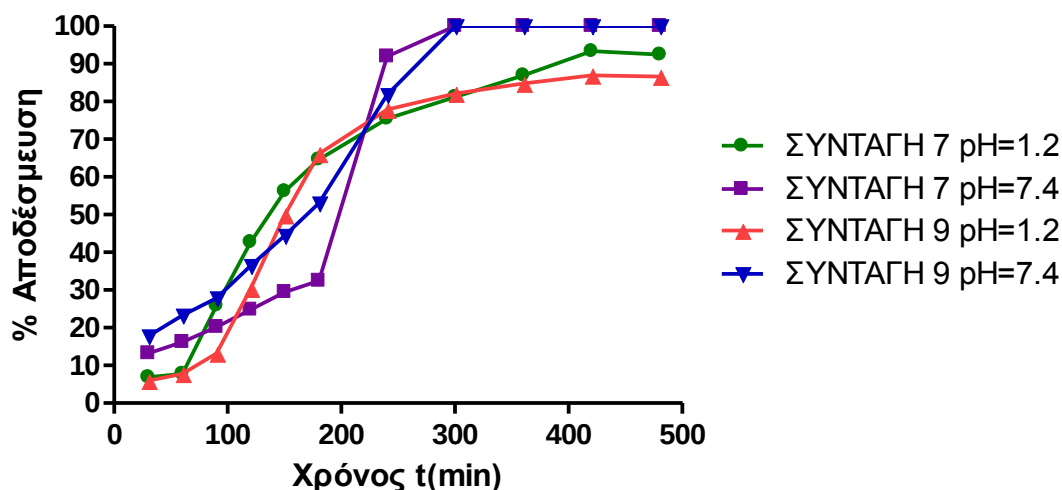
ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E. %	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 6- μέσο διάλυσης pH 1.2	63.85 %	0.74
Συνταγή 6- μέσο διάλυσης pH 7.4	82.87 %	0.77
Συνταγή 9- μέσο διάλυσης pH 1.2	59.60 %	2.25
Συνταγή 9- μέσο διάλυσης pH 7.4	67.75 %	0.71

Οι τιμές D.E. % του πίνακα 2.9 είναι σύμφωνες με τις καμπύλες αποδέσμευσης.

2.10. Σύγκριση συνταγών 7 και 9

Η διαφορά των συνταγών 7 και 9 έγκειται στο ότι στη συνταγή 9, αντικαταστάθηκε η μισή ποσότητα του PVP (M.W: 10.000) (συνταγή 7) με Lactose monohydrate, ενώ όλα τα άλλα έκδοχα παρέμειναν ίδια και σε ίδιες ποσότητες και στις δύο συνταγές.

Στο σχήμα 2.14 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 7 και 9 στα δύο μέσα διάλυσης (pH 1.2 και pH 7.4).



Σχήμα 2.14: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 7 και 9 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2 και pH=7.4.

Από τα διαγράμματα του σχήματος 2.14 διαπιστώνεται ότι:

- σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 λαμβάνει χώρα καθυστέρηση της αποδέσμευσης της δραστικής και στις δύο συνταγές. Η αποδέσμευση από τα δισκία της συνταγής 9 που περιέχουν Lactose, είναι λίγο πιο βραδεία σε σχέση με αυτή από τα δισκία της συνταγής 7 από τα 90 έως τα 150 πρώτα λεπτά. Στη συνέχεια, δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες διαφορές στην αποδέσμευση μεταξύ των συνταγών παρά μόνο την τελευταία ώρα που τα δισκία της συνταγής 7 έχουν αποδεσμεύσει 10 % περισσότερη ποσότητα μελατονίνης απ' ό τι στη συνταγή 9.
- όταν το μέσο διάλυσης έχει pH 7.4, η καθυστέρηση της αποδέσμευσης της μελατονίνης στη συνταγή 7 εντοπίζεται στα πρώτα 180 λεπτά σε σχέση με τη συνταγή 9. Τη χρονική αυτή στιγμή, έχει αποδεσμευτεί 20 % περισσότερη ποσότητα μελατονίνης από τα δισκία της συνταγής 9 σε σχέση με αυτά της συνταγής 7. Στις επόμενες 2 ώρες, όμως, πραγματοποιείται απότομη αποδέσμευση από τα δισκία της συνταγής 7 σε σχέση με αυτά της συνταγής 9. Τα δισκία της συνταγής 9 συνεχίζουν να παρέχουν σταδιακή αποδέσμευση της μελατονίνης χωρίς απότομες μεταβολές.

Στη συνέχεια, παρατίθεται ο πίνακας με τις μέσες τιμές της παραμέτρου D.E % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τις συνταγές 7 και 9.

Πίνακας 2.10: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 7 και 9.

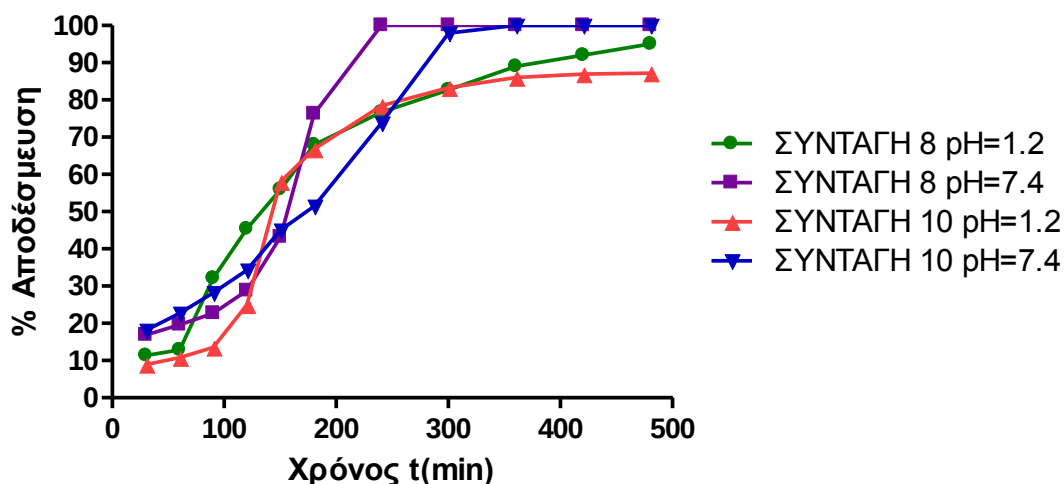
ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E. %	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 7- μέσο διάλυσης pH 1.2	62.47 %	1.66
Συνταγή 7- μέσο διάλυσης pH 7.4	64.37 %	0.57
Συνταγή 9- μέσο διάλυσης pH 1.2	59.60 %	2.25
Συνταγή 9- μέσο διάλυσης pH 7.4	67.75 %	0.71

Οι τιμές D.E. % του πίνακα 2.10 είναι σύμφωνες με τις καμπύλες αποδέσμευσης.

2.11. Σύγκριση συνταγών 8 και 10

Η διαφορά μεταξύ των συνταγών 8 και 10 οφείλεται στο ότι στη συνταγή 10, αντικαταστάθηκε η μισή ποσότητα του PVP (M.W: 55.000) (συνταγή 8) με Lactose monohydrate, ενώ όλα τα άλλα έκδοχα παρέμειναν ίδια και σε ίδιες ποσότητες και στις δύο συνταγές.

Στο σχήμα 2.15 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 8 και 10 στα δύο μέσα διάλυσης (pH 1.2 και pH 7.4).



Σχήμα 2.15: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 8 και 10 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2 και pH=7.4.

Από τα διαγράμματα του σχήματος 2.15 διαπιστώνεται ότι:

- σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 εκδηλώνεται καθυστέρηση της αποδέσμευσης της ορμόνης και στις δύο συνταγές με τη συνταγή 10, που περιέχει Lactose, να είναι λίγο πιο βραδεία από τη συνταγή 8 από τα 90 έως τα 150 πρώτα λεπτά. Στη συνέχεια, δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες διαφορές στην αποδέσμευση της μελατονίνης από τις συνταγές παρά μόνο κατά την τελευταία ώρα, όπου από τα δισκία της συνταγής 8 έχει αποδεσμευτεί περίπου 6-8 % περισσότερη ποσότητα μελατονίνης απ' ότι από τη συνταγή 10.
- όταν το μέσο διάλυσης έχει pH 7.4, παρατηρείται καθυστέρηση της αποδέσμευσης της μελατονίνης και από τις δύο συνταγές, μέχρι τα 150 λεπτά, ενώ στη συνέχεια, στην περίπτωση της συνταγής 8 παρατηρείται απότομη αποδέσμευση όλης της ποσότητας της μελατονίνης. Σε αντίθεση, από τη συνταγή 10 παρατηρείται πιο βραδεία αλλά και σταδιακή αποδέσμευση της μελατονίνης.

Στη συνέχεια, παρατίθεται ο πίνακας με τις μέσες τιμές της παραμέτρου D.E % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τις συνταγές 8 και 10.

Πίνακας 2.11: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 8 και 10.

