



Εθνικό και Καποδιστριακό
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
Τμήμα Φαρμακευτικής

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ**

**«Μελέτες τροποποιημένης αποδέσμευσης της μελατονίνης από
υδρόφιλες μήτρες ουλβανών και νανοϊνώδη υποστρώματα»**

**ΤΡΑΓΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ
ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Μαριλένα Βλάχου, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Ευσταθία Ιωάννου, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Ανδρέας Τσοτίνης, Καθηγητής του Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας του Τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

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

Επίσης, ευχαριστώ την Επίκουρη Καθηγήτρια του Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων κ. Ευσταθία Ιωάννου, για τις εύστοχες διορθώσεις της κατά τη διάρκεια της παρούσας εργαστηριακής μελέτης.

Ειλικρινείς ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον Καθηγητή του Τομέα Φαρμακευτικής Χημείας κ. Ανδρέα Τσοτίνη για την άριστη συνεργασία του.

Ακολούθως θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στο Μεταδιδάκτορα του Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων κ. Στέφανο Κικιώνη για την παραγωγή του νέου εκδόχου (ουλβάνες), καθώς και για την παρασκευή των ναοϊνών που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, υπό την καθοδήγηση του Καθηγητή κ. Βασιλείου Ρούσση και της Επίκουρης Καθηγήτριας κ. Ευσταθίας Ιωάννου.

Επιπρόσθετα, θα ήθελα να δώσω πολλές ευχαριστίες στη Μεταδιδάκτορα του Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας κ. Αγγελική Σιαμίδα για το χρόνο της, τις εύστοχες παρατηρήσεις και υποδείξεις της, καθώς και την ηθική συμπαράστασή της καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης και συγγραφής της παρούσας εργασίας. Η βοήθειά της υπήρξε κάτι παραπάνω από πολύτιμη!

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

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

| | |
|--|----|
| A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 13 |
| A.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ | 14 |
| A.1.1 Φυσιολογικός ρόλος της μελατονίνης..... | 14 |
| A.1.1.1 Κιρκαδιανός ρυθμός | 15 |
| A.1.1.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την έκκριση της μελατονίνη..... | 16 |
| A.1.1.3 Ανεπιθύμητες ενέργειες..... | 17 |
| A.1.1.4 Μελατονίνη και μεσογειακή διατροφή..... | 18 |
| A.1.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες | 18 |
| A.1.3 Βιοσύνθεση και Μεταβολισμός..... | 18 |
| A.1.4 Υποδοχείς μελατονίνης | 20 |
| A.1.5 Θεραπευτική δράση..... | 21 |
| A.1.5.1 Διαταραχές του ύπνου..... | 21 |
| A.1.5.2 Σύνδρομο ταχείας αλλαγής ζώνης ώρας (jet lag) | 22 |
| A.1.5.3 Αντιοξειδωτική δράση | 23 |
| A.1.5.4 Αντικαρκινικές ιδιότητες..... | 25 |
| A.1.5.5 Αντιγήρανση..... | 26 |
| A.1.5.6 Νευρολογικές διαταραχές..... | 27 |
| A.1.5.7 Ψυχικές διαταραχές | 28 |
| A.1.5.8 Ανοσοποιητικό σύστημα | 29 |
| A.1.5.9 Καρδιαγγειακό σύστημα | 29 |
| A.1.5.10 Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 | 30 |
| A.2 PER OS ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ | 31 |
| A.2.1 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της <i>per os</i> χορήγησης φαρμάκων | 31 |
| A.3 ΔΙΣΚΙΑ | 32 |
| A.3.1 Γενικά στοιχεία | 32 |
| A.3.2 Ιδιότητες δισκίων | 33 |
| A.3.3 Παρασκευή δισκίων | 33 |
| A.3.4 Έκδοχα δισκίων..... | 34 |
| A.3.5 Έλεγχοι ποιότητας δισκίων | 35 |
| A.3.6 Τύποι δισκίων..... | 36 |
| A.4 ΚΑΨΑΚΙΑ | 36 |
| A.4.1 Γενικά στοιχεία | 36 |

| | |
|---|-----------|
| A.4.2 Σκληρά καψάκια | 37 |
| A.4.3 Σύγκριση δισκίων και καψακίων | 38 |
| A.5 ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ | 39 |
| A.5.1 Γενικά στοιχεία | 39 |
| A.5.2 Σύγκριση φαρμακοτεχνικών μορφών άμεσης και ελεγχόμενης αποδέσμευσης ... | 41 |
| A.5.3 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης | 44 |
| A.5.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμάκων | 45 |
| A.5.4.1 Φυσικοχημικοί παράγοντες..... | 45 |
| A.5.4.2 Βιολογικοί παράγοντες | 47 |
| A.5.5 Κατηγορίες συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης | 48 |
| A.5.5.1 Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διάχυση διαμέσου του πολυμερούς (Diffusion- Controlled Devices) | 48 |
| A.5.5.2 Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διείσδυση του διαλύτη στο σύστημα (Solvent- Controlled Devices) | 53 |
| A.5.5.3 Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από χημική αντίδραση(Chemically-Controlled Devices)..... | 55 |
| A.5.6 Μαθηματικά μοντέλα για την κινητική της αποδέσμευσης μιας δραστικής ουσίας στα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης..... | 57 |
| A.5.6.1 Μοντέλα Διάχυσης..... | 57 |
| A.5.6.2 Κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης (zero- order kinetic model) | 58 |
| A.5.6.3 Μοντέλο Higuchi (Square Root Law) | 59 |
| A.5.6.4 Μοντέλο Korsemeyer–Peppas (The Power law) | 61 |
| A.6 ΕΚΔΟΧΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ | 63 |
| A.6.1 Ουλβάνες (Ulvan) | 63 |
| A.6.2 Οξειδίο του πολυαιθυλενίου (Polyethylene Oxide, PEO) | 67 |
| A.6.3 Μεθυλοκυτταρίνη (Metolose) | 68 |
| A.6.4 Πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP) | 70 |
| A.6.5 Στεατικό Μαγνήσιο (Magnesium Stearate) | 72 |
| A.6.6 Οξική κυτταρίνη (Cellulose acetate, CA) | 73 |
| A.6.7 Τάλκης (Talc) | 74 |
| A.6.8 Διβασικό φωσφορικό ασβέστιο (Calcium hydrogen phosphate dihydrate) | 75 |
| A.6.9 Συμπολυμερή μεθακρυλικού αμμωνίου τύπου Β (Ammonio methacrylate copolymer type b | 76 |
| A.6.10 Υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη/Υπρομελλόζη (HPMC 2910, HPMC K15M) | |

| | |
|---|-----|
| | 77 |
| A.6.11 Κολλοειδές άνυδρο πυρίτιο (Colloidal anhydrous silica) | 79 |
| A.6.12 Αλγινικό Νάτριο (Sodium Alginate) | 80 |
| A.6.13 Μονοϋδρική Λακτόζη (Lactose Monohydrate) | 81 |
| A.7 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΩΝ ΝΑΝΟΪΝΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΪΝΟΠΟΙΗΣΗΣ | 82 |
| A.7.1 Νανοΐνες (Nanofibers) | 82 |
| A.7.2 Μέθοδος ηλεκτροϊνοποίησης (electrospinning technique) | 84 |
| A.8. ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ | 87 |
| B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 88 |
| B.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ | 89 |
| B.2 ΥΛΙΚΑ–ΟΡΓΑΝΑ | 89 |
| B.2.1 Υλικά | 89 |
| B.2.2 Όργανα – Συσκευές..... | 90 |
| B.3 ΜΕΘΟΔΟΙ | 91 |
| B.3.1 Πειραματικό μέρος μελατονίνης σε pH 1.2 | 91 |
| B.3.1.1 Παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος σε pH 1.2..... | 91 |
| B.3.1.2 Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων – Καμπύλη αναφοράς σε pH 1.2..... | 92 |
| B.3.2 Πειραματικό μέρος μελατονίνης σε pH 6.8 | 93 |
| B.3.2.1 Παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος pH 6.8 από ρυθμιστικό διάλυμα με pH 9. | 93 |
| B.3.2.2 Παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος pH 6.8 από πρότυπο διάλυμα NaOH 0.2N | 93 |
| B.3.2.3 Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων – Καμπύλη αναφοράς σε pH 6.8..... | 94 |
| B.3.3 Παρασκευή δισκίων | 95 |
| B.3.4 Παρασκευή νανοϊνών για την πλήρωση καψακίων | 98 |
| B.3.4.1 Ηλεκτροϊνοποίηση | 98 |
| B.3.4.2 Παρασκευή νανοϊνών οξικής κυτταρίνης-μελατονίνης (CA-MLT) | 99 |
| B.3.4.3 Παρασκευή νανοϊνών πολυβινυλοπυρρολιδόνης-μελατονίνης (PVP-MLT) .. | 99 |
| B.3.4.4 Παρασκευή νανοϊνών υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης-μελατονίνης, παρουσία οξειδίου του πολυαιθυλενίου (HPMC(PEO)-MLT) | 99 |
| B.3.4.5 Παρασκευή νανοϊνών οξικής κυτταρίνης/ πολυβινυλοπυρρολιδόνης- μελατονίνης (CA/PVP-MLT) | 100 |
| B.3.4.6 Χαρακτηρισμός των νανοϊνών..... | 100 |
| B.3.5 Συγκεντρωτικοί πίνακες συνταγών. | 103 |

| | |
|--|------------|
| B.3.5.1 Δισκία..... | 103 |
| B.3.5.2 Καψάκια..... | 103 |
| B.3.6 Προσδιορισμός της αποδέσμευσης της μελατονίνης από τα δισκία και τα καψάκια | 104 |
| B.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ..... | 105 |
| B.4.1 Συντελεστής Επάρκειας Διάλυσης (Dissolution Efficiency, DE%) | 105 |
| B.4.2 Παράμετροι Ομοιότητας και Διαφοράς (f ₁ , f ₂) | 108 |
| B.4.3 Μέσος χρόνος διάλυσης (Mean Dissolution Time, MDT) | 110 |
| B.4.4 Μέθοδος Kolmogorov-Smirnov | 111 |
| B.4.5 Ανάλυση της διασποράς (ANOVA, Analysis of variance) | 112 |
| Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ..... | 113 |
| Γ.1 ΔΙΣΚΙΑ | 114 |
| Γ.1.1 Συγκριτική μελέτη αποδέσμευσης της μελατονίνης από το Circadin® και τις συνταγές 1-12 | 114 |
| Γ.2 ΚΑΨΑΚΙΑ ΩΣ ΦΟΡΕΙΣ ΝΑΝΟΪΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ | 119 |
| Γ.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ | 126 |
| Γ.2.1 Δισκία..... | 126 |
| Γ.2.2 Καψάκια ως φορείς νανοϊκών υποστρωμάτων της μελατονίνης | 128 |
| Δ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ | 130 |
| Ε. ABSTRACT | 133 |
| ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ..... | 136 |
| ΣΤ.1 ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ..... | 137 |
| ΣΤ.2 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 144 |
| Ζ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ..... | 145 |
| Z.1 ΔΙΣΚΙΑ..... | 146 |
| Z.2 ΚΑΨΑΚΙΑ ΩΣ ΦΟΡΕΙΣ ΝΑΝΟΪΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ | 157 |
| Z.2.1 Πίνακες αποτελεσμάτων της αποδέσμευσης της μελατονίνης από καψάκια σκληρής ζελατίνης σε pH 1.2..... | 157 |
| Z.2.2 Πίνακες αποτελεσμάτων της αποδέσμευσης της μελατονίνης από καψάκια σκληρής ζελατίνης σε pH 6.8..... | 164 |
| Z.2.3 Πίνακες αποτελεσμάτων της αποδέσμευσης της μελατονίνης από εντεροδιαλυτά καψάκια σε pH 6.8..... | 171 |

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

| | |
|--|----|
| <i>Σχήμα A.1:</i> Χημική δομή μελατονίνης | 14 |
| <i>Σχήμα A.2:</i> Η έκκριση της μελατονίνης από την επίφυση ακολουθεί έναν κερκαδιανό ρυθμό, ο οποίος παράγεται από τον υπερχιασματικό πυρήνα (SCN) του υποθαλάμου του εγκεφάλου σε απόκριση στις μεταβολές στο φως του περιβάλλοντος..... | 16 |
| <i>Σχήμα A.3:</i> Βιοσύνθεση της μελατονίνης στην επίφυση (Bubenik GA <i>et al.</i> , 2011) | 19 |
| <i>Σχήμα A.4:</i> Κατηγοριοποίηση των συστημάτων τροποποιημένης αποδέσμευσης (Dixit N <i>et al.</i> , 2013; Sampath Kumar KP <i>et al.</i> , 2012; Perrie Y <i>et al.</i> , 2012) | 40 |
| <i>Σχήμα A.5:</i> Συγκριτική απεικόνιση της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα μετά από τη χορήγηση συμβατικών και ελεγχόμενων συστημάτων αποδέσμευσης (Huynh CT <i>et al.</i> , 2014) | 42 |
| <i>Σχήμα A.6:</i> Σχηματική απεικόνιση της αποδέσμευσης μιας δραστικής ουσίας μέσω διάχυσης από ένα σύστημα τύπου δεξαμενής (Kushal M <i>et al.</i> , 2013) | 50 |
| <i>Σχήμα A.7:</i> Σχηματική απεικόνιση της αποδέσμευσης μιας δραστικής ουσίας μέσω διάχυσης από ένα σύστημα τύπου μήτρας (Kushal M <i>et al.</i> , 2013) | 51 |
| <i>Σχήμα A.8:</i> Σχηματική απεικόνιση ενός συστήματος ελεγχόμενης αποδέσμευσης δραστικής ουσίας που ελέγχεται από την ώσμωση (Shokri J <i>et al.</i> , 2013) | 54 |
| <i>Σχήμα A.9:</i> Σχηματική απεικόνιση ενός συστήματος ελεγχόμενης αποδέσμευσης που ελέγχεται από τη διόγκωση του πολυμερούς..... | 55 |
| <i>Σχήμα A.10:</i> Σχηματική απεικόνιση της ομοιογενούς (bulk erosion) και της επιφανειακής (surface erosion) διάβρωσης..... | 56 |
| <i>Σχήμα A.11:</i> Διάχυση δραστικής ουσίας από δισκίο ομοιογενούς πολυμερικής μήτρας (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ 2016-2017)..... | 60 |
| <i>Σχήμα A.12:</i> Δομή των επαναλαμβανόμενων δισακχαριτών που διακρίνονται στις ουλβάνες, αποτελούμενοι κυρίως απόθειική ραμνόζη, γλυκουρονικό και ιδουρονικό οξύ (Cunha L <i>et al.</i> , 2016) | 64 |
| <i>Σχήμα A.12:</i> Σύνθεση του οξειδίου του πολυαιθυλενίου (PEO) | 67 |
| <i>Σχήμα A.13:</i> Χημικός τύπος της μεθυλοκυτταρίνης | 69 |
| <i>Σχήμα A.14:</i> Πολυμερισμός N-βινυλοπυρρολιδόνης σε πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP) (Haaf F <i>et al.</i> , 1985) | 70 |
| <i>Σχήμα A.15:</i> Χημικός τύπος του στεατικού μαγνησίου..... | 72 |
| <i>Σχήμα A.16:</i> Χημικός τύπος της οξικής κυτταρίνης..... | 73 |
| <i>Σχήμα A.17:</i> Χημική δομή τάλκη | 74 |
| <i>Σχήμα A.18:</i> Χημικός τύπος διβασικού φωσφορικού οξέος..... | 75 |

| | |
|--|-----|
| Σχήμα A.19: Χημικός τύπος συμπολυμερών μεθακρυλικού αμμωνίου..... | 77 |
| Σχήμα A.20: Χημική δομή της υδροξυπροπυλμεθυλοκυτταρίνης..... | 78 |
| Σχήμα A.21: Χημική δομή κολλοειδούς άνυδρου πυριτίου..... | 79 |
| Σχήμα A.22: Γενική χημική δομή αλγινικού νατρίου | 80 |
| Σχήμα A.23: Χημική δομή της μονοϋδρικής λακτόζης | 81 |
| Σχήμα A.24: Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της ηλεκτροϊνοποίησης (electrospinning) ενός πολυμερικού διαλύματος για το σχηματισμό νανοϊνών (Ibrahim HM <i>et al.</i> , 2015) | 85 |
| Σχήμα B1: Διαγραμματική απεικόνιση υπολογισμού του συντελεστή επάρκειας διάλυσης (DE%) στα δισκία (Khan KA, 1975) | 106 |
| Σχήμα B2: Διαγραμματική απεικόνιση υπολογισμού του συντελεστή επάρκειας διάλυσης (DE%) στα καψάκια (Khan KA, 1975) | 106 |
| Σχήμα Γ1: Συγκριτική απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο σε δισκία των συνταγών 1, 2, 3, 10, 11, 12 και του Circadin® σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 (0-2 ώρες) και σε μέσο διάλυσης με pH 6.8(2-8 ώρες) (SD<2) | 114 |
| Σχήμα Γ2: Μετατροπή PVP στο <i>gem</i> -διολοπαράγωγο III..... | 117 |
| Σχήμα Γ3: Συγκριτική απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο σε δισκία των συνταγών 1-9 και του Circadin® σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 (0-2 ώρες) και σε μέσο διάλυσης με pH 6.8 (2-8 ώρες) (SD<2) | 119 |
| Σχήμα Γ4: Απεικόνιση των νανοϊνών με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) και παράθεση ιστογραμμάτων κατανομής της μέσης διαμέτρου των ινών για τις συνταγές των καψακίων (a)CA1, (b)CA2, (c)PV1, (d)HP1 και (e)HP2..... | 120 |
| Σχήμα Γ5: Απεικόνιση των νανοϊνών με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) και παράθεση ιστογραμμάτων κατανομής της μέσης διαμέτρου των ινών για τις συνταγές των καψακίων (a)CAPV1, (b)CAPV2, (c)CAPV3, (d)CAPV4 και (e)CAPV5..... | 120 |
| Σχήμα Γ6: Συγκριτική απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο από τις συνταγές CA1, CA2, PV1, HP1 και HP2 (a) σε pH 1.2 από απλά καψάκια σκληρής ζελατίνης, (b) σε pH 6.8 από απλά καψάκια σκληρής ζελατίνης, (c) σε pH 6.8 από εντεροδιαλυτά καψάκια και από τις συνταγές CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5 (d) σε pH 1.2 από απλά καψάκια σκληρής ζελατίνης, (e) σε pH 6.8 από απλά καψάκια σκληρής ζελατίνης, (f) σε pH 6.8 από εντεροδιαλυτά καψάκια | 123 |

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

| | |
|---|-----|
| <i>Πίνακας A.1:</i> Συσχέτιση των τιμών του εκθέτη n με το μηχανισμό αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας, ανάλογα με τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της φαρμακοτεχνικής μορφής (Buzzi V <i>et al.</i> , 2013) | 62 |
| <i>Πίνακας B1:</i> Χαρακτηριστικά της καμπύλης αναφοράς της μελατονίνης σε pH 1.2 | 92 |
| <i>Πίνακας B2:</i> Χαρακτηριστικά της καμπύλης αναφοράς της μελατονίνης σε pH 6.8 | 95 |
| <i>Πίνακας Γ1:</i> Φυσικές ιδιότητες και φαρμακοκινητικές παράμετροι των δισκίων μελατονίνης των συνταγών 1-12 και του Circadin® | 118 |
| <i>Πίνακας Γ2:</i> Τιμές του εύρους διαμέτρου και της μέσης διαμέτρου των ναοϊνών για την κάθε συνταγή, μετά από ανάλυση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) | 122 |
| <i>Πίνακας Z1:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 1 σε συνάρτηση με το χρόνο | 146 |
| <i>Πίνακας Z2:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 2 σε συνάρτηση με το χρόνο | 146 |
| <i>Πίνακας Z3:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 3 σε συνάρτηση με το χρόνο | 147 |
| <i>Πίνακας Z4:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 4 σε συνάρτηση με το χρόνο | 147 |
| <i>Πίνακας Z5:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 5 σε συνάρτηση με το χρόνο | 148 |
| <i>Πίνακας Z6:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 6 σε συνάρτηση με το χρόνο | 148 |
| <i>Πίνακας Z7:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 7 σε συνάρτηση με το χρόνο | 149 |
| <i>Πίνακας Z8:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 149 |
| <i>Πίνακας Z9:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 9 σε συνάρτηση με το χρόνο | 150 |
| <i>Πίνακας Z10:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 10 σε συνάρτηση με το χρόνο | 150 |
| <i>Πίνακας Z11:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 11 σε συνάρτηση με το χρόνο | 151 |
| <i>Πίνακας Z12:</i> Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 12 σε | |

| | |
|---|-----|
| συνάρτηση με το χρόνο | 151 |
| Πίνακας Z13: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία του Circadin® σε συνάρτηση με το χρόνο | 152 |
| Πίνακας Z14: Στατιστική ανάλυση ANOVA για τα δισκία των συνταγών 1-12, καθώς και του εμπορικού σκευάσματος Circadin® | 153 |
| Πίνακας Z15: Τιμές του συντελεστή διαφοράς f_1 και του συντελεστή ομοιότητας f_2 για τις συγκρίσεις ανάμεσα στα δισκία των συνταγών 1-12 και του Circadin® | 155 |
| Πίνακας Z16: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CA1 σε pH 1.2 συνάρτηση με το χρόνο | 157 |
| Πίνακας Z17: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CA2 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο | 157 |
| Πίνακας Z18: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής PV1 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο | 158 |
| Πίνακας Z19: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής HP1 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο | 158 |
| Πίνακας Z20: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής HP2 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο | 159 |
| Πίνακας Z21: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV1 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο | 159 |
| Πίνακας Z22: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV2 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο | 160 |
| Πίνακας Z23: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV3 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο | 160 |
| Πίνακας Z24: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV4 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο | 161 |
| Πίνακας Z25: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV5 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο | 161 |
| Πίνακας Z26: Φαρμακοκινητικές παράμετροι των καψακίων σκληρής ζελατίνης σε pH 1.2. | 162 |
| Πίνακας Z27: Τιμές του συντελεστή διαφοράς f_1 και του συντελεστή ομοιότητας f_2 για τις συγκρίσεις ανάμεσα στις συνταγές CA1, CA2, PV1, HP1, HP2, CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5 των καψακίων σκληρής ζελατίνης σε pH 1.2..... | 163 |
| Πίνακας Z28: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CA1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 164 |

| | |
|--|-----|
| Πίνακας Z29: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CA2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 164 |
| Πίνακας Z30: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής PV1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 165 |
| Πίνακας Z31: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής HP1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 165 |
| Πίνακας Z32: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής HP2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 166 |
| Πίνακας Z33: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 166 |
| Πίνακας Z34: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 167 |
| Πίνακας Z35: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV3 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 167 |
| Πίνακας Z36: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV4 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 168 |
| Πίνακας Z37: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV5 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 168 |
| Πίνακας Z38: Φαρμακοκινητικές παράμετροι των καψακίων σκληρής ζελατίνης σε pH 6.8 | 169 |
| Πίνακας Z39: Τιμές του συντελεστή διαφοράς f_1 και του συντελεστή ομοιότητας f_2 για τις συγκρίσεις ανάμεσα στις συνταγές CA1, CA2, PV1, HP1, HP2, CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5 των καψακίων σκληρής ζελατίνης σε pH 6.8..... | 170 |
| Πίνακας Z40: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CA1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 171 |
| Πίνακας Z41: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CA2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 171 |
| Πίνακας Z42: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής PV1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο..... | 172 |
| Πίνακας Z43: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής HP1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο..... | 172 |
| Πίνακας Z44: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής HP2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο..... | 173 |
| Πίνακας Z45: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της | |

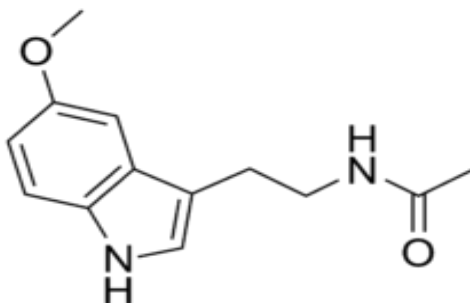
| | |
|---|-----|
| συνταγής CAPV1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 173 |
| Πίνακας Z46: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CAPV2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 174 |
| Πίνακας Z47: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CAPV3 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 174 |
| Πίνακας Z48: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CAPV4 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 175 |
| Πίνακας Z49: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CAPV5 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο | 175 |
| Πίνακας Z50: Φαρμακοκινητικές παράμετροι των εντεροδιαλυτών καψακίων σε pH 6.8... | 176 |
| Πίνακας Z51: Τιμές του συντελεστή διαφοράς f_1 και του συντελεστή ομοιότητας f_2 για τις συγκρίσεις ανάμεσα στις συνταγές CA1, CA2, PV1, HP1, HP2, CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5 των καψακίων σε pH 6.8 | 177 |

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

A.1.1 Φυσιολογικός ρόλος της μελατονίνης

Η μελατονίνη είναι μια ορμόνη, ευρέως διαδεδομένη στη φύση, η οποία βιοσυντίθεται στα μικρόβια, στα φυτά, στα ζώα και στον άνθρωπο. Απομονώθηκε πρώτη φορά το 1958 από το δερματολόγο Aaron Lerner από τον αδένα της επίφυσης βοοειδών (Altun A *et al.*, 2007; Tan DX *et al.*, 2006). Η μελατονίνη είναι ένα ινδόλιο, που αποτελεί παράγωγο ενός απαραίτητου αμινοξέος, της *L*-θρυπτοφάνης (Auld F *et al.*, 2016). Χημικώς, η μελατονίνη είναι γνωστή ως *N*-ακετυλο-5-μεθοξυθρυπταμίνη και συντίθεται κυρίως στα παρεγχυματικά κύτταρα της επίφυσης ή αλλιώς κωνάριο, αδένας που βρίσκεται στον εγκέφαλο έξω από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (Malhotra S *et al.*, 2014). Η ενδοκρινής αυτή ορμόνη, γνωστή και ως “η ορμόνη του σκότους”, παράγεται και εκκρίνεται σχεδόν αποκλειστικά κατά τη διάρκεια της νύχτας, δηλαδή απουσία φωτός, τόσο στα ημερόβια όσο και στα νυκτόβια ζώα, καθώς το φως αναστέλλει την παραγωγή της (Srinivasan V *et al.*, 2008). Μεγάλες ποσότητες της μελατονίνης παράγονται εκτός από την επίφυση και σε άλλες περιοχές του σώματος, όπως στα κύτταρα του μυελού των οστών, στα λεμφοκύτταρα, αλλά και σε όργανα, όπως ο γαστρεντερικός σωλήνας, το δέρμα και ο αμφιβληστροειδής χιτώνας. Σε αυτά η έκκριση της μελατονίνης είναι ανεξάρτητη από τον κύκλο ημέρας- νύχτας, ενώ φαίνεται να ασκεί κυρίως περιφερειακές δράσεις (Tan DX *et al.*, 2006; Srinivasan V *et al.*, 2008; Iriti M *et al.*, 2010). Από συνεχώς αυξανόμενα δεδομένα προκύπτει ότι η μελατονίνη έχει πολλαπλές ευεργετικές επιδράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό, αλλά και ευνοϊκή δράση έναντι πληθώρας ασθενειών (Boutin JA *et al.*, 2005).



Σχήμα A.1: Χημική δομή μελατονίνης

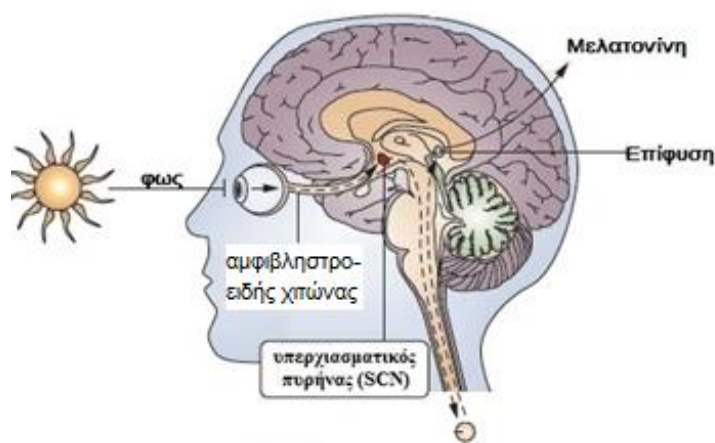
A.1.1.1 Κιρκαδιανός ρυθμός

Η μελατονίνη θεωρείται ότι συμμετέχει στην προσαρμογή του οργανισμού στον κύκλο ημέρας- νύχτας. Ο βασικός ρυθμιστής για την παραγωγή και την έκκριση της μελατονίνης από την επίφυση είναι η νορεπινεφρίνη, η απελευθέρωση της οποίας εξαρτάται από το φωτεινό ή σκοτεινό περιβάλλον (Mills E *et al.*, 2005; Srinivasan V *et al.*, 2008). Επίσης, τα ένζυμα τα οποία είναι απαραίτητα για τη σύνθεση της ορμόνης ενεργοποιούνται στο σκοτάδι και αναστέλλονται από το φως της ημέρας (Malhotra S *et al.*, 2014). Κατ' αυτόν τον τρόπο, η επίφυση αποτελεί ένα τελικό όργανο του οπτικού μας συστήματος, όπου παράγεται η μελατονίνη σε αφθονία κατά τη διάρκεια της νύχτας, ενώ η λειτουργία του αδένου παρεμποδίζεται από το φως που προσπίπτει στον αμφιβληστροειδή χιτώνα την ημέρα. Η έναρξη της έκκρισης της μελατονίνης κατά τις βραδινές ώρες ονομάζεται “dim-light melatonin onset (DLMO)” (Altun A *et al.*, 2007; Srinivasan V *et al.*, 2008).

Η σύνθεση και η έκκριση της μελατονίνης από την επίφυση ακολουθεί έναν κιρκαδιανό ρυθμό, ο οποίος παράγεται από τον υπερχιασματικό πυρήνα (SCN) του πρόσθιου υποθαλάμου του εγκεφάλου σε απόκριση στις μεταβολές στο φως του περιβάλλοντος (Altun A *et al.*, 2007; Boutin JA *et al.*, 2005; Srinivasan V *et al.*, 2008). Ο ενδογενής αυτός ρυθμός εμφανίζει ημερήσια περιοδικότητα 24 ωρών και λειτουργεί ως ένα βιολογικό “εσωτερικό ρολόι” του οργανισμού, το οποίο ελέγχει σχεδόν όλες τις φυσιολογικές λειτουργίες του σώματος (Touitou Y *et al.*, 2017; Iriti M *et al.*, 2010). Η ρυθμική 24ωρη διακύμανση των επιπέδων της μελατονίνης, καθορίζεται από την περιοδική αυτορρυθμιζόμενη μεταγραφή ενός ωρολογιακού γονιδίου (clock gene) που αναστέλλει την έκκριση της νορεπινεφρίνης στο επίπεδο της επίφυσης, προκαλώντας μείωση της παραγωγής της ορμόνης. Μέσω της απελευθέρωσης της μελατονίνης, η επίφυση διατηρεί αυτό το “εσωτερικό ρολόι” και για το λόγο αυτό η μελατονίνη θεωρείται ότι είναι μία “χρονοβιοτική” ορμόνη, η οποία μεταβάλλει και δυναμικά ομαλοποιεί τους βιολογικούς ρυθμούς, αλλά ταυτόχρονα ρυθμίζει και το συγχρονισμό και άλλων κρίσιμων διεργασιών του οργανισμού, που με τη σειρά τους ασκούν διάφορες περιφερειακές δράσεις (Malhotra S *et al.*, 2014; Arendt J *et al.*, 2008).

Συγκεκριμένα, το κιρκαδιανό σύστημα στους ανθρώπους αποτελείται από ένα σύμπλεγμα, το οποίο εκτείνεται από τον οφθαλμό μέχρι την επίφυση, απ' όπου και παράγεται η μελατονίνη. Όπως ήδη αναφέρθηκε, η αποδέσμευσή της διεγείρεται κατά της διάρκεια της νύχτας και ιδιαίτερα τις ώρες του ύπνου, όταν ο αμφιβληστροειδής χιτώνας δεν λαμβάνει κανένα σήμα φωτός, ενώ αντίθετα κατά τη διάρκεια της ημέρας τα επίπεδα της μελατονίνης είναι ως εκ τούτου αρκετά χαμηλά (Touitou Y *et al.*, 2017; Auld F *et al.*, 2016; Srinivasan V *et al.*, 2008; Iriti M *et al.*, 2010). Στους τυφλούς ανθρώπους που δεν έχουν αντίληψη του

φωτός, παρατηρείται ένας ελεύθερος ρυθμός έκκρισης της μελατονίνης, ο οποίος δεν συμβαδίζει με τον κύκλο φωτός-σκότους του περιβάλλοντος (Auld F *et al.*, 2016). Παρόλο που το φως θεωρείται πως αποτελεί τον πιο ισχυρό συγχρονιστή του κίρκαδιανού συστήματος για τους ανθρώπους, κάποιες ανθρώπινες δραστηριότητες, ακόμα και χωρίς την παρουσία φωτός, διαδραματίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο στο συγχρονισμό του κίρκαδιανού συστήματος, όπως είναι η λήψη γευμάτων, η φυσική δραστηριότητα και οι κοινωνικές αλληλεπιδράσεις (Touitou Y *et al.*, 2017).



Σχήμα Α.2: Η έκκριση της μελατονίνης από την επίφυση ακολουθεί έναν κίρκαδιανό ρυθμό, ο οποίος παράγεται από τον υπερχιασματικό πυρήνα (SCN) του υποθαλάμου του εγκεφάλου σε απόκριση στις μεταβολές στο φως του περιβάλλοντος.

A.1.1.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την έκκριση της μελατονίνης

Αξίζει να σημειωθεί, πως το φως επηρεάζει με διαφορετικό τρόπο την έκκριση της ορμόνης, ανάλογα με την ώρα της ημέρας που γίνεται η έκθεση, την ένταση του φωτός και τη διάρκεια της έκθεσης (Touitou Y *et al.*, 2017). Φυσιολογικά, η έκκριση της μελατονίνης αυξάνεται αμέσως μετά την έναρξη του ύπνου, κορυφώνεται κατά τη διάρκεια της νύχτας από τις 2 μέχρι τις 4 πμ, ενώ στη συνέχεια σταδιακά τα επίπεδα της μελατονίνης αρχίζουν να μειώνονται (Altun A *et al.*, 2007). Έκθεση στο φως κατά τη διάρκεια της νύχτας και συγκεκριμένα στο διάστημα 2 πμ-4 πμ, όπου φυσιολογικά παρατηρούνται τα μέγιστα επίπεδα της ορμόνης, θα οδηγήσει σε πλήρη αναστολή στην έκκριση της μελατονίνης. Κατ' αυτόν τον τρόπο, μια έκθεση στο φως το πρωί θα οδηγήσει σε πιο γρήγορη εμφάνιση των μέγιστων επιπέδων της ορμόνης, ενώ αντίθετα μια έκθεση αργά το απόγευμα θα οδηγήσει σε καθυστέρηση της εμφάνισης των επιπέδων αυτών (Touitou Y *et al.*, 2017). Ως εκ τούτου, αυτή η διαφορετική επίδραση του φωτός κατά τη διάρκεια της ημέρας, μπορεί να

χρησιμοποιηθεί προκειμένου να επανέρθει ο συγχρονισμός του “εσωτερικού ρολογιού”, δηλαδή του κίρκαδιανού ρυθμού, για την αντιμετώπιση ασθενειών με προβλήματα συγχρονισμού της έκκρισης της μελατονίνης και της έκθεσης στο φως (Touitou Y *et al.*, 2017).

Ο κύκλος της αποδέσμευσης της μελατονίνης φαίνεται να είναι αντιστρόφως ανάλογος με τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Κατά συνέπεια, αργά το απόγευμα και νωρίς το βράδυ, όπου παρατηρείται η χαμηλότερη θερμοκρασία του σώματος, η έκκριση της μελατονίνης είναι υψηλή. Για τον ίδιο λόγο, τα επίπεδα της ορμόνης είναι υψηλότερα τους χειμερινούς απ' ότι τους καλοκαιρινούς μήνες, καθώς η έκκριση της ορμόνης επηρεάζεται ιδιαίτερα από την υψηλή θερμοκρασία, αλλά και από την υψηλή ένταση του φωτός.

Η συγκέντρωση της μελατονίνης στο αίμα επηρεάζεται επίσης, ιδιαίτερα από την ηλικία. Κατά τη γέννηση, η έκκριση της μελατονίνης από την επίφυση είναι μικρή. Η ορμόνη συναντάται στο μητρικό γάλα, οπότε και προσλαμβάνεται από τα βρέφη, στα οποία τα επίπεδα της μελατονίνης αυτορυθμίζονται περίπου κατά τον τρίτο μήνα μετά τη γέννηση. Οι υψηλότερες τιμές παρατηρούνται από το πρώτο έως το τρίτο έτος της ηλικίας. Κατά τη διάρκεια της εφηβείας παρατηρείται μία καθυστέρηση στην εμφάνιση των νυχτερινών επιπέδων της μελατονίνης, οδηγώντας συνεπώς σε μια αποδιοργάνωση του “εσωτερικού ρολογιού”, δίνοντας έτσι μια εξήγηση στο γιατί οι έφηβοι συνηθίζουν να κοιμούνται και να ξυπνούν πιο αργά. Με τη γήρανση του ανθρώπου η παραγωγή της μελατονίνης μειώνεται σημαντικά, οδηγώντας κατ' αυτόν τον τρόπο σε ποικίλες διαταραχές, όπως αϋπνία και διαταραχές στην ποιότητα του ύπνου (Malhotra S *et al.*, 2014; Tan DX *et al.*, 2006; Srinivasan V *et al.*, 2008).

Η ενδογενής σύνθεση της μελατονίνης μπορεί να μειωθεί περαιτέρω με τη χορήγηση φαρμάκων, όπως οι βενζοδιαζεπίνες, τα NSAIDs και οι αποκλειστές των διαύλων ασβεστίου, φάρμακα τα οποία συχνά συνταγογραφούνται σε ηλικιωμένους (Auld F *et al.*, 2016). Αντίθετα, παρατηρείται μια αυξημένη νυχτερινή έκκριση της ορμόνης σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που λαμβάνουν αντισυλληπτικά φάρμακα. Η σύνθεση της μελατονίνης συνδέεται στενά με τη λειτουργία των β-αδρενεργικών υποδοχέων. Η παραγωγή της διεγείρεται από το συμπαθητικό σύστημα και έτσι οι β-αδρενεργικοί ανταγωνιστές, όπως η προπανολόλη, μειώνουν την έκκριση της μελατονίνης (Auld F *et al.*, 2016).

A.1.1.3 Ανεπιθύμητες ενέργειες

Η μελατονίνη έχει ένα σχετικά ήπιο προφίλ παρενεργειών και μέχρι σήμερα δεν έχουν αναφερθεί σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες. Κάποιες από αυτές περιλαμβάνουν κυρίως την

υποθερμία, την αυξημένη υπνηλία και τη μειωμένη εγρήγορση, ενώ έχει αναφερθεί μικρή πιθανότητα εμφάνισης εξάρτησης ή κάποια άλλη αρνητική επίδραση στη διάθεση την επόμενη μέρα (“φαινόμενο hangover”) (Auld F *et al.*, 2016; Ferracioli-Oda E *et al.*, 2013).

A.1.1.4 Μελατονίνη και μεσογειακή διατροφή

Η μελατονίνη αποτελεί βασικό συστατικό της μεσογειακής διατροφής, καθώς συναντάται σε μικρές ποσότητες σε διάφορες ποικιλίες κρασιού, αλλά και σε τρόφιμα, όπως οι ντομάτες, οι πατάτες, το ελαιόλαδο, οι ξηροί καρποί, το ρύζι, η βρώμη, κ.α. Παρόλ' αυτά, τα επίπεδα της μελατονίνης, που υπάρχουν στις τροφές, δεν είναι αρκετά υψηλά ώστε να επηρεαστεί ο κύκλος της μελατονίνης αποκλειστικά από τη διατροφή (Iriti M *et al.*, 2010).