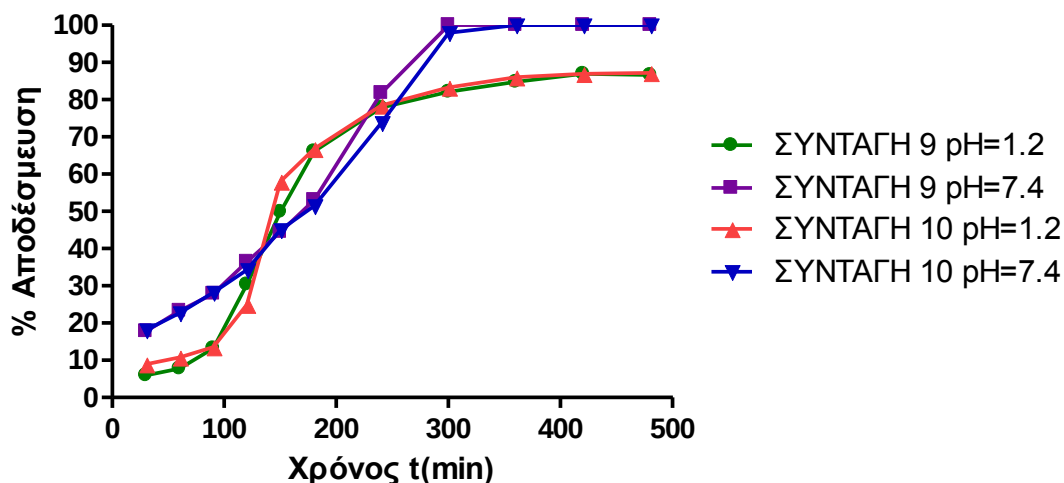
ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E. %	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 8- μέσο διάλυσης pH 1.2	64.38 %	1.24
Συνταγή 8- μέσο διάλυσης pH 7.4	71.08 %	0.71
Συνταγή 10- μέσο διάλυσης pH 1.2	60.54 %	2.78
Συνταγή 10- μέσο διάλυσης pH 7.4	66.25 %	0.70

Οι τιμές D.E. % του πίνακα 2.11 είναι σύμφωνες με τις καμπύλες αποδέσμευσης.

2.12. Σύγκριση συνταγών 9 και 10

Η διαφορά των συνταγών 9 και 10 έγκειται στο ότι έχει χρησιμοποιηθεί διαφορετικού βάρους PVP, αλλά ίδιας ποσότητας. Το PVP που χρησιμοποιήθηκε στη συνταγή 9 έχει μοριακό βάρος 10.000, ενώ το PVP που χρησιμοποιήθηκε στη συνταγή 10 έχει μοριακό βάρος 55.000. Η διαφορά αυτών των συνταγών με τις συνταγές 7 και 8 εντοπίζεται στην προσθήκη Lactose monohydrate σε ίση ποσότητα με τη ποσότητα PVP που χρησιμοποιήθηκε.

Στο σχήμα 2.16 απεικονίζονται τα ποσοστά αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές 9 και 10 στα δύο μέσα διάλυσης (pH 1.2 και pH 7.4).



Σχήμα 2.16: Απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο δισκίων των συνταγών 9 και 10 σε μέσο διάλυσης με pH=1.2 και pH=7.4.

Απ' ότι παρατηρείται στο σχήμα 2.16 και στα δύο μέσα διάλυσης, τα δισκία των συνταγών 9 και 10 εμφανίζουν παρόμοια συμπεριφορά ως προς την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας. Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στις αποδεσμεύσεις από τις συνταγές 7 και 8 που δεν περιείχαν Lactose monohydrate εξομοιώθηκαν με την παρουσία της Lactose στις συνταγές 9 και 10, καθώς η παρουσία της κατέστησε την αποδέσμευση πιο ομαλή, ενώ σε γενικές γραμμές παρέμεινε το προφίλ αποδέσμευσης που παρατηρήθηκε στις περιπτώσεις των συνταγών 7 και 8, οι οποίες περιείχαν τα δύο διαφορετικού βάρους PVP αντίστοιχα.

Στη συνέχεια, παρατίθεται ο πίνακας με τις μέσες τιμές της παραμέτρου D.E % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τις συνταγές 9 και 10.

Πίνακας 2.12: Μέσες τιμές της παραμέτρου D.E. % και του εκθέτη n της σχέσης Peppas για τα δισκία των συνταγών 9 και 10.

ΣΥΝΤΑΓΗ-ΜΕΣΟ ΔΙΑΛΥΣΗΣ	D.E. %	ΤΙΜΗ ΕΚΘΕΤΗ n
Συνταγή 9- μέσο διάλυσης pH 1.2	59.60 %	2.25
Συνταγή 9- μέσο διάλυσης pH 7.4	67.75 %	0.71
Συνταγή 10- μέσο διάλυσης pH 1.2	60.54 %	2.78
Συνταγή 10- μέσο διάλυσης pH 7.4	66.25 %	0.70

Οι τιμές D.E. % του πίνακα 2.12 είναι σύμφωνες με τις καμπύλες αποδέσμευσης.

3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε ο διττός στόχος που περιλάμβανε την παρασκευή δισκίων ελεγχόμενης αποδέσμευσης μελατονίνης με ταχύ αρχικό ρυθμό, προς αντιμετώπιση προβλημάτων έναρξης ύπνου (sleep onset), καθώς και την παρασκευή δισκίων ελεγχόμενης αποδέσμευσης με σχετικά βραδύ αρχικό ρυθμό για τη βελτίωση της ποιότητας του ύπνου (sleep maintenance).

✓ Από τις συνταγές με το ταχύ αρχικό ρυθμό αποδέσμευσης η συνταγή 6, η οποία περιείχε εκτός των άλλων εκδόχων Lactose monohydrate, παρουσίασε την πιο ταχεία αποδέσμευση τόσο σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 όσο και σε pH 7.4. Σε σχέση με τη συνταγή 1, που περιείχε Dextran, η συνταγή 6 εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) σε pH 7.4.

✓ Η συνταγή 4, η οποία περιείχε εκτός της Lactose monohydrate και Avicel PH 102, εκτός της ταχείας αποδέσμευσης της μελατονίνης στο όξινο, αλλά και στο ουδέτερο περιβάλλον εμφάνισε μηχανισμό αποδέσμευσης που τείνει στο μηδενολογικό μοντέλο.

✓ Οι συνταγές που περιείχαν Dextran (1, 2 και 3) είχαν μικρότερη αρχική αποδέσμευση της δραστικής ουσίας σε σχέση με τις υπόλοιπες και ο μηχανισμός αποδέσμευσης στο ουδέτερο περιβάλλον ήταν ανώμαλη διάχυση.

✓ Όπως ήδη προαναφέρθηκε στο κείμενο, η ταχεία αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία της συνταγής 4, σε μέσο με pH 1.2, πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός ότι στην περίπτωση της συνταγής 4 υπάρχει η δυνατότητα σχηματισμού δεσμών υδρογόνου μεταξύ των υδροξυλίων της Lactose monohydrate και του υδρογόνου του αμιδικού NH του μορίου της μελατονίνης. Αυτό δεν μπορεί να συμβεί στη συνταγή 1, στην οποία κυριαρχεί η Dextran ως έκδοχο. Η Dextran χαρακτηρίζεται από έλλειψη πρωτοταγών υδροξυλίων, γεγονός το οποίο δεν της επιτρέπει τον ευχερή σχηματισμό δεσμών υδρογόνου. Οι διαφορές αυτές, κυρίως μεταξύ των συνταγών 1 και 4 παρατηρούνται και στην περίπτωση που το μέσο διάλυσης έχει pH 7.4.

✓ Γενικότερα, η αύξηση της ποσότητας Lactose monohydrate στις συνταγές που παρασκευάστηκαν (συνταγή 4 και συνταγή 6) και κατά συνέπεια η μικρότερη ποσότητα των εκδόχων Dextran, Avicel PH 102 και HPMC K 15M έχει ως αποτέλεσμα την ταχύτερη αποδέσμευση της μελατονίνης από τα αντίστοιχα δισκία και στα δύο μέσα διάλυσης.

✓ Η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τα δισκία της συνταγής 5, η οποία περιέχει HPMC K 15M, παρουσιάζει μηχανισμό αποδέσμευσης, ο οποίος χαρακτηρίζεται από ανώμαλη διάχυση. Από τα δισκία της συνταγής αυτής η αποδέσμευση της μελατονίνης υπήρξε ταχύτερη από ότι από δισκία που περιείχαν Dextran.

✓ Η εισαγωγή του PVP στις συνταγές οδήγησε στην αλλαγή συμπεριφοράς της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας με αποτέλεσμα την επίτευξη του δεύτερου στόχου που ήταν ο βραδύς αρχικός ρυθμός αποδέσμευσης. Αυτό κατεδείχθη και από τη σύγκριση μεταξύ των συνταγών 6 και 7, που στην περίπτωση που το μέσο διάλυσης έχει pH 7.4, οι διαφοροποιήσεις στην αποδέσμευση της μελατονίνης είναι εμφανείς, με τις δύο συνταγές να παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($P < 0,05$) μεταξύ τους.

✓ Όπως ήδη προαναφέρθηκε στο κείμενο, η βραδεία αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία της συνταγής 7 και 8, σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός ότι για τη μετατροπή του γ -λακταμικού δακτυλίου του PVP στο αντίστοιχο *gem*-διολοπαράγωγο μεσολαβούν αρκετά στάδια. Στην περίπτωση που το μέσο διάλυσης έχει pH 7.4, η μεγάλη αρχική καθυστέρηση, που παρατηρείται, πιθανώς να οφείλεται στο ότι στο ουδέτερο περιβάλλον το γ -λακταμικό τμήμα του μορίου του PVP υφίσταται σε δύο δομές συντονισμού από τις οποίες πιθανώς αυτή που είναι ικανή να δράσει ως δέκτης δεσμού υδρογόνου να συμμετέχει σε μικρότερο ποσοστό στο συγκεκριμένο pH του μέσου διάλυσης.

✓ Η διαφορά που παρατηρείται μεταξύ των συνταγών 7 και 8, που περιέχουν διαφορετικού μοριακού βάρους PVP στο ουδέτερο pH, πιθανόν να οφείλεται στις αλληλεπιδράσεις, που μπορεί να έχει το PVP με το μεγαλύτερο μοριακό βάρος, μεταξύ της μεγαλύτερης λιπόφιλης αλυσίδας του, σε σχέση με αυτή του PVP (M.B: 10.000), με το λιπόφιλο ινδολικό τμήμα του μορίου της μελατονίνης, με αποτέλεσμα η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τα δισκία της συνταγής 8 σε μέσο με pH 7.4 να είναι ταχύτερη.

✓ Η προσθήκη του εκδόχου Lactose monohydrate στις συνταγές 9 και 10 σε σχέση με τις συνταγές 7 και 8 που δεν περιείχαν το συγκεκριμένο έκδοχο, ομαλοποίησε την αποδέσμευση της μελατονίνης από τα αντίστοιχα δισκία, διατηρώντας παράλληλα παρόμοια συμπεριφορά ως προς την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τα δισκία που περιείχαν PVP (συνταγές 7 και 8).

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μελατονίνη (*N*-ακετυλο 5-μεθοξυθρυπταμίνη) αποτελεί μία σημαντική ορμόνη της επίφυσης, απαραίτητη για τη ρύθμιση των εποχιακών και των κιρκαδιανών ρυθμών του οργανισμού. Η ενεργοποίησή της θεωρείται ότι πραγματοποιείται μέσω υποδοχέων που ανήκουν στην κατηγορία υποδοχέων που είναι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες. Μελέτες σύνδεσης της ορμόνης με τη χρήση του ραδιοϊσότοπου 2-[¹²⁵I]-ιωδομελατονίνη αποκάλυψαν μια διαδεδομένη κατανομή υποδοχέων του μορίου της ορμόνης σε όλο το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ). Η έκκριση της μελατονίνης στον άνθρωπο γίνεται με φωτοπεριοδικό τρόπο και τα επίπεδά της συγχρονίζονται με το βιολογικό ρολόι του ανθρώπου και τις συνήθειες ώρες του ύπνου. Η εξωγενής λήψη της μελατονίνης επηρεάζει την ποιότητα, τη διάρκεια και την τάση για ύπνο, καθώς διαθέτει υπνωτικές ιδιότητες. Μελέτες έχουν δείξει ότι αυξημένες συγκεντρώσεις μελατονίνης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση προβλημάτων έναρξης του ύπνου. Παρόλα αυτά, η ευρεία χρήση της ως φαρμακευτικής ουσίας περιορίζεται από το γεγονός ότι διαθέτει μικρό χρόνο ημιζωής και χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα. Συνεπώς, οι διαθέσιμες φαρμακοτεχνικές μορφές χορήγησης μελατονίνης που μιμούνται το φυσιολογικό ρυθμό έκκρισής της στον οργανισμό, είναι πολύ περιορισμένες.

Στην παρούσα εργασία διεξήχθησαν μελέτες που αφορούν στην παρασκευή στερεών φαρμακοτεχνικών μορφών ελεγχόμενης αποδέσμευσης της μελατονίνης για την επίτευξη διττού στόχου, δηλαδή δισκία για ταχύ αρχικό ρυθμό αποδέσμευσης της ορμόνης, προς αντιμετώπιση προβλημάτων έναρξης ύπνου (sleep onset), καθώς και δισκία με σχετικά βραδύ αρχικό ρυθμό αποδέσμευσης, με στόχο τη βελτίωση της ποιότητας του ύπνου (sleep quality ή maintenance). Και στις δύο περιπτώσεις επιδιώχθηκε η ολοκλήρωση της αποδέσμευσης εντός οχτώ ωρών. Για την επίτευξη της αρχικά ταχείας αποδέσμευσης χρησιμοποιήθηκαν έκδοχα, όπως η λακτόζη, το αλγινικό νάτριο, η υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη (HPMC K15 M), η δεξτράνη και το Avicel PH 102, σε ποικίλους συνδυασμούς. Για την επίτευξη της βραδείας αρχικά αποδέσμευσης, τα έκδοχα που επιλέχθηκαν ήταν πολυβινυλοπυρολιδόνες (PVP) δύο διαφορετικών μοριακών βαρών (10000 και 55000), καθώς και συνδυασμός τους με μονοϋδρική λακτόζη. Οι μελέτες διεξήχθησαν σε δύο μέσα διάλυσης, με pH 1.2 και pH 7.4, προσομοιάζοντας το γαστρικό και εντερικό υγρό, αντίστοιχα. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα τα οποία ελήφθησαν από τις μελέτες αποδέσμευσης της μελατονίνης από τα παραπάνω δισκία έδειξαν ότι η παρουσία λακτόζης στα δισκία διευκολύνει την ταχεία αποδέσμευση και στα δύο μέσα διάλυσης, ενώ ο συνδυασμός της με το Avicel PH 102 οδήγησε σε μηχανισμό αποδέσμευσης του μηδενοταξικού μοντέλου. Η παρουσία δεξτράνης επέφερε μειωμένη αποδέσμευση, ακολουθώντας κυρίως μηχανισμό αποδέσμευσης ανώμαλης διάχυσης. Η προσθήκη PVP, ανεξαρτήτως μοριακού βάρους, στα δισκία, οδήγησε σε μία αρχικά βραδεία και στη συνέχεια απότομη αποδέσμευση, στο ουδέτερο περιβάλλον, ενώ στο όξινο μέσο διάλυσης παρατηρήθηκε αρχική καθυστέρηση την οποία διαδέχτηκε μία βελτιωμένη και σταδιακή αποδέσμευση.

ABSTRACT

The pineal hormone melatonin (*N*-acetyl 5-methoxytryptamine), is an important component in the regulation of seasonal and circadian rhythms. Its action is believed to be mediated through a family of specific, high-affinity, G-protein-coupled cell membrane receptors, and radioligand binding studies using 2-[¹²⁵I]-iodomelatonin have revealed a widespread, heterogeneous distribution of binding sites throughout the central nervous system.

The secretion of the hormone is closely synchronized with the habitual hours of sleep in humans. Ingestion of melatonin affects sleep propensity, duration and quality of sleep, and has hypnotic effects. Human studies have also indicated that increasing serum melatonin concentrations can trigger the onset of sleep. However, the use of melatonin as a drug is hampered by its short biological half-life and poor bioavailability. As a result, dosage forms, which mimic the physiologically secreted melatonin concentration versus time model, are limited.

In the context of this work a series of hydrophilic matrix tablets was prepared and tested with respect to the ability of some of them to release melatonin in a quick initial pace, for treating sleep onset problems, and of others to release melatonin at a relatively slow initial pace, aiming at improving sleep quality and/or sleep maintenance. In both cases it was indented to achieve completion of the hormone's release within eight hours. In order to achieve quick initial release of melatonin, excipients like lactose, sodium alginate, hydroxypropylmethylcellulose (HPMC K15 M), dextran and Avicel PH 102 were employed in various combinations. Conversely, in order to effect slow initial release of melatonin, tablets containing polyvinylpyrrolidone (PVP) of two different molecular weights (10000 and 55000), and lactose monohydrate, were prepared. The dissolution studies were conducted in two media of pH 1.2 (gastric simulated fluid) and pH 7.4 (intestine simulated fluid). In summary, the results of the melatonin release from the above tablets showed that the presence of lactose facilitates quick initial release, irrespectively of the pH of the medium used. Moreover, when lactose was combined with Avicel PH 102 a zero-order release mechanism, was attained. The presence of dextran in the tablets reduced the release of the active compound at an early stage and an anomalous diffusion release mechanism, was prevalent. The addition of PVP to the tablets, regardless of its molecular weight, led to an initially slow and then sudden release in the neutral medium, while in the acidic environment an initial delay in the release of melatonin was followed by a more abrupt and yet gradual release.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αντιμησιάρη Σ., **1989**, Φαρμακευτική Τεχνολογία II, Design and Preparation of Drug Formulation Practical course in Pharmaceutical Technology, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Φαρμακευτικής, κεφάλαιο 3
- Βλάχου-Κωνσταντινίδου Μ.Δ., **2009-2010**, Φυσική Φαρμακευτική, Σημειώσεις Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης Βιομηχανικής Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα
- Εικοσιπεντάκη Αφ., **2011**, Διπλωματική εργασία Διδακτορικής Διατριβής: Νέα κυτταροτοξικά C₂-υποκατεστημένα διμερή παράγωγα της πυρρολο[2,3-f]κινολίνης: Μελέτες μοριακής προσομοίωσης Monte Carlo και φασματοσκοπίας NMR στην ελεγχόμενη αποδέσμευση τους από στερεές φαρμακοτεχνικές μορφές, Αθήνα
- Εφεντάκης Μ., **1989**, Νεώτερα Φαρμακευτικά Συστήματα, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα
- Εφεντάκης Μ., **2004**, Φαρμακευτική τεχνολογία των στερεών φαρμακευτικών μορφών, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Φαρμακευτικής, Αθήνα
- Καραγιαννίδου, Ε.Γ., Σιδερίδου, **2010**, Ε.Δ. Εφαρμογή των πολυμερών στην παραγωγή φαρμακευτικών σκευασμάτων με ελεγχόμενη απελευθέρωση της δραστικής ουσίας. Μέρος Ι. *Χημικά Χρονικά*, 2, 21-26
- Μαλαματάρης Σ.Χ., **1995**. Τεχνολογία Στερεών Φαρμακευτικών Μορφών. Υπηρεσία Δημοσιευμάτων Α.Π.Θ., Θεσ/νίκη
- Μαχαίρας Π., Ρέππας Χ., **1997**, Βιοφαρμακευτική, Αθήνα
- Παπαδοκωστάκη Κ., **2005**, Πολυμερικά Συστήματα Ελεγχόμενης Αποδέσμευσης Βιοδραστικών Ουσιών, Εργαστήριο Μελέτης Φαινομένων Μεταφοράς Ύλης σε Πολυμερή, Ινστιτούτο Φυσικοχημείας, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ»
- Παπαρηγόπουλος Θ., Κοντοάγγελος Κ., **2003**, Μελατονίνη και ψυχικές διαταραχές, *Ψυχιατρική*, Τόμος 14, Τεύχος 4, σελ. 287-302
- Τσιακούλια Αθ., **2007**, Διπλωματική εργασία Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης: Χρονοβιοτική Ορμόνη Μελατονίνη: Μελέτες ελεγχόμενης αποδέσμευσης από στερεές Φαρμακοτεχνικές Μορφές, Αθήνα

ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bamba M., Puisieux F., Marty J-P., Carstensen J. T., **1979**, Release Mechanisms in Gelforming Sustained Release Preparations, *Int. J. Pharm. Sci.*, Vol 2, pp 307-315
- Becker-Andre M., Wiesenbergr Ir., Schaeren-Wiemers N., Andre El., Missbach M., Saurat J., Carlberg C., **1994**, Pineal gland hormone melatonin binds and activates an orphan of the nuclear receptor superfamily, *J. Biol. Chem.*, Vol 269, No 26, pp 28531-28534
- Bettini R., Catellani P.L., Santi P., Massimo G., Peppas N.A., Colombo P., **2001**, Translocation of drug particles in HPMC matrix gel layer: effect of drug solubility and influence on release rate, *J. controlled release*, Vol.70, pp 383-391
- Birdsall T.C., **1996**, The biological effects and clinical uses of the pineal hormone melatonin, *Altern. Med. Rev.*, Vol 1, pp 94-102
- Blask DE, Sauer LA, Dauchy RT., **2002**, Melatonin as a chronobiotic/anticancer agent: cellular, biochemical, and molecular mechanisms of action and their implications for circadian-based cancer therapy, *Curr Top Med Chem*, Vol 2, pp 113-132
- Bonnefont-Rousselot D., Collin F., **2010**, Melatonin: Action as antioxidant and potential applications in human disease and aging, *Toxicology*, Vol 278, Issue 1, pp 55-67
- Borodkin S., Tucker F.E., **1974**, Drug Release from hydroxypropyl cellulose-polyvinyl acetate films, *J. Pharm. Sci.*, Vol 63, No 9, pp 1359-1364
- Brown G.M., Pandi-Perumal S.R., Trakht Il., Cardinali D.P., **2009**, Melatonin and its relevance to jet lag, *Travel Med Infect Dis.*, Vol 7, No 2, pp 69-81
- Bubenik G.A., Konturek S.J., **2011**, Melatonin and aging: Prospects for human treatment, *J. Physiol. Pharmacol.*, Vol 62, No 1, pp 13-19
- Bühler Volker, **2005**, Polyvinylpyrrolidone, Excipients for Pharmaceuticals - Povidone, Crospovidone and Copovidone, Springer. pp. 1-254
- Carter D.S., Goldman B.D., **1983**, Progonal role of the pineal in the djungarian hamster (*phodopus sungorus sungorus*): Mediation by melatonin, *Endocrinol.*, Vol 113, No 4, pp 1268- 1273

- Cos S., Sinchez-Barcelo E.J., **1995**, Melatonin inhibition of MCF-7 human breast-cancer cells growth: influence of cell proliferation rate, *Cancer letters*, Vol 93, pp 207-212
- Demetzos C., **2006**, Dendrimers as drug carriers. A new approach to increase the potential of bioactive natural products. *Natural Product Communications*, Vol 1, No 7, pp 593-600
- Dulin W.A. **1995**, Degradation of bisoprolol fumarate in tablets formulated with dicalcium phosphate, *Drug Dev. Ind. Pharm.* Vol. 21, No 4, pp 393-409
- Edwards BJ, Atkinson G, Waterhouse J, Reilly T, Godfrey R, Budgett R., **2000**, Use of melatonin in recovery from jet-lag following an eastward flight across 10 time-zones., *Ergonomics*, Vol 43, pp 1501–1513
- Fourtillan J.B., Brisson A.M., Gobin P., Ingrand I., Decourt J.Ph., Girault J., **2000**, Bioavailability of melatonin in humans after day-time administration of D₇ melatonin, *Biopharm. Drug Dispos.*, Vol 21, pp 15–22
- Garfinkel D., Laudon M., Zisapel N., **1997**, Improvement of sleep quality by controlled-release melatonin in benzodiazepine-treated elderly insomniacs, *Arch. of Gerontol. Geriatr.*, Vol 24, pp 223-231
- Ghahramanpoor MK, Hassani Najafabadi SA, Abdouss M, Bagheri F, Baghaban Eslaminejad M., **2011**, A hydrophobically-modified alginate gel system: utility in the repair of articular cartilage defects, *J Mater Sci Mater Med*.
- Gohel M.C., Jogani P.D., **2005**, A review of co-processed directly compressible excipients, *J Pharm Pharmaceut Sci*, Vol.8, No 1, pp 76-93
- Guardiola-Lemaître B., Quera-Salva M. A., **2011**, Melatonin and the Regulation of Sleep and Circadian Rhythms, *Principles and Practise of Sleep Medicine* (5th edition), Chapter 36, pp 420-430
- Heller J., **1980**, Controlled release of biologically active compounds from bioerodible polymers, *Biomaterials*, Vol 1, pp 51-57
- Herxheimer A, Petrie KJ., **2002**, Melatonin for the prevention and treatment of jet lag. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 2
- Herxheimer A, Waterhouse J., **2003**, Melatonin for the prevention and treatment of jet lag., *BMJ*, Vol 326, pp 297
- Higuchi W.I., **1962**, Analysis of Data on the Medicament Release from Ointments, *J. Pharm. Sci.*, Vol 51, no 8, pp 802-804

- Higuchi T., **1963**, Mechanism of Sustained Action Medication. Theoretical Analysis of Rate of Release of Release of Solid Drugs Dispersed in Solid Matrices, J. Pharm. Sci., Vol 52, no 12, pp 1145-1149
- Hoffman K., **1979**, Photoperiod, pineal, melatonin and reproduction in hamsters, Prog. in Brain Res., Vol 52, pp 397-415
- Honkanen Outi, Marvola M., Eerikainen S., Ketolainen J., **2004**, Doctoral dissertation: Biopharmaceutical evaluation of orally and rectally administrated hard hydroxypropyl methylcellulose capsules, Helsinki
- Jung B., Ahmad N., **2006**, Melatonin in cancer management: Progress and promise, Cancer Res., Vol 66, pp 9789-9793
- Katzhendler If., Hoffman Am., Goldberger As., Friedman M., **1997**, Modeling of drug realese from erodible tablets, J. Pharm. Sci., Vol 86, No 1, pp 110-115
- Kennaway D.J., **2005**, The role of cicardian rhythmicity in reproduction, Hum. Reprod. Update, Vol 11, No 1, pp 91-101
- Korsmeyer R.W., Gurny R., Doelker E., Buri P., Peppas N.A., **1983**, Mechanisms of Solute Release from Porous Hydrophillic Polymers, Int. J. Pharm., Vol 15, pp 25-35
- Kosmidis K., Rinaki El, Argyrakakis P., Macheras P., **2003**, Analysis of Case II drug transport with radial and axial release from cylinders., Int. J. Pharm. Vol 254, pp 183–188
- Kostoglou-Athanassiou I., Athanassiou P., Treacher D.F, Wheeler M.J., Forsling M.L., **1998**, Neurohypophysial hormone and melatonin secretion over the natural and suppressed menstrual cycle in premenopausal women, Clin Endocrinol, Vol 49, pp 209–216
- Langer R.S., Peppas N.A., **1981**, Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems, Biomaterials, Vol 2, pp 201-214
- Lapidus H., Lordi N. G., **1966**, Some Factors Affecting the Release of a Water Soluble Drug from a Compressed Hydrophillic Matrix, J. Pharm. Sci., Vol 55, pp 840-843
- Lapidus H., Lordi N. G., **1968**, Drug Release from Compressed Hydrophillic Matrices, J. Pharm. Sci., Vol 57, pp 1292-1301
- Lee P.I., **1985**, Kinetics of drug release from hydrogel matrices, J. controlled release, Vol 2, pp 277-288

- Lee P.L., Good W.R, **1987**, Controlled release Technology, Pharmaceutical Applications, Chapter 1, pp 1–13
- Lee P.I., Peppas N.A., **1987**, Prediction of polymer dissolution in swellable controlled release systems, J. controlled release, Vol 6, pp 207-215
- Lissoni P., Tisi E., Barni S., Ardizzioia A., Rovelli F, Rescaldani R, Ballabio D., Benenti C, Angeli M., Tancini G., Conti A., Maestroni G.J.M., **1992**, Biological and clinical results of a neuroimmunotherapy with interleukin-2 and the pineal hormone melatonin as a first line treatment in advanced non-small cell lung cancer, Br. J. Cancer, Vol 66, pp 155-158
- Lissoni P., Barni S., Tancini G., Ardizzioia A., Ricci G., Aldeghi R., Brivio F., Tisi E., Rovelli F., Rescaldani R., Quadro G., Maestroni G., **1994**, A randomised study with subcutaneous low-dose interleukin 2 alone vs interleukin 2 plus the pineal neurohormone melatonin in advanced solid neoplasms other than renal cancer and melanoma, Br. J. Cancer, Vol 69, pp 196-199
- MacFarlane J.G., Cleghorn J.M., Brown G.M., Streiner D.L., **1991**, The effects of exogenous melatonin on the total sleep time and daytime alertness of chronic insomniacs: a preliminary study, Biol Psychiatry, Vol 30, pp. 371–376
- Maldonado M.D., Pérez-San-Gregorio M.A., Reiter R.J, **2009**, The Role of Melatonin in the Immuno-Neuro-Psychology of Mental Disorders, Recent Pat CNS Drug Discov., Vol 4, No 4, pp 61-69
- Martin A., **1993**, Physical Pharmacy (4th ed.), Lea & Febiger, Philadelphia
- Miranda An., Millan M., Caraballo Is., **2006**, Study of the critical points of HPMC hydrophilic matrices for controlled drug delivery, Int. J. Pharm, Vol. 311, No 1-2, pp 75–81
- Möckel J.E, Lippold B.C., **1993**, Zero-order drug release from hydrocolloid matrices, Pharm Res., Vol 7, pp 1066-1070
- Naji L, Carrillo-Vico A, Guerrero JM, Calvo JR., **2004**, Expression of membrane and nuclear melatonin receptors in peripheral organs., Life Sci, Vol 74, pp 2227–2236
- O'Neil, M.J. (ed.), **2001**, The Merck Index-An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, 13th Edition, Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc., p. 1039