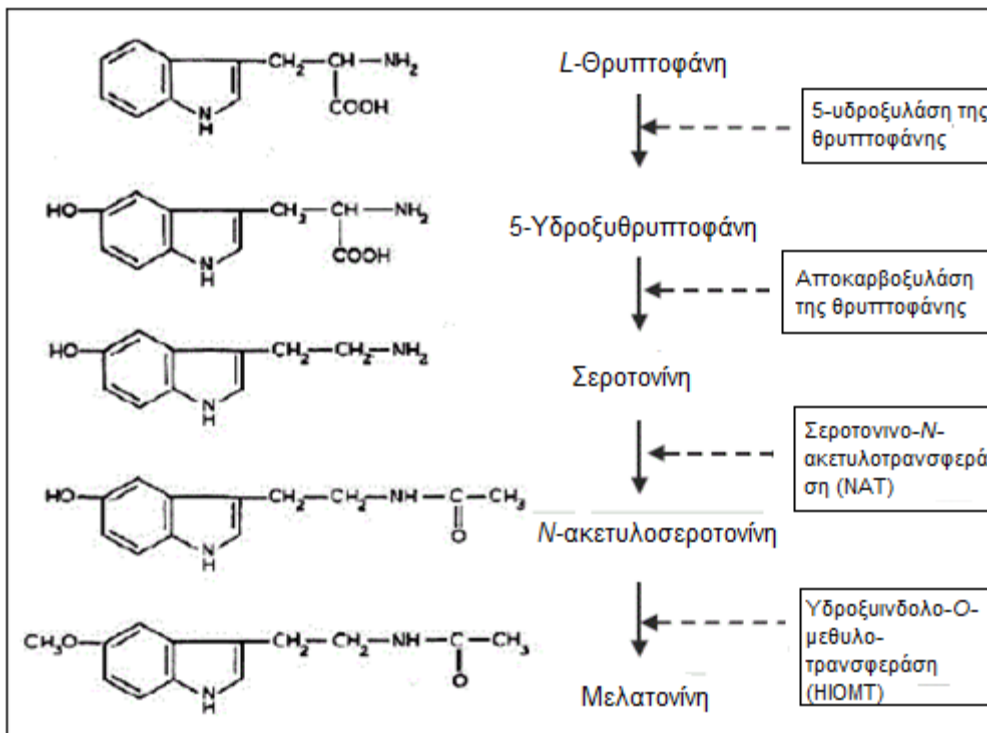
A.1.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες

Η μελατονίνη είναι ένα ινδόλιο, με συντακτικό τύπο $C_{13}H_{16}N_2O_2$, η δε επίσημη χημική της ονομασία κατά IUPAC είναι *N*-2-(5-μεθοξυ-1*H*-ινδολ-3-υλ)αιθυλακεταμίδιο. Είναι σε μορφή κίτρινης κρυσταλλικής σκόνης. Το μοριακό της βάρος είναι 232.283 g/mol και έχει σημείο τήξεως 116-118°C (NCBI PubChem CID 896, 2017). Το μόριο της μελατονίνης αποτελείται από δύο πλευρικές αλυσίδες, μία 5-μεθοξομάδα και μία 3-αλκυλαμιδομάδα. Αποτελεί μια αμφίφιλη ένωση, με τις λιπόφιλες ιδιότητες να οφείλονται στον ινδολικό της πυρήνα, ενώ οι υδρόφιλες στην 5-OCH₃ ομάδα και την ακεταμιδο-αλυσίδα (Tan DX *et al.*, 2002). Παρουσιάζει μικρή διαλυτότητα στο νερό, ενώ τα διαλύματά της είναι ευαίσθητα στο φως και την οξειδωση.

A.1.3 Βιοσύνθεση και Μεταβολισμός

Η μελατονίνη συντίθεται κυρίως στην επίφυση του εγκεφάλου μέσω τεσσάρων ενζυματικών σταδίων, ξεκινώντας από το αμινοξύ *L*-θρυπτοφάνη και τη σεροτονίνη να εμφανίζεται ως ενδιάμεσο προϊόν (Malhotra S *et al.*, 2014). Για την ενδογενή σύνθεση της μελατονίνης, η *L*-θρυπτοφάνη αρχικά υδροξυλιώνεται σε 5-υδροξυθρυπτοφάνη, μέσω της οποίας προκύπτει η σεροτονίνη, η οποία αποθηκεύεται στα κύτταρα της επίφυσης καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας. Όταν επικρατήσει σκότος, ο οργανισμός αποδεσμεύει τη νορεπινεφρίνη στα κύτταρα της επίφυσης, οδηγώντας στη βιοσύνθεση της σεροτονίνης, η οποία ακετυλιώνεται με τη βοήθεια του ενζύμου *N*-ακετυλοτρανσφεράση (NAT) σε *N*-ακετυλοσεροτονίνη και στη συνέχεια μεθυλιώνεται από την υδροξυ-ινδολο-

μεθυλοτρανσφεράση (HIOMT), οπότε και προκύπτει τελικά η μελατονίνη. Τα ένζυμα *N*-ακετυλοτρανσφεράση (NAT) και υδροξυ-ϊνδολο-μεθυλοτρανσφεράση (HIOMT) είναι σε μεγάλο βαθμό καθοριστικά για τη σύνθεση της ορμόνης (Srinivasan V *et al.*, 2008; Altun A *et al.*, 2007; Boutin JA *et al.*, 2005). Σε αντίθεση με άλλες ορμόνες, η μελατονίνη, μετά την παραγωγή της, δεν αποθηκεύεται στην επίφυση, αλλά απελευθερώνεται αμέσως στην κυκλοφορία του αίματος (Tan DX *et al.*, 2006; Iriti M *et al.*, 2010).



Σχήμα Α.3: Βιοσύνθεση της μελατονίνης στην επίφυση (Bubenik GA *et al.*, 2011)

Η μελατονίνη μεταβολίζεται κυρίως στο ήπαρ, ενώ μικρή ποσότητα αποβάλλεται από τα ούρα με τη μορφή των μεταβολιτών 6-SMT (6-σουλφατοξυμελατονίνη) και 2-υδροξυμελατονίνη (Auld F *et al.*, 2016; Altun A *et al.*, 2007; Tan DX *et al.*, 2006; Srinivasan V *et al.*, 2008). Φαρμακοκινητικά, ο χρόνος ημιζωής της μελατονίνης είναι 36 ± 2 λεπτά για τους άντρες και 40 ± 10 λεπτά για τις γυναίκες (Fourtillan JB *et al.*, 2000). Συνδέεται σε μεγάλο βαθμό με τη λευκωματίνη του πλάσματος και σε μικρότερο βαθμό με την αιμοσφαιρίνη.

A.1.4 Υποδοχείς μελατονίνης

Η ενεργοποίηση της μελατονίνης σχετίζεται τις περισσότερες φορές με τη σύνδεση της ορμόνης σε ειδικούς υψηλής συγγένειας υποδοχείς που υπάρχουν στο σώμα, ενώ άλλες φορές η ενεργοποίησή της φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από τη σύνδεση με υποδοχείς. Οι υποδοχείς που συνδέεται η μελατονίνη εκφράζονται σε διάφορους ιστούς του σώματος, όπως στον εγκέφαλο, στο πάγκρεας, στο γαστρεντερικό σωλήνα, στον αμφιβληστροειδή χιτώνα, στις ωοθήκες και στα αιμοφόρα αγγεία. Οι υποδοχείς αυτοί έχουν ανιχνευθεί στην επιφάνεια, αλλά και στον πυρήνα των κυττάρων. Κάποιες από τις δράσεις της μελατονίνης επάγονται μέσω των επιφανειακών, ενώ άλλες μέσω των πυρηνικών υποδοχέων.

Στον άνθρωπο έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα τρεις υπότυποι κυτταρικών υποδοχέων μελατονίνης, με βάση τη διαφορετική μοριακή δομή τους, οι MT1, MT2 και MT3. Ο MT1 και ο MT2 είναι αυτοί που σχετίζονται με τις περισσότερες δράσεις της μελατονίνης και ανήκουν στην υπεροικογένεια των συνδεδεμένων με G-πρωτεΐνες υποδοχέων (Boutin JA *et al.*, 2005). Ο MT1 υποδοχέας της μελατονίνης εκφράζεται κυρίως σε περιοχές του εγκεφάλου, όπως στον υπερχιασματικό πυρήνα του υποθαλάμου (SCN), αλλά και σε άλλες περιοχές του σώματος, όπως στην καρδιά, στο ήπαρ, στους νεφρούς και το δέρμα (Srinivasan V *et al.*, 2008). Ο MT2 υποδοχέας συναντάται κυρίως στον αμφιβληστροειδή, στην παρεγκεφαλίδα, στον υπερχιασματικό πυρήνα του υποθαλάμου, στην καρδιά και τους νεφρούς. Ο MT3 υποδοχέας συναντάται κυρίως στον εγκέφαλο, στους νεφρούς, στο λιπώδη ιστό, στους σκελετικούς μύες, στους πνεύμονες και το γαστρεντερικό σωλήνα, ενώ ο ρόλος του στη δέσμευση της μελατονίνης δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως μέχρι σήμερα. Η μελατονίνη συνδεδεμένη στους συγκεκριμένους υποδοχείς, ασκεί πολλές από τις φυσιολογικές της δράσεις, όπως είναι η ρύθμιση του κερκαδιανού ρυθμού, καθώς και τη θεραπευτική της δράση σε μια πληθώρα ασθενειών (Altun A *et al.*, 2007).

Η μελατονίνη ασκεί επίσης κάποιες από τις βιολογικές της δράσεις συνδεδεμένη με τους πυρηνικούς υποδοχείς του ρετινοϊκού οξέος, οι οποίοι ανήκουν στην οικογένεια των υποδοχέων RZR/ROR και κατατάσσονται σε τρεις υποτύπους, τους ROR_α, RZR_β και ROR_γ (Boutin JA *et al.*, 2005; Srinivasan V *et al.*, 2008). Οι υποδοχείς ROR_α απαντώνται σχεδόν σε όλους τους ιστούς του σώματος, οι υποδοχείς RZR_β εκφράζονται μόνο στον εγκέφαλο, ενώ οι υποδοχείς ROR_γ εκφράζονται κυρίως στους σκελετικούς μύες, στο ήπαρ, στους όρχεις και στην καρδιά. Με τη σύνδεση της μελατονίνης στους συγκεκριμένους πυρηνικούς υποδοχείς, ενεργοποιείται η μεταγραφή των γονιδίων του υποδοχέα, με αποτέλεσμα να πραγματοποιούνται συγκεκριμένες λειτουργίες, όπως είναι η αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων.

A.1.5 Θεραπευτική δράση

A.1.5.1 Διαταραχές του ύπνου

Οι διαταραχές του ύπνου επηρεάζουν σημαντικά τόσο την ψυχοσωματική όσο και τη συναισθηματική λειτουργία του ατόμου, οδηγώντας πολλές φορές σε πονοκέφαλο, σύγχυση, αδυναμία λήψης αποφάσεων, ακόμα και σε καρκίνο (Auld F *et al.*, 2016). Παράλληλα, η έλλειψη του ύπνου έχει σημαντική επίδραση στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, καθώς και στην προστασία του ανοσοποιητικού μας συστήματος. Διαταραχές στα πρότυπα του ύπνου εμφανίζονται συχνά σε αγχώδεις καταστάσεις, σε άτομα που βρίσκονται σε προχωρημένη ηλικία, σε άτομα που εργάζονται σε νυχτερινές ή εναλλασσόμενες βάρδιες, σε παιδιά με προβλήματα υπερκινητικότητας, καθώς και σε άτομα με προβλήματα όρασης (Altun A *et al.*, 2007). Η διαταραχή στην ποιότητα του ύπνου, μπορεί ωστόσο να οφείλεται και στη λήψη κάποιων φαρμάκων, όπως είναι οι β-αποκλειστές, τα ψυχοδιεγερτικά και τα αντικαταθλιπτικά φάρμακα, ή και από την ύπαρξη νευρολογικών παθήσεων, όπως είναι η νόσος Alzheimer (Pagel JF *et al.*, 2001; Tan DX *et al.*, 2006).

Όλες αυτές οι διαταραχές σχετίζονται με τη μειωμένη έκκριση της μελατονίνης από την επίφυση, με αποτέλεσμα την απώλεια του συγχρονισμού του κερκαδιανού ρυθμού του οργανισμού. Αυτή η διαταραχή του νυχθημερήσιου κύκλου της μελατονίνης, οδηγεί στην εμφάνιση αδυναμίας στην έναρξη, στη διάρκεια, αλλά και στην ποιότητα του ύπνου, χωρίς κάποια προφανή αιτία.

Ο καθοριστικός αυτός ρόλος που διαδραματίζει η μελατονίνη στη ρύθμιση του κερκαδιανού ρυθμού, έχει ως αποτέλεσμα τη θεραπευτική χρήση της ορμόνης για την αποκατάσταση της “αρχιτεκτονικής” του ύπνου σε ενήλικες και παιδιά (Boutin JA *et al.*, 2005; Ferracioli-Oda E *et al.*, 2013). Οι παρατηρούμενες υπνωτικές και ηρεμιστικές δράσεις της εξωγενώς χορηγούμενης μελατονίνης εξαρτώνται σημαντικά από την ώρα της ημέρας, όπου λαμβάνει χώρα η χορήγηση, αλλά και από το στάδιο του κερκαδιανού κύκλου στον οποίο βρισκόμαστε. Κατά αυτόν τον τρόπο, η χορήγηση τις πρωινές ώρες, προκαλεί μείωση στη θερμοκρασία του σώματος, και συνεπώς τάση για ύπνο, ενώ παράλληλα η χορήγηση της μελατονίνης νωρίς το απόγευμα, πριν δηλαδή λάβει χώρα η φυσιολογική έκκριση της ορμόνης, οδηγεί σε γρήγορη έλευση του ύπνου και αφύπνιση. Η χορήγηση της μελατονίνης εξωγενώς μειώνει σημαντικά την έναρξη, αλλά και τη λανθάνουσα φάση του ύπνου, ενώ αυξάνει το συνολικό χρόνο του ύπνου βελτιώνοντας την ποιότητά του συνολικά (Auld F *et al.*, 2016; Ferracioli-Oda E *et al.*, 2013). Η μελατονίνη ασκεί άμεσα τη δράση της, καθώς φαίνεται να απορροφάται γρήγορα μετά από του στόματος χορήγηση, εμφανίζοντας μέγιστα

επίπεδα στο πλάσμα μετά από περίπου 90 λεπτά.

Οι συνήθειες θεραπευτικές προσεγγίσεις για την αντιμετώπιση των διαταραχών του ύπνου, περιλαμβάνουν τη χορήγηση ηρεμιστικών φαρμάκων, όπως βενζοδιαζεπινών, αντικαταθλιπτικών, αλλά και άλλων φαρμάκων, όπως αγχολυτικών και αντιψυχωσικών, με αποτέλεσμα την εμφάνιση δυσάρεστων παρενεργειών, οι οποίες περιλαμβάνουν υπνηλία, ανοχή, “φαινόμενο hangover”, μειωμένη εγρήγορση και εξάρτηση (Arendt J *et al.*, 2008; Pagel JF *et al.*, 2001). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, σε αντίθεση με τα περισσότερα φάρμακα, η μελατονίνη εμφανίζει λίγες ανεπιθύμητες ενέργειες, ενώ δεν εμφανίζει τις συνήθειες ανεπιθύμητες δράσεις των ηρεμιστικών φαρμάκων (Ferracioli-Oda E *et al.*, 2013). Επιπλέον, η μελατονίνη σε αντίθεση με τα συνήθη ηρεμιστικά, επάγει την έναρξη της REM (rapid eye movement) περιόδου του ύπνου, η οποία χαρακτηρίζεται από έναν αρκετά ελαφρύ ύπνο απολύτως απαραίτητο για τον οργανισμό. Για τους λόγους αυτούς, η υπνωτική δράση της μελατονίνης χαρακτηρίζεται εμφανώς πιο ήπια σε σχέση με αυτή των υπολοίπων φαρμάκων (Auld F *et al.*, 2016; Pagel JF *et al.*, 2001).

A.1.5.2 Σύνδρομο ταχείας αλλαγής ζώνης ώρας (jet lag)

Το jet lag πρόκειται ως μία φυσιολογική διαταραχή του κερκαδιανού ρυθμού που παρατηρείται μετά από υπερατλαντικά αεροπορικά ταξίδια, κατά τα οποία παρεμβάλλονται πολλές ζώνες χρόνου. Το σύνδρομο είναι ιδιαίτερα συχνό σε πληρώματα αεροσκαφών και ταξιδιώτες. Η κερκαδιανή αυτή δυσρυθμία, μπορεί να διαρκέσει αρκετές μέρες μέχρι να προσαρμοστεί ο οργανισμός πλήρως στη νέα ζώνη ώρας και να αποκατασταθεί το κανονικό πρότυπο του ύπνου.

Όταν κάποιος ταξιδεύει και διασχίζει αρκετές ζώνες χρόνου, το “εσωτερικό ρολόι” του σώματος, δηλαδή ο κερκαδιανός ρυθμός, ο οποίος ελέγχει την έκκριση της μελατονίνης από την επίφυση, δεν είναι συγχρονισμένος με τον κύκλο ημέρας-νύχτας του τόπου προορισμού, καθώς ο οργανισμός βιώνει το φως της ημέρας και το σκοτάδι αντίθετα από τους ρυθμούς που έχει συνηθίσει. Έτσι, το φυσικό μοτίβο του σώματος είναι διαταραγμένο, καθώς ο κερκαδιανός ρυθμός, που υπαγορεύει την ώρα του ύπνου, δεν συμβαδίζει με το νέο περιβάλλον. Τα συμπτώματα του jet lag σχετίζονται με κακή ποιότητα και αναστάτωση του ύπνου, κατά την άφιξη στον τόπο προορισμού, καθώς και έντονη κόπωση, πονοκέφαλο και γαστρεντερικά προβλήματα. Η σοβαρότητα των συμπτωμάτων δεν συνδέεται τόσο με τη διάρκεια της πτήσης, όσο με τον αριθμό των χρονικών ζωνών διέλευσης και την κατεύθυνση του ταξιδιού (Herxheimer A *et al.*, 2009; Sack RL *et al.*, 2010).

Η μελατονίνη αποτελώντας το βασικό ρυθμιστή του κερκαδιανού ρυθμού,

χρησιμοποιείται ως φάρμακο για την εκ νέου ευθυγράμμιση του οργανισμού με το εξωτερικό περιβάλλον. Η εξωγενώς χορηγούμενη μελατονίνη είναι εξαιρετικά αποτελεσματική στην πρόληψη και τη μείωση των συμπτωμάτων του jet lag, ιδιαίτερα σε ενήλικες ταξιδιώτες που διασχίζουν πολλές ζώνες χρόνου, ιδίως αν έχουν βιώσει το jet lag σε προηγούμενα ταξίδια. Με τη χορήγηση της μελατονίνης, έχει παρατηρηθεί μείωση του χρόνου έλευσης του ύπνου, αλλά και σημαντική βελτίωση της ποιότητάς του. Οι ημερήσιες δόσεις της μελατονίνης για τη θεραπεία του jet lag κυμαίνονται από 0,5 έως 5 mg και είναι εξίσου αποτελεσματικές, αν και οι μεγαλύτερες δόσεις θεωρούνται πιο ευεργετικές. Η χρονική στιγμή της χορήγησης της μελατονίνης είναι μείζονος σημασίας, καθώς εάν ληφθεί λανθασμένα, νωρίς το πρωί, είναι ικανή να προκαλέσει υπνηλία και να καθυστερήσει την προσαρμογή στην τοπική ώρα (Herxheimer A *et al.*, 2009). Για το λόγο αυτό, η χορήγηση της μελατονίνης συνίσταται κατά τις πρώτες ημέρες του ταξιδιού, πριν την ώρα κατάκλισης στον τόπο προορισμού (10 μμ.-12 μμ.), καθώς δρα προσθετικά με την έκκριση της ενδογενούς μελατονίνης και οδηγεί σε μείωση του jet lag, για πτήσεις που διασχίζουν πέντε ή και περισσότερες ζώνες ώρας (Herxheimer A *et al.*, 2009). Όταν διασχίζονται περισσότερες από οκτώ ζώνες χρόνου, η ορμόνη συνίσταται να χορηγείται δύο με τρεις ημέρες πριν από την πτήση ώστε να αντιμετωπίζεται κατάλληλα η ήπια υπνωτική και κατασταλτική της δράση. Αξίζει να σημειωθεί, πως έχει βρεθεί ότι η μελατονίνη έχει ισχυρότερη θεραπευτική δράση, όταν ο προορισμός του ταξιδιού είναι ανατολικός και διασχίζονται περισσότερες από πέντε ζώνες ώρας (Malhotra S *et al.*, 2014; Herxheimer A *et al.*, 2009).

A.1.5.3 Αντιοξειδωτική δράση

Οι ελεύθερες ρίζες είναι χημικές ουσίες οι οποίες περιέχουν ένα ή περισσότερα ελεύθερα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στιβάδα, γεγονός που τις καθιστά ιδιαίτερα δραστικές. Οι τοξικοί αυτοί παράγοντες μπορούν να καταστρέψουν κύτταρα του οργανισμού, λιπίδια, πρωτεΐνες, καθώς και να αλλοιώσουν το DNA οδηγώντας ακόμα και στον καρκίνο. Η περιορισμένη ικανότητα του οργανισμού να αδρανοποιήσει αυτά τα τοξικά μόρια και να επισκευάσει τις βλάβες, που αυτά προκαλούν, οδηγεί στο οξειδωτικό στρες. Η ελεύθερη ρίζα του υδροξυλίου αποτελεί ίσως την πιο τοξική ελεύθερη ρίζα στους οργανισμούς, προκαλώντας αλυσιδωτές αντιδράσεις, οξειδωτικό στρες, ακόμα και κυτταρικό θάνατο (Tan DX *et al.*, 1993; Reiter RJ *et al.*, 2010).

Η μελατονίνη αποτελεί ένα από τα ισχυρότερα αντιοξειδωτικά που υπάρχουν στη φύση, καθώς εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες και προστατεύει τα κύτταρα από την οξειδωτική καταστροφή και τη μοριακή βλάβη (Tan DX *et al.*, 1993; Tan DX *et al.*, 2006). Η

αντιοξειδωτική δράση της μελατονίνης πραγματοποιείται είτε με τη διέγερση αντιοξειδωτικών ενζύμων, είτε με την άμεση εξουδετέρωση των παραγόμενων ελευθέρων ριζών. Στην πρώτη περίπτωση, η μελατονίνη διεγείρει την παραγωγή αντιοξειδωτικών ενζύμων, που συνδέονται με συγκεκριμένους πυρηνικούς υποδοχείς και τα οποία μετατρέπουν τις ελεύθερες ρίζες σε αβλαβή για τον οργανισμό προϊόντα. Στη δεύτερη περίπτωση, η ορμόνη μπορεί να δράσει άμεσα εξουδετερώνοντας και απομακρύνοντας τις ελεύθερες ρίζες από τον οργανισμό, χωρίς να απαιτείται η σύνδεσή της με κάποιον υποδοχέα (Reiter RJ *et al.*, 2010).

Η μελατονίνη αποτελεί έναν ιδιαίτερα ισχυρό παράγοντα (καλύτερο από τις βιταμίνες E και C) για την απομάκρυνση των ελευθέρων ριζών του υδροξυλίου, του υπεροξειδίου και του αζώτου, γεγονός που οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στη χημική δομή του μορίου. Συγκεκριμένα, λόγω των λιπόφιλων ιδιοτήτων της, η μελατονίνη μπορεί να διαπεράσει εύκολα τις κυτταρικές μεμβράνες, αλλά και τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και να εισέλθει στο εσωτερικό οποιουδήποτε κυττάρου δρώντας ενδοκυτταρικά (Altun A *et al.*, 2007). Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για την απομάκρυνση των ελευθέρων ριζών του υδροξυλίου, οι οποίες ασκούν τη δράση τους σε συγκεκριμένα σημεία στο εσωτερικό των κυττάρων (Tan DX *et al.*, 1993).

Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό της μελατονίνης, που την καθιστά εξαιρετικά αποτελεσματική, ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, είναι ότι και οι μεταβολίτες της ορμόνης συνεισφέρουν σημαντικά στην αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού δημιουργώντας έτσι τη λεγόμενη “αντίδραση καταρράκτη” (Reiter RJ *et al.*, 2010; Tan DX *et al.*, 2006). Μελέτες δείχνουν επίσης, πως εκτός από την μελατονίνη που εκκρίνεται από την επίφυση, η τοπικά παραγομένη μελατονίνη χρησιμοποιείται από τους ιστούς στους οποίους παράγεται, ως ένας προστατευτικός μηχανισμός έναντι του οξειδωτικού στρες. Ειδικά σε όργανα όπως ο γαστρεντερικός σωλήνας και το δέρμα, που εκτίθεται σε εχθρικές προσβολές από το περιβάλλον, ή σε όργανα που απαιτούν μεγάλη κατανάλωση οξυγόνου όπως είναι ο εγκέφαλος. Τα εκτός επίφυσης υψηλά επίπεδα της ορμόνης αδρανοποιούν αυτούς τους τοξικούς παράγοντες (Tan DX *et al.*, 2006).

Οι φυσιολογικά παραγόμενες συγκεντρώσεις της μελατονίνης, φαίνεται πως είναι ανεπαρκείς για την ολική προστασία των κυττάρων από την οξειδωτική βλάβη. Δεδομένου ότι τα ενδογενή επίπεδα της ορμόνης μειώνονται με την πάροδο του χρόνου, η απώλεια αυτού του ισχυρού φυσικού αντιοξειδωτικού συμβάλλει στη γήρανση, αλλά και στην ανάπτυξη ασθενειών, όπως είναι η νόσος Parkinson, η νόσος Alzheimer και ο διαβήτης.

A.1.5.4 Αντικαρκινικές ιδιότητες

Σε ασθενείς που νοσούν από καρκίνο, η έκκριση της μελατονίνης από την επίφυση μειώνεται σημαντικά. Η συσχέτιση αυτή, υποδεικνύει ότι η ορμόνη αποτελεί ένα σημαντικό ρυθμιστή για την εξέλιξη της νόσου (Mills E *et al.*, 2005).

Η μελατονίνη μπορεί να συμβάλλει στη συμπληρωματική θεραπεία και την πρόληψη του καρκίνου, ενώ σταθεροποιεί τη νόσο και βελτιώνει την ποιότητα της ζωής των ασθενών. Η χορήγηση της ορμόνης δρα συμπληρωματικά στη βασική αντικαρκινική θεραπεία, όπως είναι η χημειοθεραπεία και δρα ως υποστηρικτική αγωγή σε ασθενείς που βρίσκονται σε προχωρημένο στάδιο καρκίνου, ενώ αποδείχθηκε ότι βελτιώνει σημαντικά την ανταπόκριση και την ανεκτικότητα των ασθενών (Altun A *et al.*, 2007). Παράλληλα, η μελατονίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί επιτυχώς και για την πρόληψη των ανεπιθύμητων ενεργειών από τη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία (Mills E *et al.*, 2005). Η ορμόνη μειώνει την εξασθένηση του οργανισμού από τη χορήγηση των αντικαρκινικών φαρμάκων, ενώ η ετήσια επιβίωση των ασθενών βρέθηκε ότι ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε ασθενείς που λάμβαναν μελατονίνη, παράλληλα με τη χημειοθεραπεία (Altun A *et al.*, 2007). Η μελατονίνη μειώνει επίσης τη διηθητική και μεταστατική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων, ενώ ταυτόχρονα επάγει και την απόπτωσή τους (Blask DE *et al.*, 2002).

Οι μηχανισμοί με τους οποίους η μελατονίνη εμφανίζει την αντικαρκινική της προστασία δεν είναι ακόμα πλήρως διευκρινισμένοι. Ένας από τους πιθανούς μηχανισμούς δράσης της ορμόνης είναι η αντιμιτωτική δράση που εμφανίζει η μελατονίνη, ως αποτέλεσμα της κατασταλτικής ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης ή μέσω της αναστολής της απελευθέρωσης του αυξητικού παράγοντα (Mills E *et al.*, 2005). Παράλληλα, οι έμμεσες δράσεις της ορμόνης συμπεριλαμβάνουν την αναστολή της έκκρισης των ορμονών της υπόφυσης, οι οποίες σχετίζονται στενά με την ανάπτυξη των καρκινικών όγκων, ειδικά των γοναδικών οιστρογόνων και την ισχυρή αντιοξειδωτική δράση της ορμόνης, η οποία έχει αποδειχθεί ότι ενισχύει τις κυτταροτοξικές δράσεις των χημειοθεραπευτικών παραγόντων έναντι των κυττάρων του όγκου (Tan DX *et al.*, 1993; Altun A *et al.*, 2007).

Συγκεκριμένα, η μελατονίνη αναστέλλει την ανάπτυξη διαφόρων μορφών καρκίνου, όπως του μαστού, του προστάτη, του παχέος εντέρου, του δέρματος αλλά και άλλων οργάνων (Mills E *et al.*, 2005). Κλινικά στοιχεία υποδεικνύουν έναν αξιοσημείωτο ρόλο της μελατονίνης στην πρόληψη, ακόμη και στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού (Malhotra S *et al.*, 2014). Διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση της μελατονίνης μείωσε τη συχνότητα εμφάνισης και το μέγεθος των καρκινωμάτων του μαστού. Η μελατονίνη αναστέλλει την καρκινική διέγερση των οιστρογονικών υποδοχέων και συμπληρώνει τις ογκοστατικές δράσεις των

αντιοιστρογονικών φαρμάκων, όπως για παράδειγμα της ταμοξιφαίνης, οδηγώντας στην υπόθεση ότι η μελατονίνη είναι ένα “φυσικό αντιοιστρογόνο” του οργανισμού (Malhotra S *et al.*, 2014; Srinivasan V *et al.*, 2008). Στον καρκίνο του προστάτη, η μελατονίνη δρα στους MT1 υποδοχείς των ανδρογόνων και ασκεί πολύπλοκη δράση, εμποδίζοντας την εξέλιξη της νόσου. Η μερική παραγωγή της μελατονίνης από το γαστρεντερικό σωλήνα διεγείρει την εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών συμβάλλοντας σημαντικά στην προστασία από την ανάπτυξη νεοπλασίας στις περιοχές του γαστρεντερικού σωλήνα (Srinivasan V *et al.*, 2008).

Η αποτελεσματικότητα της μελατονίνης στον περιορισμό του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων φαίνεται πως εξαρτάται τόσο από την ώρα της ημέρας, που λαμβάνει χώρα η χορήγηση, όσο και από τη δόση. Συγκεκριμένα, η χορήγηση της μελατονίνης τις βραδινές ώρες φαίνεται να προκαλεί επιβραδυντική δράση στα καρκινικά κύτταρα, σε σχέση με τη χορήγηση της ορμόνης κατά τη διάρκεια της ημέρας. Σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις η μελατονίνη εμφανίζει κυτταροστατική δράση, ενώ αντίθετα σε φαρμακολογικές συγκεντρώσεις έχει κυτταροτοξική δράση στα καρκινικά κύτταρα. Η αποτελεσματική δοσολογία για την αντιμετώπιση του καρκίνου θεωρείται ότι είναι 20- 40 mg, κατά πολύ δηλαδή υψηλότερη από τη συνήθη δόση των 1.5-5 mg, που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της αϋπνίας ή του jet lag, γεγονός που γεννά κάποιες αμφιβολίες στους επιστήμονες για το κατά πόσο η ορμόνη είναι ασφαλής σε αυτές τις υψηλές συγκεντρώσεις (Mills E *et al.*, 2005).

A.1.5.5 Αντιγήρανση

Η συγκέντρωση της μελατονίνης στο πλάσμα μειώνεται σημαντικά με την πάροδο του χρόνου. Ένας παιδικός οργανισμός εμφανίζει τη μέγιστη έκκριση της ενδογενούς ορμόνης μετά τα μεσάνυχτα, ενώ αντίθετα σε άτομα προχωρημένης ηλικίας, τα επίπεδα της μελατονίνης κορυφώνονται αρκετά νωρίτερα. Αυτό εξηγεί το γεγονός, γιατί οι ηλικιωμένοι άνθρωποι κοιμούνται και ξυπνούν νωρίτερα σε σχέση με τους νέους και τα παιδιά, ενώ παράλληλα εμφανίζουν και περισσότερα προβλήματα στην ποιότητα του ύπνου. Αυτή η συσχέτιση της μελατονίνης με την ηλικία, οδήγησε τους ερευνητές στην διερεύνηση του πιθανού ρόλου της ορμόνης ως αντιγηραντικού παράγοντα.

Η αντιγηραντική δράση της ορμόνης επάγεται κυρίως μέσω της αντιοξειδωτικής της δράσης, αλλά και μέσω του επανασυγχρονισμού του κερκαδικού ρυθμού που επιφέρει. Η μελατονίνη καταστρέφει τις παραγόμενες με τα χρόνια ελεύθερες ρίζες του οργανισμού, οι οποίες οδηγούν σε απόπτωση των κυττάρων, καταστροφή των πρωτεϊνών και του γενετικού υλικού, τα οποία επισπεύδουν σημαντικά τη διαδικασία της γήρανσης. Συγκεκριμένα, η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση της μελατονίνης στην απομάκρυνση των ελευθέρων ριζών

υδροξυλίου, σχετίζεται στενά με την αντιγηραντική δράση της ορμόνης, δεδομένου ότι ο σχηματισμός των ελευθέρων ριζών υδροξυλίου είναι ευθέως ανάλογος με το ρυθμό γήρανσης του οργανισμού (Tan DX *et al.*, 1993).

Προκλινικές μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν πως η χορήγηση της μελατονίνης παρέτεινε το χρόνο ζωής τους σε ποσοστό 25 %. Παρόλ' αυτά, η δράση της μελατονίνης στη μάχη κατά του γήρατος δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη μέχρι και σήμερα, για αυτό και δεν αποτελεί ακόμα ένα αποδεκτό μέσο αντιγήρανσης (Malhotra S *et al.*, 2014).

A.1.5.6 Νευρολογικές διαταραχές

Σύγχρονες μελέτες εξετάζουν τα νευροπροστατευτικά αποτελέσματα της μελατονίνης σε διάφορες περιοχές του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ), καθώς και τη χρήση της ορμόνης σε διάφορες διαταραχές, όπως η ημικρανία, η νόσος του Parkinson, η νόσος Alzheimer και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια. Η χρήση της μελατονίνης στις νευρολογικές διαταραχές βασίζεται στην ισχυρή αντιοξειδωτική της δράση, αλλά και στην ικανότητά της να διαπερνά εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό.

Πολλές κλινικές μελέτες υποδεικνύουν πως η μελατονίνη αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προληπτική αγωγή για την αντιμετώπιση της ημικρανίας και της πρωτοπαθούς κεφαλαλγίας (Gagnier JJ, 2001). Επειδή τα επίπεδα της μελατονίνης βρέθηκαν να είναι αλλοιωμένα σε ασθενείς με διάφορες μορφές πονοκεφάλου, προτάθηκε από τους ερευνητές να εξετασθεί κατά πόσο η χορήγηση της μελατονίνης θα μπορούσε να αποτελέσει μια αποτελεσματική πρόληψη για την ημικρανία. Η ημικρανία και ο πονοκέφαλος δημιουργούνται από την προσαρμογή του οργανισμού στις αλλαγές του περιβάλλοντος, με το φως να αποτελεί έναν επιβαρυντικό παράγοντα σε αυτές τις καταστάσεις (Altun A *et al.*, 2007). Όπως ήδη αναφέρθηκε, η επίφυση είναι ένας φωτοευαίσθητος αδένας, ο οποίος μετατρέπει τα ερεθίσματα από το εξωτερικό περιβάλλον σε έκκριση ορμονών και συγκεκριμένα της μελατονίνης. Θεωρείται λοιπόν πως η επίφυση αποτελεί τη σύνδεση μεταξύ αυτών των διαταραχών και της πυροδοτούμενης από το περιβάλλον έκκρισης της νευροδραστικής μελατονίνης (Gagnier JJ, 2001). Η μελατονίνη συνδέεται στενά με την παθοφυσιολογία του πονοκεφάλου με πολλούς τρόπους, όπως με την προκαλούμενη διαφοροποίηση στα επίπεδα της σεροτονίνης, καθώς και την παρεμπόδιση της αποδέσμευσης της ντοπαμίνης (Altun A *et al.*, 2007). Πιο συγκεκριμένα, η μελατονίνη βρέθηκε να βοηθά στη μείωση του αριθμού, της διάρκειας, αλλά και της έντασης των επεισοδίων της ημικρανίας, ενώ παρατηρήθηκε μια μείωση στη χρήση των αναλγητικών και των άλλων φαρμάκων που χορηγούνται για τη θεραπευτική αντιμετώπιση.

Σύμφωνα με μελέτες σε πειραματόζωα, η μελατονίνη φαίνεται επίσης να εμπλέκεται στους μηχανισμούς μάθησης και μνήμης. Συγκεκριμένα, στους ασθενείς με τη νόσο του Alzheimer παρατηρείται μια διαταραχή στην έκκριση της μελατονίνης, κάτι που μπορεί να οφείλεται στην εκφύλιση του άξονα του αμφιβληστροειδούς και του υπερχιασματικού πυρήνα του υποθαλάμου, αλλά και σε διαταραχή της ρύθμισης της έκκρισης της μελατονίνης από το συμπαθητικό σύστημα (Ling ZQ *et al.*, 2009; Altun A *et al.*, 2007). Πολλοί ερευνητές συνδέουν επίσης τον απογευματινό εκνευρισμό που παρατηρείται συχνά στους ασθενείς με τη νόσο Alzheimer (το λεγόμενο “sundowning”), με μία καθυστέρηση στον κερκαδιανό ρυθμό. Η χορήγηση της μελατονίνης μπορεί να αναστείλει την εμφάνιση αλλοιώσεων στα νευρικά κύτταρα του εγκεφάλου και τις συνακόλουθες διαταραχές μνήμης που παρατηρούνται στη νόσο Alzheimer. Η ορμόνη μεταβάλλει τις ηλεκτροφυσιολογικές διαδικασίες οι οποίες σχετίζονται με τη μνήμη, όπως η μακροχρόνια ενδυνάμωση (long term potentiation, LTP) των μεταδόσεων σήματος μεταξύ δύο νευρώνων. Επίσης, η νευρομόνη αποτρέπει το θάνατο των νευρώνων, που προκαλείται από την έκθεση στην πρωτεΐνη, αμυλοειδές β, η οποία συσσωρεύεται στους εγκεφάλους των ασθενών που πάσχουν από τη νόσο, αλλά και την υπερφωσφορυλίωση της πρωτεΐνης τ, η οποία μπορεί να προκαλέσει το σχηματισμό νευροϊνωδών πλοκών στον υποθάλαμο.

Η επίφυση λειτουργεί ως ένα “ηρεμιστικό όργανο” που προωθεί την ομοιοστατική ισορροπία. Η μελατονίνη σταθεροποιεί την ηλεκτρική δραστηριότητα του ΚΝΣ και σύμφωνα με μελέτες σε πειραματόζωα, παρατηρήθηκε ότι παρέχει αντισπασμωδική δράση σε διάφορες μορφές επιληψίας. Η ενδοεγκεφαλική χορήγηση της μελατονίνης σε πειραματόζωα, μείωσε τους σπασμούς, που οφείλονται σε grand mal επιληψία. Επιπρόσθετα, η συμπληρωματική με τη θεραπεία χορήγηση 3 mg μελατονίνης, 30 λεπτά πριν τον ύπνο σε ασθενείς με ανθεκτικής μορφής επιληψία, οδήγησε σε κλινική βελτίωση της επιληπτικής δραστηριότητας. Ωστόσο, λόγω των περιορισμένων μέχρι στιγμής κλινικών μελετών δεν ενδείκνυται ακόμα η χρήση της στην επιληψία (Malhotra S *et al.*, 2014; Altun A *et al.*, 2007).

A.1.5.7 Ψυχικές διαταραχές

Η σύνθεση και η έκκριση της μελατονίνης εξαρτώνται σημαντικά από τα επίπεδα της σεροτονίνης και το νοραδρενεργικό σύστημα αντίστοιχα, γεγονός το οποίο καθιστά την ορμόνη ένα χρήσιμο δείκτη για την ύπαρξη διαφόρων ψυχικών παθήσεων. Στις συναισθηματικές και ψυχικές διαταραχές παρατηρούνται μεταβολές στα επίπεδα της μελατονίνης, χωρίς όμως να μπορούν να συσχετισθούν με κάποια συγκεκριμένη ψυχική διαταραχή (Wehr TA *et al.*, 1979).

Η μελατονίνη έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στην αντιμετώπιση της εποχικής συναισθηματικής διαταραχής, ενώ εξετάζεται η χρήση της στη διπολική διαταραχή, στην κατάθλιψη, καθώς και σε άλλες διαταραχές, οι οποίες προκαλούν απορρύθμιση του κερκαδιανού ρυθμού. Η εποχική συναισθηματική διαταραχή ή χειμερινή κατάθλιψη (SAD) αποτελεί ένα διακριτό τύπο εποχικής υποτροπιάζουσας καταθλιπτικής διαταραχής, η οποία συνήθως ξεκινά το φθινόπωρο και συνεχίζεται κατά τη διάρκεια του χειμώνα, όπου η διάρκεια της ημέρας είναι μειωμένη, ενώ χαρακτηρίζεται από συμπτώματα, όπως έντονο αίσθημα κόπωσης, καθυστέρηση στην κατάκλιση και πρωινή αϋπνία (Malhotra S *et al.*, 2014). Η έναρξη της νυχτερινής έκκρισης της μελατονίνης, καθυστερεί σημαντικά, κατά 1,5-2 ώρες, στους ασθενείς με εποχική συναισθηματική διαταραχή, σε σχέση με τα υγιή άτομα. Σύμφωνα με μια προκαταρκτική μελέτη, οι ασθενείς παρουσίασαν σημαντική βελτίωση όταν τους χορηγήθηκαν μικρές δόσεις (0,1 mg) μελατονίνης το απόγευμα. Η στενή σχέση της σύνθεσης της μελατονίνης με του β-αδρενεργικούς υποδοχείς και η διεγερτική επίδραση της νορεπινεφρίνης στη σύνθεση και έκκριση της ορμόνης, δείχνουν μια θεωρητική συσχέτιση της μελατονίνης με την κατάθλιψη. Έτσι είναι πιθανόν η δράση της νορεπινεφρίνης, στις συναισθηματικές διαταραχές, να διαμεσολαβείται εν μέρει από την επίδρασή της στη σύνθεση της μελατονίνης (Malhotra S *et al.*, 2014; Terman M *et al.*, 1988; Altun A *et al.*, 2007).