- Pacchierotti C., Iapichino S., Bossini L., Pieraccini F., Castrogiovanni P., **2001**, Melatonin in Psychiatric Disorders: A Review on the Melatonin Involvement in Psychiatry, *Front Neuroendocrinol.*, Vol 22, No 1, pp 18-32
- Paulis L., Simko F., **2007**, Blood pressure modulation and cardiovascular protection by melatonin: potential mechanisms behind. *Physiol Res.*, Vol 56, pp 671-84
- Peppas N.A., **1985**, Analysis of Fickian and Non-Fickian Drug Release from Polymers., *Pharm. Acta Helv.*, Vol 60, pp 110-111
- Peppas N.A., Sahlin J.J., **1989**, A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation *Int. J. Pharm.*, Vol 57, pp 169-172
- Product Information Brochure: Dextran Fractions, **2001-11**, Amersham Biosciences, 18-1153-41 AA, pp 1-5
- Product Information Brochure, **2005**, FMC Biopolymer, The science of formulation, Meeting your challenges today and tomorrow, Binders, Avicel PH, USA
- Ragnar Ek, Goran Alderborn, Christer Nystrom, **1994**, Particle analysis of microcrystalline cellulose: Differentiation between individual particles and their agglomerates, *Int. J. Pharm.*, Vol 111, pp 43-50
- Reiter R.J., **1995**, Functional pleiotropy of the neurohormone melatonin: antioxidant protection and neuroendocrine regulation, *Front Neuroendocrinol.*, Vol 16, Issue 4, pp 383-415
- Reiter R.J., **2003**, Melatonin: Clinical relevance., *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, Vol 17, pp 273-285
- Reiter R.J., Paredes S.D., Korkmaz A., Manchester L.C., Tan D.X., **2008**, Melatonin in relation to the "strong" and "weak" versions of the free radical theory of aging, *Advances in Medical Sciences*, Vol 53, Issue 2, pp 119-129
- Reiter R.J., Tan D.X., Manchester L.C., Paredes S.D., Juan C. Mayo J.C., Sainz R.M., **2009**, Melatonin and Reproduction Revisited, *Biol. Reprod.*, Vol 81, pp 445-456
- Ritger P.L., Peppas N.A., **1987**, A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-Fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or disks., *J. Contr. Rel.*, Vol 5, pp 23-36
- Rodella L.F., Favero G., Rossini C., Foglio E., Bonomini F., Reiter R.J., Rezzani R., **2011**, Aging and vascular dysfunction: beneficial melatonin effects, *Italian J. Anatomy and Embryology*, Vol 116, No 1

- Sandip B. Tiwari, T. Krishna Murthy, M. Raveendra Pai, Pavak R. Mehta, Pasula B. Chowdary, **2003**, Controlled Release Formulation of Tramadol Hydrochloride Using Hydrophilic and Hydrophobic Matrix System, *PharmSciTech*, Vol 4, No 3, Article 31, pp 18-23
- Shilo L., Dagan Y., Smorjik Y., Weinberg U., Dolev S., Komptel B., Shenkman L., **2000**, Effect of melatonin on sleep quality of copd intensive care patients: a pilot study, *Chronob. Int.*, Vol 17, No 1, pp 71-76
- Siepmann J., Peppas N.A., **2011**, Higuchi equation: Derivation, applications, use and misuse, *Int. J. Pharm.*, Vol 418, pp 6-12
- Simonneaux V, Ribelayga C., **2003**, Generation of the melatonin endocrine message in mammals: A review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters., *Pharmacol. Rev.*, Vol 55, pp 325–395
- Smirnov A. N., **2001**, Nuclear melatonin receptors, *Biochem.*, Vol. 66, No. 1, pp. 19-26
- Srinivasan V., Pandi-Perumal S.R., Cardinali D.P., Poeggeler B., Hardeland R., **2006**, Melatonin in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders, *Behav. Brain funct.*, Vol 2, No 15, pp 1-23
- Steinbüchel Al., Rhee S.K., **2005**, Polysaccharides and polyamides in the food industry, Vol 1, Wiley-VCH
- Sunil Kamboj , G. D. Gupta, Jagmohan Oberoy, **2009**, Matrix Tablets: An Important Tool for Oral Controlled-Release Dosage Forms, *Pharm. News*, *Pharm. Articles*, Vol. 7, No 6
- Taborsky R.G., Delvigs P., Page Ir. H., **1965**, 6-Hydroxyindoles and the metabolism of melatonin, *J. Med. Chem.*, Vol 8, No 6, pp 855-858
- Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, Mayo JC, Kohen R, Allegra M, Hardeland R., **2002**, Chemical and Physical Properties and Potential Mechanisms: Melatonin as a Broad Spectrum Antioxidant and Free Radical Scavenger, *Curr. Top Med. Chem.*, Vol 2, No 2, pp 181-197
- Tan DX, Manchester LC, Hardeland R., **2003**, Melatonin: A hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid and an antioxidant vitamin, *J. Pineal Res.*, Vol 34, pp 75–78

- Tan DX, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ., **2007**, One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species?, *J Pineal Res*, Vol 42, pp 28-42
- Tomás-Zapico C., Coto-Montes A., **2007**, Melatonin as Antioxidant Under Pathological Processes, *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery*, Vol 1, pp 63-82
- Tsotinis An., Vlachou M., Papahatjis D.P., Calogeropoulou T., Nikas S.P., Garratt P.J, Piccio V., Vonhoff S., Davidson K., Teh M., Sugden D., **2006**, Mapping the melatonin receptor. 7. Subtype selective ligands based on β -substituted *N*-acyl-5-methoxytryptamines and β -substituted *N*-acyl-5-methoxy-1-methyltryptamines., *J. Med. Chem*, Vol 49, No 12, pp 3509-3519
- Uzunovic A, Vranic E, **2007**, Effect of magnesium stearate concentration on dissolution properties of ranitidine hydrochloride coated tablets, *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, Vol. 7, No 3, pp. 279-283
- Wade Al. G., Ford I., Crawford G., McConnachie Al., Nir T., Laudon M., Zisapel N., **2010**, Nightly treatment of primary insomnia with prolonged release melatonin for 6 months: a randomized placebo controlled trial on age and endogenous melatonin as predictors of efficacy and safety, *BioMed Cent.*, Vol 8, Issue 1, pp 1-18
- Wiesenberg Ir., Missbach M., Kahlen J., Schrader M., Carlberg C., **1995**, Transcriptional activation of the nuclear receptor RZR α by the pineal gland hormone melatonin and identification of CGP 52608 as a synthetic ligand, *Nuc. Acid Res.*, Vol 23, No 3, pp 327-333
- Witt-Enderby PA, Bennet J, Jarzynka MJ, **2003**, Melatonin receptors and their regulation: Biochemical and structural mechanisms., *Life Sci*, Vol 72, pp 2183–2198
- Wong L.P., Gilligan C.A., Wan PO A. Li, **1992**, Preparation and characterisation of sustained-release ibuprofen-cetostearyl alcohol spheres, *Int. J. Pharm.*, Vol 83, pp 95-114
- Xiaoguang Wen, Ali Nokhodchi, Ali Raiabi-Siahboomi, **2010**, Oral extended release hydrophilic matrices: formulation and design, *Oral controlled release formulation design and drug delivery: Theory to practice*, pp. 89-98
- Zisapel N., **2000**, Development of a Melatonin-Based Formulation for the Treatment of Insomnia in the Elderly, *Drug Dev. Res.*, Vol 50, pp 226-234

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ANOVA % release 480 min

Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
1 pH=1.2 vs 2 pH=1.2	3,474	0,3770	No	ns	-43.73 to 50.67
1 pH=1.2 vs 3 pH=1.2	1,203	0,1305	No	ns	-46.00 to 48.40
1 pH=1.2 vs 4 pH=1.2	-8,917	0,9678	No	ns	-56.12 to 38.28
1 pH=1.2 vs 5 pH=1.2	-1,477	0,1603	No	ns	-48.68 to 45.72
1 pH=1.2 vs 6 pH=1.2	-15,13	1,642	No	ns	-62.33 to 32.07
1 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	-11,90	1,291	No	ns	-59.10 to 35.30
1 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-14,42	1,565	No	ns	-61.62 to 32.78
1 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	-8,096	0,8787	No	ns	-55.30 to 39.10
1 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	-9,301	1,009	No	ns	-56.50 to 37.90
1 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	-0,7530	0,08173	No	ns	-47.95 to 46.45
1 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-20,03	2,174	No	ns	-67.23 to 27.17
1 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-22,94	2,490	No	ns	-70.14 to 24.26
1 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-26,10	2,833	No	ns	-73.30 to 21.10
1 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-32,38	3,514	No	ns	-79.58 to 14.82
1 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-35,21	3,822	No	ns	-82.41 to 11.99
1 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	-11,42	1,239	No	ns	-58.62 to 35.78
1 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-18,62	2,020	No	ns	-65.82 to 28.58
1 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-16,54	1,795	No	ns	-63.74 to 30.66
1 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-15,35	1,666	No	ns	-62.55 to 31.85
2 pH=1.2 vs 3 pH=1.2	-2,271	0,2465	No	ns	-49.47 to 44.93
2 pH=1.2 vs 4 pH=1.2	-12,39	1,345	No	ns	-59.59 to 34.81
2 pH=1.2 vs 5 pH=1.2	-4,951	0,5373	No	ns	-52.15 to 42.25
2 pH=1.2 vs 6 pH=1.2	-18,60	2,019	No	ns	-65.80 to 28.60
2 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	-15,37	1,668	No	ns	-62.57 to 31.83
2 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-17,89	1,942	No	ns	-65.09 to 29.31
2 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	-11,57	1,256	No	ns	-58.77 to 35.63
2 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	-12,77	1,386	No	ns	-59.97 to 34.43
2 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	-4,227	0,4587	No	ns	-51.43 to 42.97
2 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-23,50	2,551	No	ns	-70.70 to 23.70
2 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-26,41	2,867	No	ns	-73.61 to 20.79
2 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-29,58	3,210	No	ns	-76.78 to 17.62
2 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-35,85	3,891	No	ns	-83.05 to 11.35
2 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-38,69	4,199	No	ns	-85.89 to 8.512
2 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	-14,89	1,616	No	ns	-62.09 to 32.31
2 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-22,09	2,397	No	ns	-69.29 to 25.11
2 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-20,01	2,172	No	ns	-67.21 to 27.19
2 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-18,82	2,043	No	ns	-66.02 to 28.38
3 pH=1.2 vs 4 pH=1.2	-10,12	1,098	No	ns	-57.32 to 37.08
3 pH=1.2 vs 5 pH=1.2	-2,680	0,2909	No	ns	-49.88 to 44.52
3 pH=1.2 vs 6 pH=1.2	-16,33	1,772	No	ns	-63.53 to 30.87
3 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	-13,10	1,422	No	ns	-60.30 to 34.10
3 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-15,62	1,695	No	ns	-62.82 to 31.58
3 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	-9,299	1,009	No	ns	-56.50 to 37.90
3 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	-10,50	1,140	No	ns	-57.70 to 36.70
3 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	-1,956	0,2123	No	ns	-49.16 to 45.24
3 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-21,23	2,304	No	ns	-68.43 to 25.97
3 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-24,14	2,620	No	ns	-71.34 to 23.06
3 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-27,31	2,964	No	ns	-74.51 to 19.89
3 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-33,58	3,645	No	ns	-80.78 to 13.62
3 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-36,42	3,952	No	ns	-83.62 to 10.78
3 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	-12,62	1,370	No	ns	-59.82 to 34.58
3 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-19,82	2,151	No	ns	-67.02 to 27.38

3 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-17,74	1,926	No	ns	-64.94 to 29.46
3 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-16,55	1,796	No	ns	-63.75 to 30.65
4 pH=1.2 vs 5 pH=1.2	7,440	0,8075	No	ns	-39.76 to 54.64
4 pH=1.2 vs 6 pH=1.2	-6,209	0,6739	No	ns	-53.41 to 40.99
4 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	-2,981	0,3235	No	ns	-50.18 to 44.22
4 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-5,498	0,5967	No	ns	-52.70 to 41.70
4 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	0,8212	0,08913	No	ns	-46.38 to 48.02
4 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	-0,3833	0,04160	No	ns	-47.58 to 46.82
4 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	8,164	0,8861	No	ns	-39.04 to 55.36
4 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-11,11	1,206	No	ns	-58.31 to 36.09
4 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-14,02	1,522	No	ns	-61.22 to 33.18
4 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-17,19	1,865	No	ns	-64.39 to 30.01
4 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-23,46	2,546	No	ns	-70.66 to 23.74
4 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-26,30	2,854	No	ns	-73.50 to 20.90
4 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	-2,501	0,2714	No	ns	-49.70 to 44.70
4 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-9,698	1,053	No	ns	-56.90 to 37.50
4 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-7,622	0,8272	No	ns	-54.82 to 39.58
4 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-6,430	0,6979	No	ns	-53.63 to 40.77
5 pH=1.2 vs 6 pH=1.2	-13,65	1,481	No	ns	-60.85 to 33.55
5 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	-10,42	1,131	No	ns	-57.62 to 36.78
5 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-12,94	1,404	No	ns	-60.14 to 34.26
5 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	-6,619	0,7184	No	ns	-53.82 to 40.58
5 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	-7,823	0,8491	No	ns	-55.02 to 39.38
5 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	0,7242	0,07861	No	ns	-46.48 to 47.92
5 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-18,55	2,013	No	ns	-65.75 to 28.65
5 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-21,46	2,329	No	ns	-68.66 to 25.74
5 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-24,63	2,673	No	ns	-71.83 to 22.57
5 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-30,90	3,354	No	ns	-78.10 to 16.30
5 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-33,74	3,662	No	ns	-80.94 to 13.46
5 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	-9,941	1,079	No	ns	-57.14 to 37.26
5 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-17,14	1,860	No	ns	-64.34 to 30.06
5 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-15,06	1,635	No	ns	-62.26 to 32.14
5 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-13,87	1,505	No	ns	-61.07 to 33.33
6 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	3,228	0,3504	No	ns	-43.97 to 50.43
6 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	0,7112	0,07719	No	ns	-46.49 to 47.91
6 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	7,031	0,7631	No	ns	-40.17 to 54.23
6 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	5,826	0,6323	No	ns	-41.37 to 53.03
6 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	14,37	1,560	No	ns	-32.83 to 61.57
6 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-4,901	0,5319	No	ns	-52.10 to 42.30
6 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-7,813	0,8480	No	ns	-55.01 to 39.39
6 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-10,98	1,191	No	ns	-58.18 to 36.22
6 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-17,25	1,873	No	ns	-64.45 to 29.95
6 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-20,09	2,180	No	ns	-67.29 to 27.11
6 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	3,708	0,4025	No	ns	-43.49 to 50.91
6 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-3,489	0,3787	No	ns	-50.69 to 43.71
6 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-1,412	0,1533	No	ns	-48.61 to 45.79
6 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-0,2209	0,02398	No	ns	-47.42 to 46.98
7 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-2,517	0,2732	No	ns	-49.72 to 44.68
7 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	3,802	0,4127	No	ns	-43.40 to 51.00
7 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	2,598	0,2819	No	ns	-44.60 to 49.80
7 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	11,15	1,210	No	ns	-36.06 to 58.35
7 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-8,130	0,8823	No	ns	-55.33 to 39.07
7 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-11,04	1,198	No	ns	-58.24 to 36.16
7 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-14,20	1,542	No	ns	-61.41 to 33.00
7 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-20,48	2,223	No	ns	-67.68 to 26.72
7 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-23,32	2,531	No	ns	-70.52 to 23.88

7 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	0,4800	0,05210	No	ns	-46.72 to 47.68
7 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-6,717	0,7290	No	ns	-53.92 to 40.48
7 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-4,641	0,5037	No	ns	-51.84 to 42.56
7 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-3,449	0,3744	No	ns	-50.65 to 43.75
8 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	6,319	0,6859	No	ns	-40.88 to 53.52
8 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	5,115	0,5551	No	ns	-42.09 to 52.32
8 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	13,66	1,483	No	ns	-33.54 to 60.86
8 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-5,612	0,6091	No	ns	-52.81 to 41.59
8 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-8,525	0,9252	No	ns	-55.72 to 38.68
8 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-11,69	1,268	No	ns	-58.89 to 35.51
8 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-17,96	1,950	No	ns	-65.16 to 29.24
8 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-20,80	2,257	No	ns	-68.00 to 26.40
8 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	2,997	0,3253	No	ns	-44.20 to 50.20
8 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-4,200	0,4558	No	ns	-51.40 to 43.00
8 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-2,124	0,2305	No	ns	-49.32 to 45.08
8 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-0,9321	0,1012	No	ns	-48.13 to 46.27
9 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	-1,205	0,1307	No	ns	-48.40 to 46.00
9 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	7,343	0,7970	No	ns	-39.86 to 54.54
9 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-11,93	1,295	No	ns	-59.13 to 35.27
9 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-14,84	1,611	No	ns	-62.04 to 32.36
9 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-18,01	1,954	No	ns	-65.21 to 29.19
9 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-24,28	2,636	No	ns	-71.48 to 22.92
9 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-27,12	2,943	No	ns	-74.32 to 20.08
9 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	-3,322	0,3606	No	ns	-50.52 to 43.88
9 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-10,52	1,142	No	ns	-57.72 to 36.68
9 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-8,443	0,9164	No	ns	-55.64 to 38.76
9 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-7,252	0,7870	No	ns	-54.45 to 39.95
10 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	8,548	0,9277	No	ns	-38.65 to 55.75
10 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-10,73	1,164	No	ns	-57.93 to 36.47
10 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-13,64	1,480	No	ns	-60.84 to 33.56
10 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-16,80	1,824	No	ns	-64.00 to 30.40
10 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-23,08	2,505	No	ns	-70.28 to 24.12
10 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-25,91	2,813	No	ns	-73.11 to 21.29
10 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	-2,118	0,2298	No	ns	-49.32 to 45.08
10 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-9,315	1,011	No	ns	-56.52 to 37.89
10 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-7,238	0,7856	No	ns	-54.44 to 39.96
10 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-6,047	0,6563	No	ns	-53.25 to 41.15
1 pH=7.4 vs 2 pH=7.4	-19,27	2,092	No	ns	-66.48 to 27.93
1 pH=7.4 vs 3 pH=7.4	-22,19	2,408	No	ns	-69.39 to 25.01
1 pH=7.4 vs 4 pH=7.4	-25,35	2,751	No	ns	-72.55 to 21.85
1 pH=7.4 vs 5 pH=7.4	-31,63	3,433	No	ns	-78.83 to 15.57
1 pH=7.4 vs 6 pH=7.4	-34,46	3,740	No	ns	-81.66 to 12.74
1 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	-10,67	1,158	No	ns	-57.87 to 36.54
1 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	-17,86	1,939	No	ns	-65.06 to 29.34
1 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	-15,79	1,713	No	ns	-62.99 to 31.41
1 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	-14,59	1,584	No	ns	-61.79 to 32.61
2 pH=7.4 vs 3 pH=7.4	-2,912	0,3161	No	ns	-50.11 to 44.29
2 pH=7.4 vs 4 pH=7.4	-6,075	0,6594	No	ns	-53.28 to 41.13
2 pH=7.4 vs 5 pH=7.4	-12,35	1,341	No	ns	-59.55 to 34.85
2 pH=7.4 vs 6 pH=7.4	-15,19	1,648	No	ns	-62.39 to 32.01
2 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	8,610	0,9344	No	ns	-38.59 to 55.81
2 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	1,412	0,1533	No	ns	-45.79 to 48.61
2 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	3,489	0,3787	No	ns	-43.71 to 50.69
2 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	4,680	0,5080	No	ns	-42.52 to 51.88
3 pH=7.4 vs 4 pH=7.4	-3,163	0,3433	No	ns	-50.36 to 44.04
3 pH=7.4 vs 5 pH=7.4	-9,440	1,025	No	ns	-56.64 to 37.76