A.1.5.8 Ανοσοποιητικό σύστημα

Η μελατονίνη αλληλεπιδρά με το ανοσοποιητικό σύστημα και εμφανίζει ανοσοενισχυτική δράση. Η ορμόνη ενεργοποιεί τα T-λεμφοκύτταρα, τα μονοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα και την παραγωγή κυτοκινών, επάγοντας τις εξαρτώμενες από τα αντισώματα αποκρίσεις (Altun A *et al.*, 2007). Η περισσότερο καταγεγραμμένη δράση της ορμόνης φαίνεται να είναι η αντιφλεγμονώδης δράση της, ενώ μελέτες υποδεικνύουν ότι η μελατονίνη είναι χρήσιμη και για την πρόληψη και θεραπεία των ιογενών και βακτηριακών λοιμώξεων (Maestroni GJ *et al.*, 1999). Το θετικό ανοσολογικό αποτέλεσμα της μελατονίνης πιθανολογείται ότι οφείλεται στη δράση της στους MT1 και MT2 υποδοχείς.

A.1.5.9 Καρδιαγγειακό σύστημα

Τα καρδιακά επεισόδια και η υψηλή αρτηριακή πίεση φαίνεται να σχετίζονται σε σημαντικό βαθμό με τη μελατονίνη. Συγκεκριμένα, η μείωση του κερκαδιανού ρυθμού και της πίεσης που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια του ύπνου, καθώς και η αυξημένη

συχνότητα καρδιαγγειακών επεισοδίων κατά τη διάρκεια της ημέρας, έχουν συσχετισθεί αρκετά με τις μεταβολές στους βιολογικούς ρυθμούς και τις διακυμάνσεις στα επίπεδα της μελατονίνης, που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της ημέρας (Altun A *et al.*, 2007). Η καρδιοπροστατευτική δράση της μελατονίνης φαίνεται να συνδέεται στενά με τις ισχυρές αντιοξειδωτικές επιδράσεις της ορμόνης. Σύμφωνα με μελέτες οι οποίες διεξήχθησαν σε πειραματόζωα, η ορμόνη μείωσε το μέγεθος του εμφράγματος του μυοκαρδίου, κατέστειλε τη συχνότητα, καθώς και τη διάρκεια της κοιλιακής ταχυκαρδίας και μαρμαρυγής, ενώ αύξησε την επιβίωση των πειραματόζωων (Malhotra S *et al.*, 2014).

Σε ασθενείς που πάσχουν από αρτηριακή υπέρταση παρατηρήθηκαν χαμηλότερα επίπεδα μελατονίνης κατά τις βραδινές ώρες σε σχέση με τους νορμοτασικούς. Με βάση τα δεδομένα αυτά, εξετάστηκε κατά πόσο η μελατονίνη θα μπορούσε να αποτελέσει μία αποτελεσματική θεραπεία για την αντιμετώπιση της υπέρτασης, με τα αποτελέσματα των ερευνών να υποδεικνύουν ότι χορήγηση της μελατονίνης το βράδυ οδηγεί σε μια σημαντική μείωση της διαστολικής και της συστολικής πίεσης (Paulis L *et al.*, 2007).

A.1.5.10 Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

Η χορήγηση της μελατονίνης φαίνεται ότι έχει θετική επίδραση στους μηχανισμούς παθογένεσης του σακχαρώδους διαβήτη, τόσο μέσω του αντιοξειδωτικού της ρόλου, όσο και μέσω της δράσης της στον μεταβολισμό της γλυκόζης. Η ινσουλίνη, όπως και η μελατονίνη, εμφανίζει κερκαδιανό ρυθμό έκκρισης στους ανθρώπους, που μεταβάλλεται, όμως, με αντίστροφο τρόπο σε σχέση με αυτόν της μελατονίνης. Η ινσουλίνη εμφανίζει μέγιστα επίπεδα στο πλάσμα όταν η συγκέντρωση της μελατονίνης είναι ελάχιστη και το αντίστροφο. Τα μειωμένα επίπεδα της μελατονίνης στο πλάσμα έχουν συσχετισθεί με αρκετές διαταραχές και κυρίως με το διαβήτη, γεγονός που υποδηλώνει πως το ερέθισμα της ορμόνης είναι απαραίτητο για την ομοίωση της γλυκόζης (Μαγγανά ΙΑ , Γαλλή-Τσινοπούλου Α, 2010). Σύμφωνα με μελέτες, έχει παρατηρηθεί πως ο κερκαδιανός ρυθμός της έκκρισης της μελατονίνης, αμβλύνεται στους ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 και ότι υπάρχει μια σύνθετη σχέση ανάμεσα στο αυτόνομο νευρικό σύστημα και τη νυχτερινή έκκριση της ορμόνης. Οι άνθρωποι με μεγάλο κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη τύπου 2, παρουσιάζουν μία αυξημένη έκφραση του υποδοχέα MTNR1B της μελατονίνης στα νησίδια του παγκρέατος, υποδεικνύοντας ότι τα άτομα αυτά μπορεί να είναι πιο ευαίσθητα στις δράσεις της μελατονίνης. Επίσης, η συγχορήγηση της μελατονίνης μαζί με την κατάλληλη θεραπευτική αγωγή, βρέθηκε να βελτιώνει σημαντικά τον έλεγχο της μεταγευματικής γλυκόζης σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 (Hussain SA *et al.*, 2006).

A.2 PER OS ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

Η *per os* ή αλλιώς από του στόματος χορήγηση, αποτελεί εδώ και δεκαετίες την πιο συνηθισμένη οδό για τη συστηματική χορήγηση φαρμάκων. Το γεγονός αυτό οφείλεται εν μέρει στη μεγάλη ευελιξία που προσφέρει το γαστρεντερικό σύστημα για το σχεδιασμό νέων δοσολογικών μορφών σε σχέση με τις άλλες οδούς χορήγησης (Dixit N *et al.*, 2013; Nokhodchi A *et al.*, 2012). Η χορήγηση φαρμάκων από το στόμα αποσκοπεί στην εμφάνιση συστηματικού φαρμακολογικού αποτελέσματος, το οποίο επιτυγχάνεται μέσω της μετακίνησης του φαρμάκου από την κυκλοφορία του αίματος σε όλο τον οργανισμό. Οι *per os* χορηγούμενες φαρμακοτεχνικές μορφές μπορεί να είναι υγρές, όπως σιρόπια και εναιωρήματα και στερεές, όπως δισκία και καψάκια.

A.2.1 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της *per os* χορήγησης φαρμάκων

Πλεονεκτήματα

- Ευκολία χορήγησης
- Βελτίωση της συμμόρφωσης των ασθενών
- Διευκολύνεται η διάλυση των φαρμακευτικών ουσιών από τις πεπτικές εκκρίσεις.
- Οι διαφορετικές συνθήκες pH που επικρατούν κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα, επιτρέπουν την απορρόφηση φαρμάκων με διαφορετικές ιδιότητες.
- Ο ρυθμός αποδέσμευσης του φαρμάκου μπορεί να μεταβληθεί ανάλογα με τη φαρμακοτεχνική μορφή.
- Η αργή απορρόφηση των φαρμάκων από το πεπτικό σύστημα επιτρέπει την έγκαιρη διακοπή της χορήγησης σε περίπτωση λάθους.
- Χαμηλό κόστος παρασκευής και ανάπτυξης.

Μειονεκτήματα

- Ο μεταβολισμός $1^{η}$ δίοδου από το ήπαρ, το όξινο pH του στομάχου, η μειωμένη διάλυση του φαρμάκου στα γαστρεντερικά υγρά και η μειωμένη διαπερατότητα της δραστικής ουσίας από το εντερικό επιθήλιο, αποτελούν τα συνηθέστερα προβλήματα της από του στόματος χορήγησης ουσιών
- Η ύπαρξη ή όχι τροφής στο στομάχι επηρεάζει σημαντικά το pH του στομάχου, καθώς και τη σταθερότητα και το βαθμό ιονισμού του φαρμάκου.
- Μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα των *per os* χορηγούμενων φαρμάκων σε σχέση με τις

παρεντερικές οδούς χορήγησης.

- Σε περιπτώσεις που ο ασθενής δεν είναι συνεργάσιμος (π.χ. ασθενής σε κώμα), εμφανίζει προβλήματα κατάποσης (π.χ. ηλικιωμένοι, παιδιά), ή γαστρεντερικά προβλήματα (π.χ. εμετός), υπάρχει δυσκολία στην από του στόματος χορήγηση φαρμακευτικών ουσιών.

A.3 ΔΙΣΚΙΑ

A.3.1 Γενικά στοιχεία

Τα δισκία είναι στέρεες φαρμακοτεχνικές μορφές ποικίλου σχήματος, τα οποία παρασκευάζονται με τη συμπίεση κονιοδών μιγμάτων φαρμάκου και εκδόχων (Αυγουστάκης Κ, 2012). Αποτελεί μια από τις πιο σταθερές και κοινώς χορηγούμενες από του στόματος φαρμακοτεχνικές μορφές, καθώς παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα ως μορφή χορήγησης (Dixit N *et al.*, 2013).

Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των δισκίων

Πλεονεκτήματα

- Αυξημένη φυσική, χημική και μικροβιολογική σταθερότητα
- Εύχρηστη μορφή για τον ασθενή
- Δυνατότητα κάλυψης τυχόν δυσάρεστης γεύσης και οσμής του φαρμάκου.
- Μεγάλη ακρίβεια δόσης
- Ο ρυθμός αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας από το δισκίο μπορεί να προσαρμοστεί στις θεραπευτικές ανάγκες (δισκία ελεγχόμενης αποδέσμευσης).
- Εύκολη παραγωγή και ελάχιστες απαιτήσεις αποθήκευσης.
- Χαμηλό κόστος παραγωγής.

Μειονεκτήματα

- Ορισμένες ουσίες συμπίεζονται δύσκολα προς δισκία με ικανοποιητική μηχανική αντοχή.
- Ουσίες που χορηγούνται σε σχετικά μεγάλη δόση και χαρακτηρίζονται από μικρή διαβρεκτικότητα ή/και μικρή διαλυτότητα είναι δύσκολο να μορφοποιηθούν σε δισκία με καλή βιοδιαθεσιμότητα.

- Δισκία που περιέχουν ουσίες με πολύ δυσάρεστη γεύση ή οσμή, καθώς και φάρμακα ευαίσθητα στην υγρασία και το φως, χρειάζονται επικάλυψη η οποία αυξάνει το κόστος παραγωγής.
- Δυσκολία κατάποσης από πολλούς ασθενείς, όπως κατεσταλμένοι ασθενείς και παιδιά. (Αυγουστάκης Κ, 2012; Sahoo PK, 2007; Dixit N *et al.*, 2013).

A.3.2 Ιδιότητες δισκίων

Οι πιο σημαντικές ιδιότητες που πρέπει να έχουν τα δισκία προκειμένου να πληρούν τα χαρακτηριστικά ποιότητας είναι οι εξής:

- Να περιέχουν την προκαθορισμένη ποσότητα φαρμάκου
- Ομοιομορφία ως προς την εμφάνιση, τις διαστάσεις και το βάρος
- Επαρκή μηχανική αντοχή, ώστε να ανθίστανται στις καταπονήσεις κατά την παραγωγή, τη συσκευασία και τη μεταφορά.
- Να καταθρυμματίζονται γρήγορα στο στομάχι, ώστε να διευκολύνεται η γρήγορη διάλυση του φαρμάκου.
- Να έχουν τον προκαθορισμένο ρυθμό διάλυσης (αποδέσμευσης) του φαρμάκου (Αυγουστάκης Κ, 2012; Sahoo PK, 2007).

A.3.3 Παρασκευή δισκίων

Η παρασκευή των δισκίων προκύπτει από τη συμπίεση κονιωδών μιγμάτων δραστικής ουσίας και εκδόχων και μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο μεθόδους:

- με τη μέθοδο της κοκκοποίησης (υγρή ή ξηρή)
- με τη μέθοδο της απευθείας συμπίεσης

Στην παρούσα μελέτη η παρασκευή των δισκίων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της απευθείας συμπίεσης του μίγματος των κόνεων.

Η παρασκευή των δισκίων με απευθείας συμπίεση περιλαμβάνει την ανάμιξη του μίγματος των κόνεων και στη συνέχεια τη συμπίεση αυτού στη δισκιοποιητική μηχανή. Η μέθοδος της άμεσης συμπίεσης εμφανίζει σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις μεθόδους της ξηρής και της υγρής κοκκοποίησης. Συγκεκριμένα, η σταθερότητα και ο ρυθμός διάλυσης των δισκίων είναι ικανοποιητικά μεγαλύτερα, ενώ αποτελεί μια σύντομη και χαμηλού κόστους μέθοδο. Τα μειονεκτήματα της παρασκευής δισκίων με άμεση συμπίεση

είναι κυρίως τεχνολογικά, καθώς το μίγμα των κόνεων που θα συμπιεστεί πρέπει να έχει καλές ιδιότητες ροής και συμπίεσης. Για το λόγο αυτό, η απευθείας συμπίεση εφαρμόζεται συνήθως σε ουσίες με καλή υδατοδιαλυτότητα, ώστε να μπορούν να εισαχθούν στα δισκία ως μεγάλα τεμαχίδια και να διασφαλίζεται η καλή ικανότητα ροής, καθώς και σε ισχυρά φάρμακα που εισάγονται σε μικρά ποσοστά στα δισκία και συνεπώς οι ιδιότητες τους προς δισκιοποίηση μίγματος μπορούν εύκολα να ρυθμιστούν με τα έκδοχα (Αυγουστάκης Κ, 2012).

A.3.4 Έκδοχα δισκίων

Εκτός από τη δραστική ουσία, τα δισκία περιέχουν και ένα σύνολο βοηθητικών ουσιών, τα έκδοχα, τα οποία βοηθούν στην παρασκευή των δισκίων και προσδίδουν σε αυτά πολλές επιθυμητές ιδιότητες. Οι βασικές κατηγορίες εκδόχων που εμπεριέχονται στα δισκία είναι (Αυγουστάκης Κ, 2012):

✓ **Αραιωτικά**

Τα έκδοχα αυτά χρησιμοποιούνται προκειμένου να αυξήσουν την ποσότητα του προς δισκιοποίηση μίγματος, ώστε να διευκολύνεται η παρασκευή και η χρήση των δισκίων. Τα πιο συνηθισμένα είναι η μονοϋδρική λακτόζη, η μαννιτόλη, η σορβιτόλη και η μικροκρυσταλλική κυτταρίνη.

✓ **Συνδετικά**

Τα συνδετικά μέσα βοηθούν στη συγκράτηση των τεμαχιδίων σε κόκκους και στη μετέπειτα συγκράτηση των κόκκων σε δισκία. Σαν συνδετικά χρησιμοποιούνται τα παράγωγα κυτταρίνης (όπως οι HPMC, MEC και EC) και το PVP.

✓ **Μέσα καταθρυμματισμού ή Αποσαθρωτικά**

Τα μέσα καταθρυμματισμού διευκολύνουν τον καταθρυμματισμό του δισκίου σε τεμαχίδια μόλις το δισκίο έρθει σε επαφή με τα γαστρεντερικά υγρά, με αποτέλεσμα να επιταχύνεται η διάλυση και η απορρόφηση του φαρμάκου. Ως μέσα καταθρυμματισμού χρησιμοποιούνται το άμυλο και η μικροκρυσταλλική κυτταρίνη.

✓ **Βελτιωτικά ροής/ Αντικολλητικά/ Λιπαντικά**

Τα βελτιωτικά ροής είναι έκδοχα που βελτιώνουν τις ιδιότητες ροής των τεμαχιδίων/κόκκων που πρόκειται να συμπιεστούν προς δισκία. Η πιο συνηθισμένη ουσία

που χρησιμοποιείται σαν βελτιωτικό ροής είναι το κολλοειδές διοξείδιου του πυριτίου (Aerosil).

Τα αντικολλητικά έκδοχα αποτρέπουν την επικόλληση τεμαχιδίων/κόκκων πάνω στην επιφάνεια των εμβόλων και στα τοιχώματα της δισκιοποιητικής μηχανής και είναι ουσίες, όπως ο τάλκης.

Τα λιπαντικά έκδοχα ελαττώνουν τις τριβές μεταξύ των κινούμενων τεμαχιδίων/κόκκων καθώς και με τα τοιχώματα της μήτρας, βοηθώντας αφενός στην εξαγωγή του δισκίου (άθικτου) από τη μήτρα μετά τη συμπίεση και αφετέρου στη βελτίωση των ρεολογικών ιδιοτήτων των κόνεων, εξασφαλίζοντας έτσι την ομοιομορφία βάρους των δισκίων. Ως λιπαντικά χρησιμοποιούνται ευρέως το στεατικό μαγνήσιο, το στεατικό οξύ και οι πολυαιθυλενογλυκόλες.

✓ Χρωστικές και βελτιωτικά γεύσης και οσμής

Οι χρωστικές ουσίες δεν είναι απαραίτητες για την παρασκευή των δισκίων, χρησιμοποιούνται όμως αρκετά συχνά για να διευκολύνουν την ταυτοποίηση των δισκίων, αλλά και για λόγους αισθητικής.

Τα βελτιωτικά γεύσης και οσμής χρησιμοποιούνται κατά την παρασκευή των δισκίων όταν είναι επιθυμητή η κάλυψη της δυσάρεστης οσμής και γεύσης του φαρμάκου. Ως βελτιωτικά γεύσης χρησιμοποιούνται η μαννιτόλη και η σορβιτόλη.

✓ Πολυμερικές ουσίες

Τα πολυμερή χρησιμοποιούνται πολλές φορές στα δισκία λειτουργώντας ως φορείς φαρμάκων και εκδόχων για την παρασκευή συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Μια άλλη αρκετά συχνή χρήση τους είναι ως υλικά επικάλυψης.

A.3.5 Έλεγχοι ποιότητας δισκίων

Η ποιότητα των δισκίων εκτιμάται με διάφορους ελέγχους, από τα αποτελέσματα των οποίων διαπιστώνεται αν οι ιδιότητες των δισκίων βρίσκονται εντός προδιαγραφών. Οι έλεγχοι των δισκίων περιλαμβάνουν (Αυγουστάκης Κ, 2012):

- **Οπτικό έλεγχο** της γενικής εμφάνισης του δισκίου, όπως είναι οι διαστάσεις, το σχήμα, το μέγεθος, το χρώμα, η οσμή και η υφή.
- **Έλεγχο σκληρότητας και ευθρυπτότητας**, έτσι ώστε να διαπιστωθεί αν τα δισκία έχουν την επαρκή μηχανική αντοχή ώστε να ανθίστανται στις καταπονήσεις που υφίσταται

κατά την παραγωγή, τη συσκευασία, τη μεταφορά και την αποθήκευση μέχρι τη λήψη τους.

- **Δοκιμασία καταθρυμματισμού/αποσάρθρωσης**, κυρίως σε δισκία άμεσης αποδέσμευσης προκειμένου να προσδιοριστεί ο χρόνος που απαιτείται για τον καταθρυμματισμό των δισκίων σε τεμαχίδια μόλις έρθουν σε επαφή με τα γαστρεντερικά υγρά, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η άμεση απορρόφηση του φαρμάκου.
- **Δοκιμασία διάλυσης (dissolution)**, όπου προσδιορίζεται ο ρυθμός αποδέσμευσης του φαρμάκου, ο οποίος συνδέεται άμεσα με τη βιοδιαθεσιμότητα του.
- **Δοκιμασία ομοιομορφία μάζας/βάρους/περιεχομένου**, προκειμένου να διαπιστωθεί ότι τα δισκία είναι ομοιόμορφα και περιέχουν την προκαθορισμένη ποσότητα φαρμάκου, ιδιαίτερα σημαντικό για χαμηλής δόσης και ισχυρά φάρμακα.

A.3.6 Τύποι δισκίων

Τα δισκία διακρίνονται ανάλογα με τον τόπο και τον τρόπο χορήγησης σε διάφορες κατηγορίες (Αυγουστάκης Κ, 2012):

- Δισκία πολλαπλών στιβάδων
- Μασώμενα δισκία
- Παρειακά και υπογλώσσια δισκία
- Λειφόμενα δισκία
- Αναβράζοντα δισκία
- Εμφυτευόμενα δισκία
- Επικαλυμμένα δισκία

A.4 ΚΑΨΑΚΙΑ

A.4.1 Γενικά στοιχεία

Τα καψάκια (capsules) είναι στερεές φαρμακοτεχνικές μορφές κατάλληλες για *per os* χορήγηση, στις οποίες το φάρμακο μαζί με τα κατάλληλα έκδοχα έχουν εγκλεισθεί μέσα σε ένα περίβλημα (κέλυφος) (Αυγουστάκης Κ, 2012).

Το βασικό στοιχείο για την παρασκευή των καψακίων είναι η κατασκευή του

περιβλήματος, η οποία γίνεται με τη χρήση ενός κατάλληλου πολυμερούς. Το πολυμερές αυτό πρέπει να έχει τη δυνατότητα σχηματισμού ενός ομοιόμορφου και καλής ποιότητας υμενίου, με κατάλληλη μηχανική αντοχή, ενώ παράλληλα θα πρέπει να διαλύεται εύκολα στα βιολογικά υγρά προκειμένου να μπορέσει να πραγματοποιηθεί η αποδέσμευση του φαρμάκου. Εκτός από το πολυμερές, για την παρασκευή του περιβλήματος απαιτείται η χρήση ενός κατάλληλου διαλύτη για τη διάλυση του πολυμερούς, ενώ συχνά χρησιμοποιούνται και άλλα υλικά, όπως πλαστικοποιητές, αδιαφανοποιητές και χρωστικές ουσίες. Τα καψάκια ανάλογα με τη σκληρότητα του περιβλήματος διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

- **Σκληρά καψάκια (Hard capsules)**
- **Μαλακά καψάκια (Soft capsules)**

Στην παρούσα μελέτη θα χρησιμοποιηθούν σκληρά καψάκια ζελατίνης, όπου στο εσωτερικό τους θα βρίσκεται ενθυλακιωμένη η μελατονίνη μαζί με τα υπόλοιπα έκδοχα.