3 pH=7.4 vs 6 pH=7.4	-12,27	1,332	No	ns	-59.47 to 34.93
3 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	11,52	1,251	No	ns	-35.68 to 58.72
3 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	4,325	0,4694	No	ns	-42.88 to 51.52
3 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	6,401	0,6947	No	ns	-40.80 to 53.60
3 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	7,592	0,8240	No	ns	-39.61 to 54.79
4 pH=7.4 vs 5 pH=7.4	-6,277	0,6813	No	ns	-53.48 to 40.92
4 pH=7.4 vs 6 pH=7.4	-9,112	0,9889	No	ns	-56.31 to 38.09
4 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	14,68	1,594	No	ns	-32.52 to 61.89
4 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	7,488	0,8127	No	ns	-39.71 to 54.69
4 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	9,564	1,038	No	ns	-37.64 to 56.76
4 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	10,76	1,167	No	ns	-36.44 to 57.96
5 pH=7.4 vs 6 pH=7.4	-2,835	0,3076	No	ns	-50.03 to 44.37
5 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	20,96	2,275	No	ns	-26.24 to 68.16
5 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	13,76	1,494	No	ns	-33.44 to 60.96
5 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	15,84	1,719	No	ns	-31.36 to 63.04
5 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	17,03	1,849	No	ns	-30.17 to 64.23
6 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	23,80	2,583	No	ns	-23.40 to 71.00
6 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	16,60	1,802	No	ns	-30.60 to 63.80
6 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	18,68	2,027	No	ns	-28.52 to 65.88
6 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	19,87	2,156	No	ns	-27.33 to 67.07
7 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	-7,197	0,7811	No	ns	-54.40 to 40.00
7 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	-5,121	0,5558	No	ns	-52.32 to 42.08
7 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	-3,929	0,4265	No	ns	-51.13 to 43.27
8 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	2,076	0,2254	No	ns	-45.12 to 49.28
8 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	3,268	0,3547	No	ns	-43.93 to 50.47
9 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	1,192	0,1293	No	ns	-46.01 to 48.39

ANOVA % release 180 min

Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	q	Significant? P < 0.05?	Summary	95% CI of diff
1 pH=1.2 vs 2 pH=1.2	5,52	0,703	No	ns	-35.0 to 46.0
1 pH=1.2 vs 3 pH=1.2	3,81	0,486	No	ns	-36.7 to 44.3
1 pH=1.2 vs 4 pH=1.2	-6,77	0,863	No	ns	-47.3 to 33.8
1 pH=1.2 vs 5 pH=1.2	-1,20	0,154	No	ns	-41.7 to 39.3
1 pH=1.2 vs 6 pH=1.2	-12,8	1,63	No	ns	-53.3 to 27.7
1 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	-5,52	0,703	No	ns	-46.0 to 35.0
1 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-9,13	1,16	No	ns	-49.6 to 31.4
1 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	-0,401	0,0511	No	ns	-40.9 to 40.1
1 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	-2,01	0,256	No	ns	-42.5 to 38.5
1 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	8,68	1,11	No	ns	-31.8 to 49.2
1 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-13,7	1,75	No	ns	-54.3 to 26.8
1 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-16,7	2,12	No	ns	-57.2 to 23.9
1 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-20,7	2,64	No	ns	-61.2 to 19.8
1 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-31,3	3,99	No	ns	-71.8 to 9.21
1 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-36,5	4,65	No	ns	-77.0 to 4.01
1 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	5,77	0,736	No	ns	-34.7 to 46.3
1 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-6,08	0,775	No	ns	-46.6 to 34.4
1 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-5,31	0,677	No	ns	-45.8 to 35.2
1 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-4,80	0,612	No	ns	-45.3 to 35.7
2 pH=1.2 vs 3 pH=1.2	-1,71	0,217	No	ns	-42.2 to 38.8
2 pH=1.2 vs 4 pH=1.2	-12,3	1,57	No	ns	-52.8 to 28.2
2 pH=1.2 vs 5 pH=1.2	-6,72	0,856	No	ns	-47.2 to 33.8
2 pH=1.2 vs 6 pH=1.2	-18,3	2,33	No	ns	-58.8 to 22.2
2 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	-11,0	1,41	No	ns	-51.6 to 29.5
2 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-14,6	1,87	No	ns	-55.2 to 25.9
2 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	-5,92	0,754	No	ns	-46.4 to 34.6
2 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	-7,52	0,959	No	ns	-48.0 to 33.0
2 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	3,17	0,404	No	ns	-37.4 to 43.7
2 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-19,3	2,45	No	ns	-59.8 to 21.3
2 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-22,2	2,83	No	ns	-62.7 to 18.4
2 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-26,2	3,34	No	ns	-66.7 to 14.3
2 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-36,8	4,69	No	ns	-77.4 to 3.69
2 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-42,0	5,36	Yes	*	-82.5 to -1.51
2 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	0,257	0,0327	No	ns	-40.3 to 40.8
2 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-11,6	1,48	No	ns	-52.1 to 28.9
2 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-10,8	1,38	No	ns	-51.4 to 29.7
2 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-10,3	1,32	No	ns	-50.8 to 30.2
3 pH=1.2 vs 4 pH=1.2	-10,6	1,35	No	ns	-51.1 to 29.9
3 pH=1.2 vs 5 pH=1.2	-5,01	0,639	No	ns	-45.5 to 35.5
3 pH=1.2 vs 6 pH=1.2	-16,6	2,12	No	ns	-57.1 to 23.9
3 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	-9,33	1,19	No	ns	-49.8 to 31.2
3 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-12,9	1,65	No	ns	-53.5 to 27.6
3 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	-4,21	0,537	No	ns	-44.7 to 36.3
3 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	-5,82	0,741	No	ns	-46.3 to 34.7
3 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	4,87	0,621	No	ns	-35.6 to 45.4
3 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-17,6	2,24	No	ns	-58.1 to 23.0
3 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-20,5	2,61	No	ns	-61.0 to 20.1
3 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-24,5	3,12	No	ns	-65.0 to 16.0
3 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-35,1	4,48	No	ns	-75.6 to 5.40
3 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-40,3	5,14	No	ns	-80.8 to 0.199
3 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	1,96	0,250	No	ns	-38.6 to 42.5
3 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-9,89	1,26	No	ns	-50.4 to 30.6

3 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-9,12	1,16	No	ns	-49.6 to 31.4
3 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-8,61	1,10	No	ns	-49.1 to 31.9
4 pH=1.2 vs 5 pH=1.2	5,57	0,709	No	ns	-35.0 to 46.1
4 pH=1.2 vs 6 pH=1.2	-6,02	0,767	No	ns	-46.5 to 34.5
4 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	1,25	0,160	No	ns	-39.3 to 41.8
4 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-2,36	0,300	No	ns	-42.9 to 38.2
4 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	6,37	0,812	No	ns	-34.2 to 46.9
4 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	4,76	0,607	No	ns	-35.8 to 45.3
4 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	15,5	1,97	No	ns	-25.1 to 56.0
4 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-6,97	0,889	No	ns	-47.5 to 33.5
4 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-9,88	1,26	No	ns	-50.4 to 30.6
4 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-13,9	1,77	No	ns	-54.4 to 26.6
4 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-24,5	3,13	No	ns	-65.1 to 16.0
4 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-29,7	3,79	No	ns	-70.3 to 10.8
4 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	12,5	1,60	No	ns	-28.0 to 53.1
4 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	0,689	0,0878	No	ns	-39.8 to 41.2
4 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	1,46	0,186	No	ns	-39.1 to 42.0
4 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	1,97	0,251	No	ns	-38.6 to 42.5
5 pH=1.2 vs 6 pH=1.2	-11,6	1,48	No	ns	-52.1 to 28.9
5 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	-4,31	0,550	No	ns	-44.8 to 36.2
5 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-7,92	1,01	No	ns	-48.4 to 32.6
5 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	0,803	0,102	No	ns	-39.7 to 41.3
5 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	-0,802	0,102	No	ns	-41.3 to 39.7
5 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	9,89	1,26	No	ns	-30.6 to 50.4
5 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-12,5	1,60	No	ns	-53.1 to 28.0
5 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-15,5	1,97	No	ns	-56.0 to 25.1
5 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-19,5	2,48	No	ns	-60.0 to 21.0
5 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-30,1	3,84	No	ns	-70.6 to 10.4
5 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-35,3	4,50	No	ns	-75.8 to 5.21
5 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	6,98	0,889	No	ns	-33.5 to 47.5
5 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-4,88	0,622	No	ns	-45.4 to 35.6
5 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-4,11	0,524	No	ns	-44.6 to 36.4
5 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-3,60	0,459	No	ns	-44.1 to 36.9
6 pH=1.2 vs 7 pH=1.2	7,27	0,927	No	ns	-33.3 to 47.8
6 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	3,66	0,467	No	ns	-36.9 to 44.2
6 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	12,4	1,58	No	ns	-28.1 to 52.9
6 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	10,8	1,37	No	ns	-29.7 to 51.3
6 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	21,5	2,74	No	ns	-19.1 to 62.0
6 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-0,954	0,122	No	ns	-41.5 to 39.6
6 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-3,87	0,493	No	ns	-44.4 to 36.7
6 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-7,90	1,01	No	ns	-48.4 to 32.6
6 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-18,5	2,36	No	ns	-59.0 to 22.0
6 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-23,7	3,02	No	ns	-64.2 to 16.8
6 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	18,6	2,37	No	ns	-22.0 to 59.1
6 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	6,71	0,855	No	ns	-33.8 to 47.2
6 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	7,47	0,953	No	ns	-33.0 to 48.0
6 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	7,98	1,02	No	ns	-32.5 to 48.5
7 pH=1.2 vs 8 pH=1.2	-3,61	0,460	No	ns	-44.1 to 36.9
7 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	5,12	0,652	No	ns	-35.4 to 45.6
7 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	3,51	0,447	No	ns	-37.0 to 44.0
7 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	14,2	1,81	No	ns	-26.3 to 54.7
7 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-8,23	1,05	No	ns	-48.7 to 32.3
7 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-11,1	1,42	No	ns	-51.7 to 29.4
7 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-15,2	1,93	No	ns	-55.7 to 25.3
7 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-25,8	3,29	No	ns	-66.3 to 14.7
7 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-31,0	3,95	No	ns	-71.5 to 9.53

7 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	11,3	1,44	No	ns	-29.2 to 51.8
7 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-0,564	0,0719	No	ns	-41.1 to 40.0
7 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	0,203	0,0258	No	ns	-40.3 to 40.7
7 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	0,714	0,0910	No	ns	-39.8 to 41.2
8 pH=1.2 vs 9 pH=1.2	8,73	1,11	No	ns	-31.8 to 49.2
8 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	7,12	0,908	No	ns	-33.4 to 47.6
8 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	17,8	2,27	No	ns	-22.7 to 58.3
8 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-4,62	0,588	No	ns	-45.1 to 35.9
8 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-7,53	0,959	No	ns	-48.0 to 33.0
8 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-11,6	1,47	No	ns	-52.1 to 29.0
8 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-22,2	2,83	No	ns	-62.7 to 18.3
8 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-27,4	3,49	No	ns	-67.9 to 13.1
8 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	14,9	1,90	No	ns	-25.6 to 55.4
8 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	3,05	0,388	No	ns	-37.5 to 43.6
8 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	3,81	0,486	No	ns	-36.7 to 44.3
8 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	4,32	0,551	No	ns	-36.2 to 44.8
9 pH=1.2 vs 10 pH=1.2	-1,61	0,205	No	ns	-42.1 to 38.9
9 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	9,08	1,16	No	ns	-31.4 to 49.6
9 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-13,3	1,70	No	ns	-53.9 to 27.2
9 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-16,3	2,07	No	ns	-56.8 to 24.3
9 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-20,3	2,59	No	ns	-60.8 to 20.2
9 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-30,9	3,94	No	ns	-71.4 to 9.61
9 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-36,1	4,60	No	ns	-76.6 to 4.41
9 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	6,17	0,787	No	ns	-34.3 to 46.7
9 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-5,68	0,724	No	ns	-46.2 to 34.8
9 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-4,91	0,626	No	ns	-45.4 to 35.6
9 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-4,40	0,561	No	ns	-44.9 to 36.1
10 pH=1.2 vs 1 pH=7.4	10,7	1,36	No	ns	-29.8 to 51.2
10 pH=1.2 vs 2 pH=7.4	-11,7	1,50	No	ns	-52.3 to 28.8
10 pH=1.2 vs 3 pH=7.4	-14,6	1,87	No	ns	-55.2 to 25.9
10 pH=1.2 vs 4 pH=7.4	-18,7	2,38	No	ns	-59.2 to 21.8
10 pH=1.2 vs 5 pH=7.4	-29,3	3,74	No	ns	-69.8 to 11.2
10 pH=1.2 vs 6 pH=7.4	-34,5	4,40	No	ns	-75.0 to 6.01
10 pH=1.2 vs 7 pH=7.4	7,78	0,991	No	ns	-32.7 to 48.3
10 pH=1.2 vs 8 pH=7.4	-4,07	0,519	No	ns	-44.6 to 36.4
10 pH=1.2 vs 9 pH=7.4	-3,31	0,422	No	ns	-43.8 to 37.2
10 pH=1.2 vs 10 pH=7.4	-2,80	0,356	No	ns	-43.3 to 37.7
1 pH=7.4 vs 2 pH=7.4	-22,4	2,86	No	ns	-62.9 to 18.1
1 pH=7.4 vs 3 pH=7.4	-25,3	3,23	No	ns	-65.9 to 15.2
1 pH=7.4 vs 4 pH=7.4	-29,4	3,74	No	ns	-69.9 to 11.1
1 pH=7.4 vs 5 pH=7.4	-40,0	5,10	No	ns	-80.5 to 0.523
1 pH=7.4 vs 6 pH=7.4	-45,2	5,76	Yes	*	-85.7 to -4.67
1 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	-2,91	0,371	No	ns	-43.4 to 37.6
1 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	-14,8	1,88	No	ns	-55.3 to 25.8
1 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	-14,0	1,78	No	ns	-54.5 to 26.5
1 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	-13,5	1,72	No	ns	-54.0 to 27.0
2 pH=7.4 vs 3 pH=7.4	-2,91	0,371	No	ns	-43.4 to 37.6
2 pH=7.4 vs 4 pH=7.4	-6,95	0,885	No	ns	-47.5 to 33.6
2 pH=7.4 vs 5 pH=7.4	-17,6	2,24	No	ns	-58.1 to 22.9
2 pH=7.4 vs 6 pH=7.4	-22,8	2,90	No	ns	-63.3 to 17.8
2 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	19,5	2,49	No	ns	-21.0 to 60.0
2 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	7,66	0,976	No	ns	-32.9 to 48.2
2 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	8,43	1,07	No	ns	-32.1 to 48.9
2 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	8,94	1,14	No	ns	-31.6 to 49.5
3 pH=7.4 vs 4 pH=7.4	-4,04	0,514	No	ns	-44.6 to 36.5
3 pH=7.4 vs 5 pH=7.4	-14,7	1,87	No	ns	-55.2 to 25.9

3 pH=7.4 vs 6 pH=7.4	-19,9	2,53	No	ns	-60.4 to 20.7
3 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	22,4	2,86	No	ns	-18.1 to 62.9
3 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	10,6	1,35	No	ns	-29.9 to 51.1
3 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	11,3	1,45	No	ns	-29.2 to 51.9
3 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	11,9	1,51	No	ns	-28.7 to 52.4
4 pH=7.4 vs 5 pH=7.4	-10,6	1,35	No	ns	-51.1 to 29.9
4 pH=7.4 vs 6 pH=7.4	-15,8	2,02	No	ns	-56.3 to 24.7
4 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	26,5	3,37	No	ns	-14.1 to 67.0
4 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	14,6	1,86	No	ns	-25.9 to 55.1
4 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	15,4	1,96	No	ns	-25.1 to 55.9
4 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	15,9	2,02	No	ns	-24.6 to 56.4
5 pH=7.4 vs 6 pH=7.4	-5,20	0,662	No	ns	-45.7 to 35.3
5 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	37,1	4,73	No	ns	-3.43 to 77.6
5 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	25,2	3,22	No	ns	-15.3 to 65.8
5 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	26,0	3,31	No	ns	-14.5 to 66.5
5 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	26,5	3,38	No	ns	-14.0 to 67.0
6 pH=7.4 vs 7 pH=7.4	42,3	5,39	Yes	*	1.76 to 82.8
6 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	30,4	3,88	No	ns	-10.1 to 71.0
6 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	31,2	3,98	No	ns	-9.32 to 71.7
6 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	31,7	4,04	No	ns	-8.81 to 72.2
7 pH=7.4 vs 8 pH=7.4	-11,9	1,51	No	ns	-52.4 to 28.7
7 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	-11,1	1,41	No	ns	-51.6 to 29.4
7 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	-10,6	1,35	No	ns	-51.1 to 29.9
8 pH=7.4 vs 9 pH=7.4	0,767	0,0977	No	ns	-39.8 to 41.3
8 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	1,28	0,163	No	ns	-39.2 to 41.8
9 pH=7.4 vs 10 pH=7.4	0,511	0,0651	No	ns	-40.0 to 41.0