A.4.2 Σκληρά καψάκια

Τα σκληρά καψάκια (hard capsules) αποτελούν μια συχνά χρησιμοποιούμενη στερεά φαρμακοτεχνική μορφή. Ένα χαρακτηριστικό των σκληρών καψακίων είναι ότι αποτελούνται από δύο βασικά τμήματα:

- το *σώμα (body)*, το οποίο είναι ένα μακρύ και στενό τμήμα που εγκλείει στο εσωτερικό του το φάρμακο μαζί με τα κατάλληλα έκδοχα
- το *κάλυμμα (cap)*, το οποίο καλύπτει μέρος του σώματος όταν κλείνει το περίβλημα.

Η πλήρωση των σκληρών καψακίων με την εισαγωγή της κατάλληλης δραστικής ουσίας και εκδόχων περιλαμβάνει τα εξής βασικά στάδια:

- 1) Προσανατολισμό του περιβλήματος και απομάκρυνση του καλύμματος
- 2) Από το σώμα των καψακίων εισαγωγή καθορισμένης ποσότητας ουσίας και εκδόχων στο σώμα των καψακίων
- 3) Κλείσιμο του περιβλήματος με επανατοποθέτηση του καλύμματος στο σώμα των καψακίων.

A.4.3 Σύγκριση δισκίων και καψακίων

Τα δισκία και τα καψάκια αποτελούν ίσως τις πιο κοινά χρησιμοποιούμενες μορφές χορήγησης φαρμάκων. Παρόλο που και οι δύο είναι στερεές φαρμακοτεχνικές μορφές, παρουσιάζουν αρκετές διαφορές μεταξύ τους μερικές από τις οποίες αναφέρονται στη συνέχεια:

- Τα δισκία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μορφοποίηση αποκλειστικά και μόνο στερεών δραστικών συστατικών σε μορφή κόνεων, ενώ τα καψάκια μπορούν να πληρωθούν εξίσου αποτελεσματικά με στερεές ουσίες, μικρά δισκία, pellets, καθώς και με ημιστερεά ή υγρά υλικά.
- Με τα καψάκια μπορεί να επιτευχθεί αποτελεσματική κάλυψη τυχόν δυσάρεστης οσμής και γεύσης του φαρμάκου, μέσω του εγκλεισμού το φαρμάκου στο εσωτερικό του καψακίου. Αντίθετα για τον ίδιο σκοπό στα δισκία, απαιτείται τις περισσότερες φορές η προσθήκη κατάλληλων βελτιωτικών γεύσης.
- Με την ενκαψακίωση της δραστικής ουσίας στο εσωτερικό των καψακίων, το φάρμακο προστατεύεται αρκετά από το περιβάλλον και έτσι αυξάνεται σημαντικά η σταθερότητά του. Αυτό καθιστά κατάλληλα τα καψάκια για ουσίες ευαίσθητες στην υγρασία και την οξείδωση.
- Τα καψάκια είναι ακατάλληλα για υγροσκοπικά υλικά, καθώς με την απορρόφηση της υγρασίας μπορεί να μαλακώσει αρκετά το περίβλημα του καψακίου και έτσι να αλλοιωθεί το φάρμακο. Για τον ίδιο λόγο επίσης καλό είναι να αποφεύγεται η έκθεση των καψακίων σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες. Αντίθετα τα δισκία δεν παρουσιάζουν αυτούς τους περιορισμούς.
- Τα καψάκια σε αντίθεση με τα δισκία θεωρούνται κατάλληλα, για τη χορήγηση φαρμάκων σε μεγάλες δόσεις τα οποία παρουσιάζουν προβλήματα συμπίεσης και δεν μπορούν να μορφοποιηθούν αποτελεσματικά για την παρασκευή δισκίων.
- Τα καψάκια θεωρούνται πιο εύληπτες φαρμακοτεχνικές μορφές από τα δισκία, με αποτέλεσμα να βελτιώνεται κατά αυτόν τον τρόπο η συμμόρφωση των ασθενών.

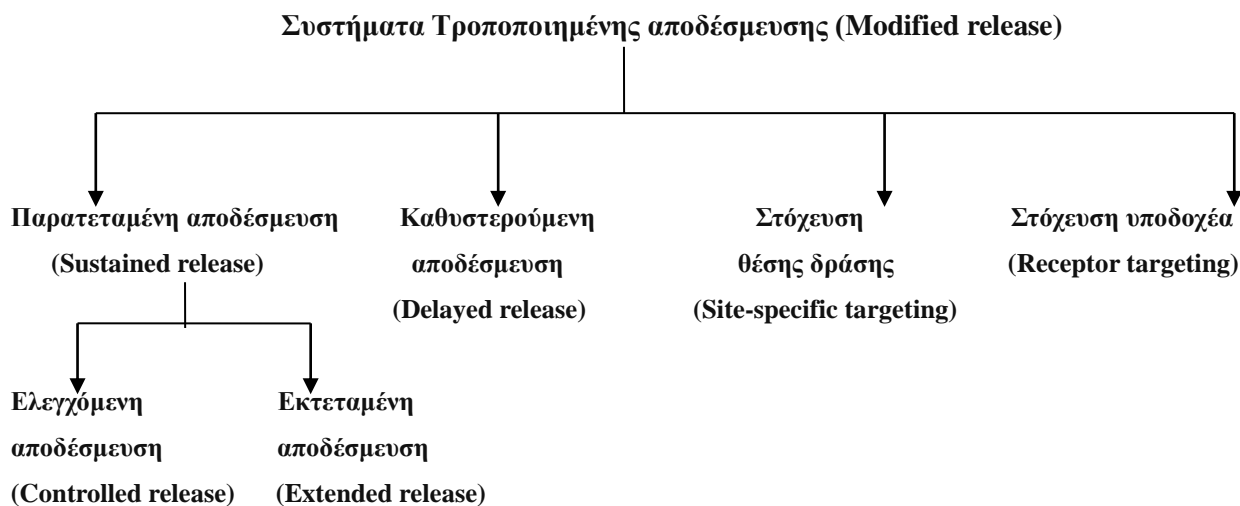
A.5 ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ

A.5.1 Γενικά στοιχεία

Η αποδέσμευση ενός φαρμάκου από μια στερεή φαρμακοτεχνική μορφή περιλαμβάνει όλες τις διαδικασίες που πραγματοποιούνται για τη μετάβαση του φαρμάκου από τη φαρμακοτεχνική μορφή στα γαστρεντερικά υγρά. Η αποδέσμευση του φαρμάκου είναι απαραίτητη για την απορρόφηση της δραστικής ουσίας από τον οργανισμό και κατ' επέκταση την έναρξη του φαρμακολογικού αποτελέσματος και εξαρτάται σημαντικά από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του φαρμάκου, καθώς και από το είδος της φαρμακευτικής μορφής.

Οι στερεές φαρμακοτεχνικές μορφές που χορηγούνται από το στόμα διακρίνονται σε **άμεσης (immediate release, IR)** και **τροποποιημένης αποδέσμευσης (modified release, MR)**, ανάλογα με το ρυθμό με τον οποίο αποδίδουν το φάρμακο στον οργανισμό. Τα συστήματα άμεσης αποδέσμευσης φαρμάκων, αποδεσμεύουν το φάρμακο στον οργανισμό αμέσως μετά τη χορήγηση τους, με αποτέλεσμα τη γρήγορη εμφάνιση του φαρμακολογικού αποτελέσματος. Στην περίπτωση των συστημάτων τροποποιημένης αποδέσμευσης, η δραστική ουσία αποδεσμεύεται με προκαθορισμένο τρόπο για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, είτε συστηματικά, είτε σε ένα συγκεκριμένο όργανο-στόχο. Σήμερα, ο όρος τροποποιημένη αποδέσμευση (modified release) έχει μερικώς αντικατασταθεί από το γενικότερο όρο της ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκων (controlled release, CR) (Μπαλαξή ΜΔ, 2009).

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, πολλές συμβατικές φαρμακοτεχνικές μορφές άμεσης αποδέσμευσης έχουν αντικατασταθεί σε μεγάλο βαθμό με τα νεότερα αυτά συστήματα χορήγησης φαρμάκων (Novel Drug Delivery System). Πλέον, υπάρχει μια αξιοσημείωτη αύξηση του ενδιαφέροντος για τα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, τα οποία χρησιμοποιούνται ευρύτατα στη σύγχρονη θεραπευτική (Parashar T *et al.*, 2013; Dixit N *et al.*, 2013; Αντιμησιάρη ΣΓ, 2012). Ο σχεδιασμός αυτών των συστημάτων επιδιώκει να επιτευχθεί καλύτερη επαναληψιμότητα και αναπαραγωγικότητα στον έλεγχο της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας, στοχευμένη εναπόθεση της ουσίας στη θέση δράσης και βελτιστοποίηση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας με τη βελτίωση της συμμόρφωσης του ασθενούς.



Σχήμα A.4: Κατηγοριοποίηση των συστημάτων τροποποιημένης αποδέσμευσης (Dixit N et al., 2013; Sampath Kumar KP et al., 2012; Perrie Y et al., 2012).

Με την *καθυστερούμενη αποδέσμευση ουσιών (delayed release systems, DR)*, επιθυμείται όχι τόσο η άμεση αποδέσμευση της ουσίας αμέσως μετά τη χορήγηση, αλλά η παραμονή της στη φαρμακοτεχνική μορφή για κάποιο χρονικό διάστημα πριν την αποδέσμευση. Οι φαρμακοτεχνικές μορφές καθυστερούμενης αποδέσμευσης παρουσιάζουν μια σημαντική ιδιομορφία. Παρόλο που με βάση τον ορισμό τους δεν παραπέμπουν σε συστήματα άμεσης αποδέσμευσης, μπορούν ωστόσο να αποδεσμεύσουν άμεσα την ουσία στον οργανισμό αμέσως μόλις φτάσουν στην περιοχή απορρόφησής της στο γαστρεντερικό σύστημα και έτσι από άποψη κινητικής να μπορούν να θεωρηθούν και ως φαρμακοτεχνικές μορφές άμεσης αποδέσμευσης. Τα συστήματα *στόχευσης θέσης δράσης (site-specific targeting systems)* και *στόχευσης υποδοχέα (receptor targeting systems)* αναφέρονται στη στόχευση της δραστικής ουσίας απευθείας σε μια συγκεκριμένη βιολογική θέση. Στην περίπτωση των συστημάτων θέσης δράσης, επιθυμείται η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας στην πάσχοντα ιστό ή όργανο, ενώ στην περίπτωση που επιθυμείται η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας σε έναν συγκεκριμένο υποδοχέα, τότε ο στόχος του συστήματος αποδέσμευσης είναι ο ίδιος ο υποδοχέας που βρίσκεται σε ένα όργανο ή ιστό (Dixit N et al., 2013; Sampath Kumar KP et al., 2012).

Με τον όρο *συστήματα παρατεταμένης αποδέσμευσης (sustained release systems, SR)*, χαρακτηρίζονται εκείνα τα συστήματα τα οποία παρέχουν μια βραδεία αποδέσμευση της δραστικής για παρατεταμένο χρονικό διάστημα σε σχέση με το χρόνο ημιζωής του φαρμάκου. Παράλληλα, τα συστήματα παρατεταμένης αποδέσμευσης επιτυγχάνουν σχεδόν υποδιπλασιασμό στη συχνότητα χορήγησης της φαρμακοτεχνικής μορφής, σε σχέση με την αντίστοιχη φαρμακοτεχνική μορφή άμεσης αποδέσμευσης. Τα συστήματα *εκτεταμένης*

αποδέσμευσης, επιτυγχάνεται μια αρκετά πιο αργή αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από το συνηθισμένο με προκαθορισμένο τρόπο.

Με τα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης (*controlled release systems, CR*), επιδιώκεται ο έλεγχος του ρυθμού αποδέσμευσης του φαρμάκου από το σύστημα, τόσο χρονικά όσο και χωροταξικά και επιπλέον η διατήρηση σταθερών επιπέδων του φαρμάκου στο αίμα ή στους ιστούς. Το σύστημα αυτό, αποδεσμεύει συγκεκριμένη ποσότητα δραστικής σε καθορισμένη χρονική περίοδο με μια σταθερή ταχύτητα αποδέσμευσης. Μέσω της σταδιακής αποδέσμευσης από τα ελεγχόμενα αυτά συστήματα, επιτυγχάνεται η παράταση του φαρμακολογικού αποτελέσματος, μετά τη χορήγηση μιας απλής μόνο δόσης, ανεξάρτητα από το βιολογικό περιβάλλον του σημείου εφαρμογής. Ο στόχος των συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης είναι η παρασκευή ενός ιδανικού συστήματος χορήγησης φαρμάκου, το οποίο θα μειώνει σημαντικά τη συχνότητα της δοσολογίας κατά τη διάρκεια της θεραπείας και το οποίο θα στοχεύσει τη δραστική απευθείας στη θέση δράσης, προκαλώντας λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες (Dixit N *et al.*, 2013; Sampath Kumar KP *et al.*, 2012; Αντιμησιάρη ΣΓ, 2012). Ο σχεδιασμός των από του στόματος συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης, υπόκειται σε διάφορους παράγοντες, όπως το είδος της ασθένειας, η διάρκεια της θεραπείας, οι ιδιότητες του φαρμάκου και το είδος του ασθενούς.

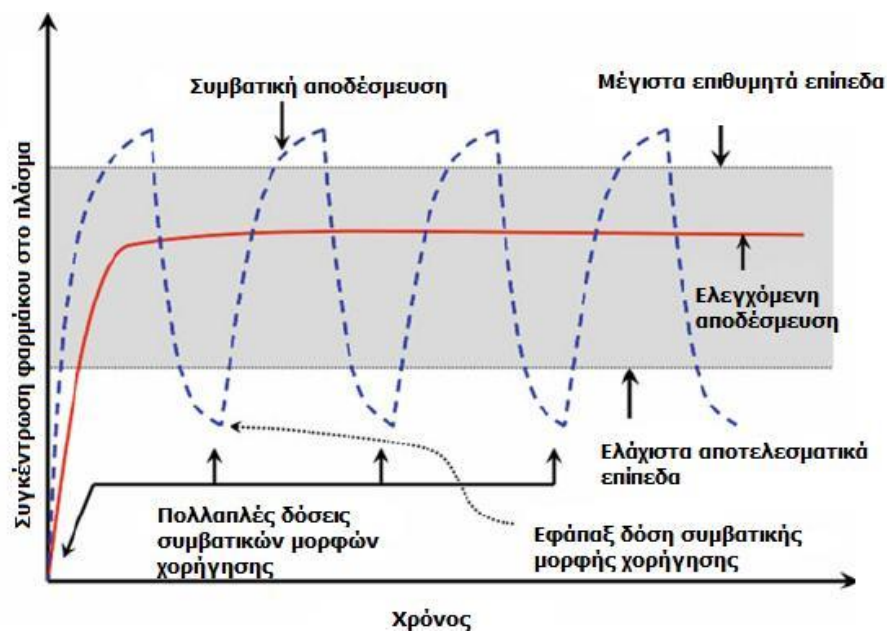
Τα σκευάσματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης μπορούν να χορηγηθούν από διάφορες οδούς χορήγησης, με την πλειονότητα των φαρμακευτικών μορφών ελεγχόμενης αποδέσμευσης να χορηγούνται από το στόμα. Άλλοι εξίσου σημαντικοί τρόποι χορήγησης είναι διαδερμικά, οφθαλμικά, παρεντερικά, διαμέσου της ρινικής κοιλότητας, ενδομητριάκα και ενδοκολπικά (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ, 2016).

A.5.2 Σύγκριση φαρμακοτεχνικών μορφών άμεσης και ελεγχόμενης αποδέσμευσης

Οι συμβατικές μορφές άμεσης αποδέσμευσης περιλαμβάνουν την περιοδική δοσολογία ενός θεραπευτικού παράγοντα και την άμεση αποδέσμευσή του αμέσως μετά τη λήψη του. Ωστόσο, ορισμένα φάρμακα είναι αρκετά ασταθή, τοξικά, έχουν στενό θεραπευτικό εύρος και απαιτούν αυστηρή συμμόρφωση και μακροχρόνια θεραπεία, οδηγώντας τις συμβατικές μορφές χορήγησης να μην είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικές. Παράλληλα η άμεση αποδέσμευση ενός φαρμάκου στον οργανισμό, οδηγεί στη γρήγορη εμφάνιση μέγιστων επιπέδων του φαρμάκου στο αίμα, με αποτέλεσμα τον κίνδυνο εμφάνισης τοξικών συμπτωμάτων. Σε αντίθεση με τις συμβατικές μορφές χορήγησης, στα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης υπάρχει σταδιακή και όχι απότομη εμφάνιση των επιπέδων του φαρμάκου στο αίμα, ενώ με την επέκταση του προφίλ της αποδέσμευσης μειώνεται κατά

πολύ η συχνότητα της δοσολογίας. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, να αυξάνεται η σταθερότητα, η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου και ταυτόχρονα να βελτιώνεται η συμμόρφωση του ασθενή.

Η χορήγηση της δραστικής με μια μορφή άμεσης αποδέσμευσης (εκτός από την ενδοφλέβια έγχυση, η οποία γίνεται με σταθερό ρυθμό), οδηγεί σε μια διακύμανση της συγκέντρωσης της δραστικής στο αίμα. Το μέγεθος αυτής της διακύμανσης εξαρτάται από την κινητική της δραστικής, όπως το ποσοστό απορρόφησης, κατανομής και αποβολής της δραστικής από τον οργανισμό, καθώς και τα χρονικά διαστήματα μεταξύ των δόσεων. Ένα καλά σχεδιασμένο σύστημα ελεγχόμενης χορήγησης, μειώνει σημαντικά τις αυξομειώσεις που παρατηρούνται στα επίπεδα του φαρμάκου στο αίμα, με αποτέλεσμα να οδηγεί την καμπύλη της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα σε σχέση με το χρόνο να γίνεται όλο και πιο επίπεδη, παρατείνοντας έτσι το θεραπευτικό αποτέλεσμα μετά από μια απλή χορήγηση του φαρμάκου. Αυτό οδήγησε πολλούς ερευνητές στην υπόθεση πως, όσο πιο επίπεδη είναι η καμπύλη της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα, τόσο πιο πολύ επιτυγχάνεται η παρατεταμένη δράση και η αύξηση του φαρμακολογικού αποτελέσματος με το ελεγχόμενο σύστημα χορήγησης. Σε κάποιες ωστόσο παθολογικές καταστάσεις, όπως στην περίπτωση της αϋπνίας, είναι επιθυμητή η μεταβαλλόμενη απελευθέρωση του φαρμάκου ανάλογα με τις ανάγκες του ασθενή και τους κερκαδιανούς ρυθμούς του σώματος που ελέγχουν φυσιολογικά την έκκριση της μελατονίνης (Perrie Y *et al.*, 2012).



Σχήμα A.5: Συγκριτική απεικόνιση της συγκέντρωσης του φαρμάκου στο αίμα μετά από τη χορήγηση συμβατικών και ελεγχόμενων συστημάτων αποδέσμευσης (Huyghē CT *et al.*, 2014).

Επιπλέον αξίζει να αναφερθεί πως στις συμβατικές μορφές χορήγησης, ο ρυθμός αποδέσμευσης του φαρμάκου εξαρτάται σημαντικά από τις ιδιότητες του φαρμάκου και τις συνθήκες που επικρατούν στην περιοχή αποδέσμευσης. Αντίθετα, στις φαρμακοτεχνικές μορφές τροποποιημένης αποδέσμευσης, η δραστική αποδίδεται στον οργανισμό με ρυθμό που εξαρτάται σημαντικά από τα χαρακτηριστικά της φαρμακοτεχνικής μορφής και πολύ λιγότερο από τις ιδιότητες της δραστικής και τις συνθήκες στην περιοχή αποδέσμευσης. Συγκεκριμένα, η ταχύτητα με την οποία εισέρχεται η δραστική στην κυκλοφορία του αίματος εξαρτάται από την ταχύτητα με την οποία αποδεσμεύεται από το σύστημα και όχι από την ταχύτητα απορρόφησης της δραστικής από τον περιβάλλοντα ιστό, όπως συμβαίνει στα συμβατικά σκευάσματα. Για το λόγο αυτό, για τον καλύτερο σχεδιασμό ενός συστήματος τροποποιημένης αποδέσμευσης, απαιτείται η λεπτομερής κατανόηση των φαρμακοκινητικών και φαρμακοδυναμικών ιδιοτήτων του φαρμάκου (Μπαλαζή ΜΔ, 2009, Dixit N *et al.*, 2013).

Σύμφωνα με τα παραπάνω, δημιουργήθηκε η ανάγκη για τον έλεγχο της αποδέσμευσης δραστικών από τις φαρμακοτεχνικές μορφές, με τους βασικότερους λόγους που οδήγησαν στην δημιουργία των συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης να είναι (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ, 2016):

- 1) Η παράταση της διάρκειας δράσης και η επίτευξη σταθερότερων επιπέδων της δραστικής στο αίμα μετά τη χορήγηση, ιδιαίτερα στην περίπτωση ουσιών με στενό θεραπευτικό εύρος και μικρό χρόνο ημιζωής.
- 2) Η αύξηση της απορρόφησης, όταν είναι επιθυμητή η επιλογή της θέσης αποδέσμευσης του φαρμάκου, ειδικά στις περιπτώσεις εμφάνισης αστάθειας ή εκλεκτικής πρόσληψης της δραστικής από το γαστρεντερικό επιθήλιο.
- 3) Η προγραμματισμένη χρονικά αποδέσμευση της δραστικής, ανάλογα με τον τύπο της παθολογικής κατάστασης. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση της αϋπνίας, επιθυμείται η σταδιακή αποδέσμευση της ουσίας αργά τη νύχτα, όπου εμφανίζονται και τα πρώτα συμπτώματα της διαταραχής.
- 4) Η καθυστέρηση της αποδέσμευσης της δραστικής, προκειμένου να αποφευχθεί η εκδήλωση κάποιας συγκεκριμένης δράσης μέσα στο γαστρεντερικό σωλήνα.
- 5) Η τοπική και εξειδικευμένη δράση της δραστικής σε κάποια συγκεκριμένη περιοχή του γαστρεντερικού σωλήνα.
- 6) Η ανακάλυψη νέων πολυμερικών υλικών, κατάλληλων για την παράταση της απελευθέρωσης των φαρμάκων από τις φαρμακοτεχνικές μορφές.

A.5.3 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης

Η συνεχής πρόοδος της τεχνολογίας στη μορφοποίηση των δραστικών ουσιών και εκδόχων, οδήγησε σε μια αλματώδη εξέλιξη στην ανάπτυξη των συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Τα συστήματα αυτά εμφανίζουν αρκετά πλεονεκτήματα, καθώς και ορισμένα μειονεκτήματα συγκριτικά με τις συμβατικές μορφές χορήγησης φαρμάκων, τα οποία και παρατίθενται στη συνέχεια (Patel H *et al.*, 2011; Kushal M *et al.*, 2013; Parashar T *et al.*, 2013; Dixit N *et al.*, 2013; Sampath Kumar KP *et al.*, 2012):

Πλεονεκτήματα

- Διατήρηση των θεραπευτικών επιπέδων της δραστικής ουσίας στο αίμα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, οδηγώντας σε παράταση του φαρμακολογικού αποτελέσματος.
- Μείωση της διακύμανσης της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας στο αίμα και ως εκ τούτου ομοιόμορφη φαρμακολογική απόκριση.
- Βελτίωση της συμμόρφωσης των ασθενών, με τη μείωση της συχνότητας χορήγησης της δραστικής ουσίας. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για τη μείωση των νυχτερινών λήψεων της δραστικής ουσίας, σε περιπτώσεις διαταραχών, όπως της αϋπνίας.
- Μείωση της εμφάνισης συστηματικών ή τοπικών παρενεργειών και της συσσώρευσης της δραστικής ουσίας στους ιστούς, με τη χρήση μικρότερων δόσεων, καθώς και με τη στοχευμένη δράση του φαρμάκου στον ιστό-στόχο.
- Σημαντική αύξηση της αποτελεσματικότητας της δραστικής ουσίας και βελτιωμένη απόδοση των ασθενών στη θεραπεία.
- Βελτίωση της βιοδιαθεσιμότητας ορισμένων δραστικών ουσιών μέσω του εγκλεισμού τους στα πολυμερικά συστήματα, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση φαρμάκων ευαίσθητων στις ενζυματικές αντιδράσεις.

Μειονεκτήματα

- Κίνδυνος να αποσαθρωθεί πρόωρα η φαρμακοτεχνική μορφή στο στομάχι και να υπάρξει μια αυξημένη αρχική αποδέσμευση του φαρμάκου στον οργανισμό (dose dumping). Αυτό μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση τοξικών συγκεντρώσεων του φαρμάκου στη συστηματική κυκλοφορία, κάτι που κρίνεται εξαιρετικά επικίνδυνο σε στενού θεραπευτικού εύρους δραστικές ουσίες.
- Μειωμένες *in vivo-in vitro* συσχετίσεις. Το σύστημα ελεγχόμενης αποδέσμευσης είναι δυνατόν να αποδεσμεύσει το φάρμακο σε περιοχές του γαστρεντερικού μακριά από τις

περιοχές απορρόφησης. Η ύπαρξη αυτή ενός “παραθύρου απορρόφησης” (absorption window), μπορεί να οδηγήσει σε μια μη ικανοποιητική απορρόφηση της δραστικής ουσίας *in vivo*, η οποία μπορεί να έρχεται σε αντίθεση με τα καλά χαρακτηριστικά της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας *in vitro*.

- Δύσκολη ανάκτηση της δραστικής ουσίας, σε περιπτώσεις εμφάνισης τοξικότητας ή δηλητηρίασης.
- Εμφάνιση μεγάλης διατομικής μεταβλητότητας στη χρονική περίοδο που απαιτείται για την απορρόφηση της δραστικής ουσίας, με αποτέλεσμα να υπάρχει πιθανότητα διακύμανσης στην κλινική ανταπόκριση των ασθενών.
- Υψηλό κόστος σε σχέση με τις συμβατικές φαρμακοτεχνικές μορφές.

A.5.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την ελεγχόμενη αποδέσμευση φαρμάκων

Η βιοφαρμακευτική αξιολόγηση μιας δραστικής ουσίας για την πιθανή χρήση του σε συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, σχετίζεται ιδιαίτερα με τα φυσικοχημικά και βιολογικά χαρακτηριστικά του φαρμάκου (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ , 2016; Parashar T *et al.*, 2013; Patel H *et al.*, 2011; Kushal M *et al.*, 2013; Sampath Kumar KP *et al.*, 2012).

A.5.4.1 Φυσικοχημικοί παράγοντες

→ Διαλυτότητα στο νερό

Η διαλυτότητα μιας δραστικής ουσίας στο νερό επιδρά σημαντικά στο ρυθμό διάλυσης και απορρόφησης της ουσίας. Οι δραστικές ουσίες με μικρή διαλυτότητα, παρουσιάζουν περιορισμένους ρυθμούς διάλυσης και απορρόφησης, για αυτό και η χορήγησή τους με ένα σύστημα ελεγχόμενης αποδέσμευσης κρίνεται περιττή. Αντίθετα, στις δραστικές ουσίες με υψηλή διαλυτότητα είναι δύσκολο να επιβραδυνθεί ο υψηλός ρυθμός αποδέσμευσης τους από το σύστημα, για αυτό και πολλές φορές χρειάζεται η μετατροπή της ουσίας σε μορφή εστέρα, ώστε το τελικό προϊόν να αποκτήσει την επιθυμητή διαλυτότητα.

→ pKa της δραστικής ουσίας

Οι περισσότερες δραστικές ουσίες είναι ασθενή οξέα ή βάσεις. Σύμφωνα με την υπόθεση pH μερισμού (pH partition hypothesis), οι περισσότερες δραστικές απορροφώνται καλύτερα στη μη ιονισμένη τους μορφή. Επομένως, η τιμή pKa μιας δραστικής ουσίας αποτελεί μια καλή ένδειξη για τον εντοπισμό του σημείου απορρόφησης της δραστικής ουσίας κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα.

→ Σταθερότητα της δραστικής ουσίας

Οι δραστικές ουσίες κατά τη δίοδο τους από το γαστρεντερικό σωλήνα, μπορεί να υποστούν χημική και ενζυματική αποικοδόμηση. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η χορήγηση της δραστικής ουσίας σε στερεά μορφή μπορεί να βελτιώσει τη σταθερότητά του, διότι ο ρυθμός αποικοδόμησης μιας στερεάς ουσίας είναι σημαντικά πιο αργός. Γενικά, επειδή τα περισσότερα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης αποδεσμεύουν τις δραστικές ουσίες σε όλο το μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα, φάρμακα τα οποία παρουσιάζουν προβλήματα σταθερότητας σε κάποια περιοχή του γαστρεντερικού σωλήνα, εμφανίζουν μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα και θεωρούνται ακατάλληλα για να χορηγηθούν σε μορφές ελεγχόμενης αποδέσμευσης.

→ Μέγεθος του μορίου και συντελεστής κατανομής

Δραστικές ουσίες μικρού μεγέθους και με κατάλληλο συντελεστή κατανομής ελαίου-ύδατος, διέρχονται καλύτερα μέσω των μεμβρανών και επομένως είναι κατάλληλες για να χρησιμοποιηθούν σε συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Δραστικές ουσίες με υψηλό συντελεστή κατανομής, δηλαδή λιπόφιλης φύσης ουσίες, είναι ελάχιστα υδατοδιαλυτές και συγκρατούνται περισσότερο στο λιπόφιλο ιστό. Αντίθετα, δραστικές ουσίες με χαμηλό συντελεστή κατανομής είναι πολύ δύσκολο να διεισδύσουν στις μεμβράνες με αποτέλεσμα να εμφανίζουν μικρή βιοδιαθεσιμότητα.

→ Συντελεστής διάχυσης

Ο συντελεστής διάχυσης μια ουσίας εξαρτάται από το μέγεθος και το σχήμα των κοιλοτήτων και των πόρων του πολυμερούς, καθώς και από το μέγεθος του μορίου της δραστικής ουσίας. Ουσίες με μικρό μοριακό βάρος, εμφανίζουν καλύτερη διάχυση τόσο στις συνήθη πολυμερικές μεμβράνες που χρησιμοποιούνται στα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, όσο και στις βιολογικές μεμβράνες του σώματος.

→ Δόση

Για τα όλα τα από του στόματος χορηγούμενα συστήματα, υπάρχει ένα ανώτατο όριο ως προς το μέγεθος της δόσης που πρόκειται να χορηγηθεί, η οποία συνήθως κυμαίνεται από 0,5-1 g δραστικής ουσίας. Αυτή η μέγιστη εφάπαξ δόση ισχύει τόσο για τα συμβατικά, όσο και για τα ελεγχόμενα συστήματα χορήγησης φαρμάκου.

A.5.4.2 Βιολογικοί παράγοντες

→ Ρυθμός απορρόφησης

Ο ρυθμός απορρόφησης μιας δραστικής ουσίας επηρεάζει σημαντικά την αποτελεσματικότητα ενός συστήματος ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Δεδομένου ότι τα συστήματα αυτά στοχεύουν στην βραδεία αποδέσμευση της δραστικής ουσίας στον οργανισμό, είναι απαραίτητο ο ρυθμός αποδέσμευσης της ουσίας από το σύστημα να είναι πιο αργός από το ρυθμό απορρόφησης της. Αν δεν συμβεί αυτό, η δραστική ουσία θα διέλθει από τις περιοχές απορρόφησης του γαστρεντερικού σωλήνα, προτού να έχει ολοκληρωθεί πλήρως η αποδέσμευση του από τη φαρμακοτεχνική μορφή.

→ Μεταβολισμός

Ο μεταβολισμός μιας δραστικής ουσίας μπορεί είτε να το αδρανοποιήσει, είτε να το μετατρέψει σε ένα δραστικό μεταβολίτη. Είναι ιδιαίτερα σημαντικό αυτή η φαρμακοκινητική ιδιότητα να ληφθεί υπόψη κατά το σχεδιασμό συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης, αρκεί ο ρυθμός και η έκταση του μεταβολισμού της δραστικής ουσίας να μπορούν να προβλεφθούν και ο ρυθμός μεταβολισμού της ουσίας να μην είναι πολύ μεγάλος. Ωστόσο, αν η δραστική αναστέλλει ή επάγει τη δράση ενζύμων που εμπλέκονται στο μεταβολισμό του ή υπάρχει διακύμανση των επιπέδων της δραστικής ουσίας στο αίμα λόγω εκτεταμένου μεταβολισμού πρώτης διόδου, είναι εξαιρετικά δύσκολο να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης.

→ Χρόνος ημιζωής

Ο χρόνος ημιζωής μιας δραστικής ουσίας, είναι ένας δείκτης του χρόνου παραμονής της ουσίας στον οργανισμό και σε ένα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 2-8 ωρών. Δραστικές ουσίες με χρόνο ημιζωής μικρότερο των 2 ωρών, δεν χρησιμοποιούνται σε τέτοιου είδους συστήματα, διότι θα απαιτηθούν αρκετά μεγάλες δόσεις φαρμάκου για να μπορέσει να επιτευχθεί βραδεία αποδέσμευση από το σύστημα. Αντίθετα, σε δραστικές ουσίες με χρόνο ημιζωής πάνω από 8 ώρες, κρίνεται περιττή η χορήγηση τους με ένα σύστημα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, καθώς μπορούν να χορηγηθούν εξίσου αποτελεσματικά και με μια συμβατική μορφή χορήγησης.

→ Θεραπευτικό εύρος και δόση

Δραστικές ουσίες με στενό θεραπευτικό εύρος, αποφεύγονται σε συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, καθώς αν το σύστημα αποσαθρωθεί πρόωρα στο εσωτερικό του

οργανισμού (dose dumping), υπάρχει ο κίνδυνος εμφάνισης εξαιρετικά υψηλής τοξικότητας. Για το λόγο αυτό, σε συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης προτιμώνται δραστικές ουσίες σε μικρή δόση και με υψηλό θεραπευτικό δείκτη.

A.5.5 Κατηγορίες συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης

Η δυνατότητα παρασκευής ενός συστήματος το οποίο να αποδεσμεύει ελεγχόμενα τη δραστική ουσία στον οργανισμό, είναι δύσκολο να επιτευχθεί με τα συνήθη συμβατικά έκδοχα και βασίζεται στη χρήση συγκεκριμένων πολυμερών σαν βασικά έκδοχα με χαρακτηριστικές φυσικοχημικές ιδιότητες. Υπάρχουν διάφοροι τύποι συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης, οι οποίοι κατηγοριοποιούνται ανάλογα με το μηχανισμό με τον οποίο λαμβάνει χώρα η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας, σε συστήματα ελεγχόμενα από:

- τη *διάχυση* διαμέσου του πολυμερούς (Diffusion- Controlled Devices)
- τη *διάλυση*, με τη διείδυση του διαλύτη εντός του συστήματος (Solvent- Controlled Devices)
- τη *χημική αντίδραση* (Chemically- Controlled Devices).

Αξίζει να σημειωθεί, πως σε πολλά συστήματα ενεργοποιούνται ταυτόχρονα δύο ή περισσότεροι από τους παραπάνω μηχανισμούς, ενώ οι πιο συνηθισμένοι μηχανισμοί που χρησιμοποιούνται προκειμένου να επιτευχθεί μια βραδεία αποδέσμευση της δραστικής ουσίας στο γαστρεντερικό περιβάλλον, είναι αυτοί της διάλυσης και της διάχυσης (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ, 2016). Το επιθυμητό είναι ο μηχανισμός της ελεγχόμενης αποδέσμευσης, να αποδεσμεύει τη δραστική ουσία στον οργανισμό μέσω μιας διαδικασίας που θα ακολουθεί κινητική μηδενικής τάξης (zero-order) και η οποία θα επιτυγχάνει επίπεδα της δραστικής ουσίας στο αίμα παρόμοια με αυτά που δημιουργούνται μετά από μια ενδοφλέβια έγχυση σταθερού ρυθμού.

A.5.5.1 Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διάχυση διαμέσου του πολυμερούς (Diffusion- Controlled Devices)

Σε αυτόν τον τύπο συστημάτων, η διάχυση της διαλυμένης δραστικής ουσίας διαμέσου του πολυμερικού φραγμού αποτελεί το καθοριστικό στάδιο για την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας στον οργανισμό.

Η διάχυση είναι μια φυσική διεργασία μεταφοράς των μορίων μιας ουσίας, διαμέσου μιας διαχωριστικής επιφάνειας. Η διεύθυνση της μεταφοράς εξαρτάται από τη συγκέντρωση

της ουσίας στις δύο πλευρές της διαχωριστικής επιφάνειας, με τη διάχυση να πραγματοποιείται από μια περιοχή υψηλής σε μια περιοχή χαμηλής συγκέντρωσης. Κατά αυτόν τον τρόπο, στα συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διάχυση, λαμβάνει χώρα η μετακίνηση της δραστικής ουσίας από την περιοχή υψηλής συγκέντρωσης της ουσίας στο δισκίο, στην περιοχή χαμηλότερης συγκέντρωσης που είναι τα γαστρεντερικά υγρά. Η διάχυση μιας ουσίας διαμέσου μιας μεμβράνης μπορεί να γίνει είτε με απλή διέλευση των μορίων, είτε με μετακίνηση της ουσίας διαμέσου των πόρων και των διάυλων που βρίσκονται στη μεμβράνη.

Προκειμένου να μπορέσει να πραγματοποιηθεί η διάχυση στα συστήματα αυτά, θα πρέπει η δραστική ουσία να παρουσιάζει κάποια διαλυτότητα ή αλλιώς αυξημένο συντελεστή κατανομής στη συνεχή φάση. Έτσι, όταν η συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στο φορέα είναι κατά πολύ μικρότερη σε σχέση με τη διαλυτότητα της ουσίας στο περιβάλλον υγρό, δηλαδή σε συνθήκες άπειρης αραίωσης (sink conditions), η ουσία εγκαταλείπει πλήρως το φορέα και η κινητική της διάχυσης εξαρτάται από την αλληλεπίδραση μεταξύ της ουσίας και του φορέα.

Οι δύο βασικοί τύποι συστημάτων στα οποία η αποδέσμευση των εγκλεισμένων ουσιών καθορίζεται από μηχανισμούς διάχυσης είναι (Βλάχου- Κωνσταντινίδου ΜΔ, 2016):

A)Συστήματα τύπου δεξαμενής (Reservoir Devices)

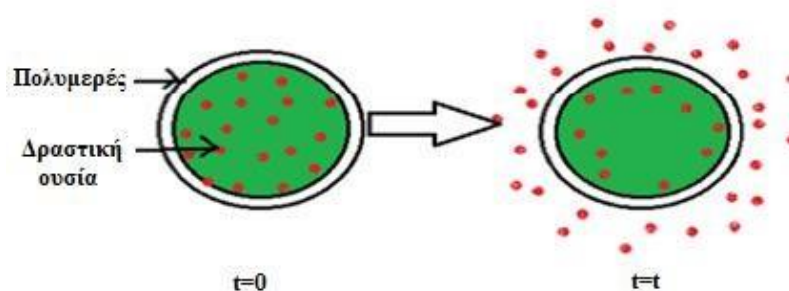
B)Συστήματα τύπου μήτρας (Monolithic Devices)

A)Συστήματα τύπου Δεξαμενής (Reservoir Devices)

Τα συστήματα δεξαμενής αποτελούνται από μια λεπτή πολυμερική μεμβράνη, η οποία είναι αδιάλυτη στο νερό και διαχωρίζει τον πυρήνα του συστήματος, ο οποίος περιέχει τη δραστική ουσία, από το βιολογικό περιβάλλον. Η επιλογή της σύστασης της πολυμερικής μεμβράνης, όπως το πάχος, η σκληρότητα και η περιεκτικότητα του πολυμερούς, βασίζεται στις φυσικοχημικές ιδιότητες της δραστικής ουσίας και ιδιαίτερα στην ικανότητα του να διαχέεται μέσω της μεμβράνης με ορισμένη ταχύτητα.

Ο μηχανισμός που ελέγχει την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από το σύστημα είναι η διάχυση μέσα από τη πολυμερική μεμβράνη. Πιο συγκεκριμένα, τα μόρια της δραστικής τα οποία είναι σε επαφή με την πολυμερική μεμβράνη, διαχέονται μέσω των κοιλοτήτων και των πόρων του πολυμερούς και στη συνέχεια ανταλλάσσονται με τα μόρια του περιβάλλοντος υγρού. Προκειμένου τα συστήματα δεξαμενής να επιτύχουν μηδενοταξική κινητική αποδέσμευσης, θα πρέπει να διατηρούνται σταθερά κατά την αποδέσμευση ο ρυθμός αποδέσμευσης, η επιφάνεια, η απόσταση διάχυσης και ο συντελεστής διάχυσης της

δραστικής ουσίας (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ, 2016; Kushal M *et al.*, 2013; Dixit N *et al.*, 2013).



Σχήμα Α.6: Σχηματική απεικόνιση της αποδέσμευσης μιας δραστικής ουσίας μέσω διάχυσης από ένα σύστημα τύπου δεξαμενής (Kushal M *et al.*, 2013).

Η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από ένα σύστημα δεξαμενής αποτελείται από τα εξής στάδια:

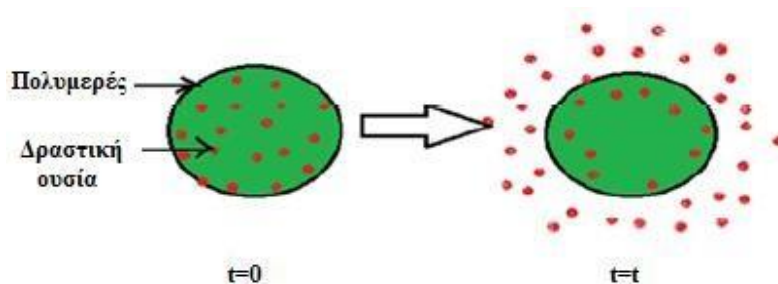
- Διείσδυση του υγρού μέσα από την πολυμερική μεμβράνη στον πυρήνα της δεξαμενής όπου βρίσκεται η δραστική ουσία
- Διαλυτοποίηση ή διάχυση της δραστικής ουσίας στο υλικό διασποράς της δεξαμενής
- Διάχυση της δραστικής ουσίας μεταξύ του μέσου διασποράς και της μεμβράνης
- Διάχυση εντός της πολυμερικής μεμβράνης
- Διάχυση μεταξύ της μεμβράνης και του περιβάλλοντος υγρού
- Απομάκρυνση της δραστικής ουσίας από την επιφάνεια του συστήματος προς το περιβάλλον υγρό (Εφεντάκης Μ, 2004).

Παρόλο που στα συστήματα αυτά η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας μπορεί να ρυθμιστεί ανάλογα με τον τύπο του πολυμερούς, είναι δύσκολο να μεταφερθούν μεγάλου μοριακού βάρους συστατικά, ενώ επίσης υπάρχει ο κίνδυνος εμφάνισης τοξικότητας σε περίπτωση που αποσαρθρωθεί το σύστημα μεταφοράς της δραστικής ουσίας στο εσωτερικό του οργανισμού (dose dumping) (Kushal M *et al.*, 2013).

Β)Συστήματα τύπου Μήτρας (Monolithic Devices)

Τα συστήματα τύπου μήτρας χρησιμοποιούνται αρκετά συχνά στις μορφές ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Στα συστήματα αυτά, η δραστική ουσία είναι υπό μορφή διαλύματος ή διασποράς και βρίσκεται αναμεμειγμένη μαζί με τα έκδοχα μέσα στην πολυμερική μήτρα (Βλάχου- Κωνσταντινίδου ΜΔ, 2016). Συγκεκριμένα στα συστήματα τύπου μήτρας, μία στερεά δραστική ουσία διασκορπίζεται σε μια αδιάλυτη μήτρα πολυμερούς και ο ρυθμός

αποδέσμευσης της ουσίας εξαρτάται κυρίως από το ρυθμό διάχυσης δια μέσου του πολυμερούς και όχι από το ρυθμό διαλυτοποίησης της δραστικής (Kushal M *et al.*, 2013).



Σχήμα Α.7: Σχηματική απεικόνιση της αποδέσμευσης μιας δραστικής ουσίας μέσω διάχυσης από ένα σύστημα τύπου μήτρας (Kushal M *et al.*, 2013).

Τα στάδια για την ελεγχόμενη αποδέσμευση μιας δραστικής ουσίας από τα συστήματα μήτρας είναι τα εξής:

- Διείσδυση του διαλύτη μέσα από τους πόρους της μήτρας, όπου έρχεται σε επαφή με τα μόρια της δραστικής ουσίας
- Διόγκωση του αρχικά ξηρού πολυμερούς και μετατροπή του σε μια ελαστική κατάσταση (rubbery), στην οποία υπάρχει αυξημένη διαπερατότητα
- Διάχυση της διαλυμένης δραστικής ουσίας στην επιφάνεια του συστήματος
- Διάχυση της ουσίας μεταξύ της επιφάνειας και του περιβάλλοντος υγρού
- Αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από το σύστημα προς το περιβάλλον υγρό (Εφεντάκης Μ, 2004).

Στα συστήματα τύπου μήτρας δεν επιτυγχάνεται συνήθως μηδενοταξική αποδέσμευση της δραστικής ουσίας, ενώ επίσης παρασκευάζονται πιο εύκολα, έχουν χαμηλότερο κόστος και μπορούν να μορφοποιήσουν μεγαλύτερου μοριακού βάρους συστατικά συγκριτικά με τα συστήματα τύπου δεξαμενής. Παράλληλα, αυξάνουν τη σταθερότητα της δραστικής ουσίας στο γαστρεντερικό σωλήνα, καθώς η πολυμερική μήτρα προστατεύει τη δραστική ουσία από φαινόμενα, όπως η υδρόλυση και η διάσπαση (Patel H *et al.*, 2011; Kushal M *et al.*, 2013; Dixit N *et al.*, 2013).

Τα βασικά μειονεκτήματα των συστημάτων μήτρας είναι ότι η πολυμερική μήτρα πρέπει να αφαιρεθεί από τον οργανισμό μετά την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας, ενώ επίσης η αποδέσμευση της ουσίας από το σύστημα μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες, όπως με την τροφή (Patel H *et al.*, 2011; Kushal M *et al.*, 2013).

Τύποι συστημάτων μήτρας

Τα συστήματα μήτρας διακρίνονται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τον τύπο του πολυμερικού υλικού, σε:

- I. Υδρόφιλα συστήματα μήτρας**
- II. Υδρόφοβα συστήματα μήτρας**

I. Υδρόφιλα συστήματα μήτρας

Τα συστήματα μήτρας που περιέχουν ένα υδρόφιλο πολυμερές συναντώνται αρκετά συχνά σε από του στόματος μορφές ελεγχόμενης αποδέσμευσης, κατά κύριο λόγο λόγω της ευελιξίας τους στην αποδέσμευση της δραστικής ουσίας, του χαμηλού τους κόστους, καθώς και της εύκολης έγκρισής τους από τις κανονιστικές αρχές (Patel H *et al.*, 2011).

Η επιβράδυνση της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας επιτυγχάνεται με τη δημιουργία ενός στρώματος γέλης, το οποίο περιβάλλει το σύστημα και το οποίο σχηματίζεται μετά από την επαφή του πολυμερούς με τα βιολογικά υγρά. Όταν το περιβάλλον υγρό είναι θερμοδυναμικά συμβατό με το πολυμερές, ο διαλύτης διεισδύει στους ελεύθερους χώρους μεταξύ των μακρομοριακών αλυσίδων του πολυμερούς, με αποτέλεσμα να αρχίζει να ενυδατώνεται και να διογκώνεται, οδηγώντας στο σχηματισμό του στρώματος γέλης. Παρόλο, που η δημιουργία του στρώματος γέλης βοηθά τη δραστική ουσία να διαχυθεί πιο γρήγορα έξω από τη μήτρα, θα χρειαστεί πιο πολύς χρόνος για τη διάχυση, καθώς το σχηματιζόμενο στρώμα της γέλης αυξάνει περισσότερο τη διαδρομή της διάχυσης.

Έχει αποδειχθεί πως, η δημιουργία του στρώματος γέλης και η διάχυση της δραστικής ουσίας δια μέσου αυτού, δεν αποτελούν τους μόνους παράγοντες που καθορίζουν την αποδέσμευση της ουσίας από το σύστημα. Συγκεκριμένα, στις υδατοδιαλυτές μήτρες πολυμερούς, η διαλυτότητα του πολυμερούς μπορεί να ρυθμίσει σημαντικά το ρυθμό μεταφοράς της δραστικής ουσίας στον οργανισμό. Λόγω του γεγονότος αυτού, οι υδρόφιλες μήτρες αποτελούν τα πιο κατάλληλα μέσα για την αποδέσμευση δυσδιάλυτων δραστικών ουσιών σε σχέση με τα συστήματα που η αποδέσμευση των ουσιών ελέγχεται αποκλειστικά και μόνο από τη διάχυση. Τα υδρόφιλα πολυμερή που χρησιμοποιούνται πιο συνηθισμένα στα συστήματα μήτρας είναι η υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη (HPMC), η υδροξυπροπυλοκυτταρίνη (HPC), το κόμμι ξανθινίου και το Carbopol (Kushal M *et al.*, 2013; Nokhodchi A *et al.*, 2012).

Οι υδρόφιλες μήτρες διαχωρίζονται επίσης ανάλογα με το αν παρουσιάζουν πόρους ή όχι μεταξύ των τεμαχιδίων του πολυμερούς, σε πορώδεις υδρόφιλες μήτρες και μη πορώδεις ή ομοιογενείς υδρόφιλες μήτρες, αντίστοιχα.

II. Υδρόφοβα συστήματα μήτρας

Τα υδρόφοβα συστήματα μήτρας, αποτελούν τα μόνα συστήματα στα οποία το πολυμερές ίσως δεν είναι απαραίτητο για την επίτευξη της ελεγχόμενης αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας, παρόλο που αρκετά συχνά χρησιμοποιούνται στα συστήματα αυτά αδιάλυτα πολυμερή. Οι υδρόφοβες μήτρες αποτελούν τις πλέον κατάλληλες μορφές για την ελεγχόμενη αποδέσμευση ευδιάλυτων δραστικών ουσιών. Αυτά τα μη υδατοδιαλυτά πολυμερή αποτελούνται συνήθως από κηρούς, γλυκερίδια, λιπαρά οξέα και πολυμερικά υλικά, όπως η αιθυλοκυτταρίνη και τα ακρυλικά πολυμερή. Πολλές φορές, προκειμένου να ρυθμιστεί η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τη μήτρα, είναι απαραίτητο να προστεθούν και κάποια υδατοδιαλυτά υλικά, όπως η μονοϋδρική λακτόζη. Κατά την αποδέσμευση της δραστικής, ο διαλύτης διεισδύει στο σύστημα, ενώ το αδιάλυτο στα γαστρεντερικά υγρά πολυμερές παραμένει αδρανές καθ' όλη τη διάρκεια της αποδέσμευσης, διατηρώντας έτσι σταθερές τις διαστάσεις της υδρόφοβης μήτρας (Kushal M *et al.*, 2013; Nokhodchi A *et al.*, 2012).

A.5.5.2 Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διείσδυση του διαλύτη στο σύστημα (Solvent- Controlled Devices)

Στα συστήματα αυτά η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας εξαρτάται από τη διείσδυση του διαλύτη και τη διάλυση της δραστικής μέσα στο σύστημα. Έτσι, ανάλογα με το μηχανισμό διείσδυσης τα συστήματα διακρίνονται σε:

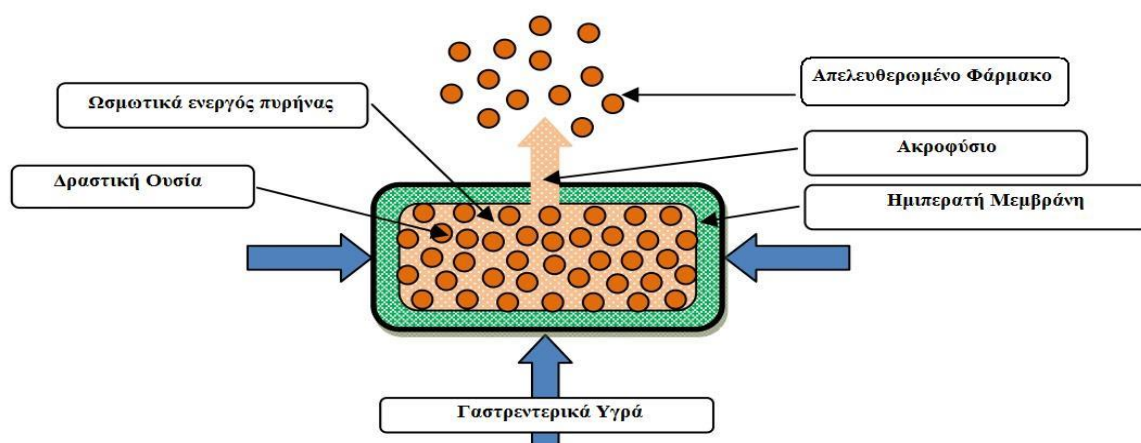
A) Ωσμωτικά συστήματα (Osmotically- Controlled Devices)

B) Διογκούμενα συστήματα (Swelling- Controlled Devices)

A) Ωσμωτικά συστήματα (Osmotically- Controlled Devices)

Σε αυτά τα συστήματα, η ελεγχόμενη αποδέσμευση της δραστικής ουσίας επιτυγχάνεται με την ανάπτυξη ωσμωτικής πίεσης μεταξύ του συστήματος και του εξωτερικού περιβάλλοντος. Προκειμένου να δημιουργηθεί μια σταθερή ωσμωτική πίεση, χρησιμοποιείται μια ωσμωτική αντλία, η οποία αποτελείται από ένα πυρήνα μιας συμπαγούς στερεάς υδατοδιαλυτής δραστικής ουσίας. Ο πυρήνας αυτός είναι εγκλεισμένος σε μια ημιπερατή μεμβράνη, η οποία είναι εκλεκτικά περατή στο νερό και αδιαπέραστη στη δραστική ουσία. Όταν το σύστημα τοποθετηθεί σε κάποιο υδατικό μέσο αποδέσμευσης, λόγω του φαινομένου της ώσμωσης το νερό διαχέεται ελεύθερα από την ημιπερατή μεμβράνη μέσα

στον πυρήνα δημιουργώντας ωσμωτική πίεση και έτσι το υδατικό διάλυμα της δραστικής ουσίας αντλείται προς το εξωτερικό περιβάλλον διαμέσου ενός ακροφυσίου. Το διάλυμα αυτό της δραστικής ουσίας είναι συνήθως κορεσμένο, αν και μπορεί να είναι και αραιότερο. Το φαινόμενο αυτό συνεχίζεται μέχρι οσώτου να δημιουργηθεί ίση συγκέντρωση διαλύματος στις δύο πλευρές της μεμβράνης. Τα ωσμωτικά συστήματα επιτυγχάνουν τη δημιουργία μηδενοταξικής κινητικής αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ, 2016).

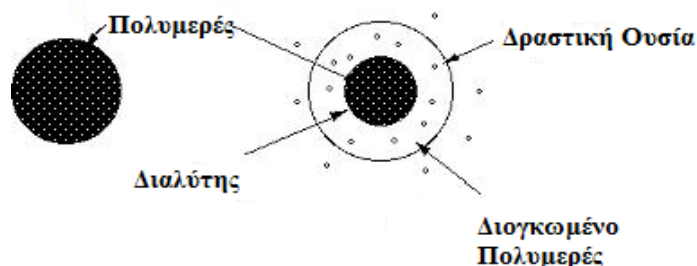


Σχήμα Α.8: Σχηματική απεικόνιση ενός συστήματος ελεγχόμενης αποδέσμευσης δραστικής ουσίας που ελέγχεται από την ώσμωση (Shokri J et al., 2013).

Β) Διογκούμενα συστήματα (Swelling- Controlled Devices)

Ένα διογκούμενο σύστημα παρασκευάζεται με τη διάλυση ή διασπορά της δραστικής ουσίας σε ένα πολυμερικό διάλυμα και στη συνέχεια την εξάτμιση του διαλύτη. Κατά αυτόν τον τρόπο, λαμβάνεται μια υαλώδης πολυμερική μήτρα με τη δραστική ουσία να είναι ομοιόμορφα κατανομημένο μέσα σε αυτή. Ένας άλλος τρόπος παρασκευής διογκούμενων συστημάτων είναι με απλή συμπίεση των σωματιδίων του πολυμερούς και της δραστικής ουσίας (Καραγιαννίδου ΕΓ, Σιδερίδου ΕΔ, 2010). Όταν ένα διογκούμενο σύστημα βρεθεί σε κάποιο μέσο αποδέσμευσης που είναι θερμοδυναμικά συμβατό με το πολυμερές, ο διαλύτης εισέρχεται μέσα στην πολυμερική μήτρα διαλύει τη δραστική ουσία, ενώ παράλληλα το πολυμερές αρχίζει να διογκώνεται αρκετά, δημιουργώντας ένα στρώμα γέλης. Στη συνέχεια η δραστική ουσία διαχέεται μέσα από τη διογκωμένη πολυμερική μήτρα και το στρώμα της γέλης προς το περιβάλλον. Η σημαντικότερη τάξη πολυμερών που είναι κατάλληλη για την παρασκευή αυτών των συστημάτων είναι τα υδρόφιλα πολυμερή ή υδρογέλες. Τα διογκούμενα συστήματα συναντώνται στη βιβλιογραφία με διάφορες ονομασίες, όπως υδρογέλες μήτρες (hydrogel matrices) ή διογκούμενα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης

(swelling- controlled systems).



Σχήμα Α.9: Σχηματική απεικόνιση ενός συστήματος ελεγχόμενης αποδέσμευσης που ελέγχεται από τη διόγκωση του πολυμερούς.

A.5.5.3 Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από χημική αντίδραση (Chemically-Controlled Devices)

Σε αυτά τα συστήματα, ο ρυθμός αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας ελέγχεται από την πραγματοποίηση μιας χημικής αντίδρασης, η οποία μπορεί να είναι υδρολυτική ή ενζυματική. Τα συστήματα αυτά διακρίνονται 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**

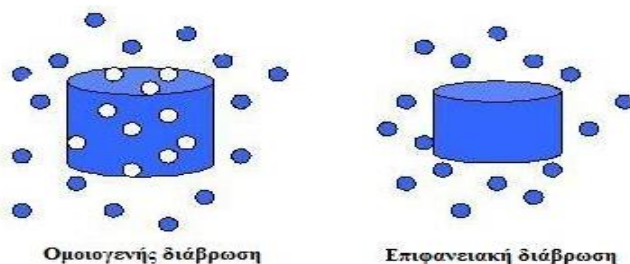
A) Συστήματα στα οποία η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ελέγχεται από τη διάβρωση του πολυμερούς

Σε αυτήν την κατηγορία συστημάτων, το πολυμερές δεν λειτουργεί μόνο σαν παθητικός φορέας της δραστικής ουσίας, αλλά αντίθετα συμμετέχει ενεργά στο μηχανισμό της αποδέσμευσης. Πιο συγκεκριμένα, η δραστική ουσία εγκλωβίζεται με φυσικές μεθόδους μέσα στο πολυμερές και αποδεσμεύεται μόνο μετά από τη διάρρηξη της πολυμερικής μήτρας με διάβρωση, διάλυση ή τήξη του πολυμερούς, καθώς και με την πραγματοποίηση μιας χημικής αντίδρασης. Αν ο ρυθμός διάρρηξης της μήτρας είναι σταθερός και η γεωμετρία της μήτρας είναι κανονική, τα συστήματα αυτά μπορούν να παράγουν σταθερούς ρυθμούς αποδέσμευσης που δεν μεταβάλλονται με το πέρασμα του χρόνου (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ, 2016).

Η διάβρωση του πολυμερούς μπορεί να πραγματοποιηθεί με πολλούς μηχανισμούς που σχετίζονται είτε με την επιφάνεια είτε με τον όγκο του πολυμερούς. Στην περίπτωση της

επιφανειακής ή ετερογενούς διάβρωσης (*surface erosion*), το πολυμερές αποικοδομείται σταδιακά από την επιφάνεια προς το εσωτερικό, με αποτέλεσμα ο όγκος του πολυμερούς να ελαττώνεται σημαντικά, ενώ η πυκνότητα του υλικού να παραμένει σταθερή. Έτσι η φαρμακοτεχνική μορφή γίνεται αρκετά μικρότερη, χωρίς όμως να χάνει το σχήμα της. Αντίθετα στην ομοιογενή διάβρωση (*bulk erosion*), το πολυμερές δεν διαβρώνεται μόνο επιφανειακά αλλά ομοιόμορφα, ενώ καθώς προχωρά η διάβρωση ο όγκος της πολυμερικής μήτρας παραμένει σταθερός, μέχρι ωστόσο επέλθει ένα κρίσιμο σημείο όπου το πολυμερές διαλύεται εντελώς.

Τα πολυμερή τα οποία ακολουθούν ομοιογενή διάβρωση γίνονται πορώδη και εύθραυστα με την πάροδο του χρόνου και εμφανίζουν ασθενέστερη μηχανική αντοχή. Για το λόγο αυτό, προτιμάται η επιφανειακή διάβρωση των πολυμερών, καθώς είναι περισσότερο προβλέψιμη, επιτυγχάνει μηδενοταξική κινητική αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας και ο ρυθμός αποδέσμευσης είναι ανεξάρτητος από τις χημικές και φυσικές ιδιότητες της δραστικής ουσίας (Holowka EP *et al.*, 2014).



Σχήμα Α.10: Σχηματική απεικόνιση της ομοιογενούς (*bulk erosion*) και της επιφανειακής (*surface erosion*) διάβρωσης.

Β) Συστήματα στα οποία η δραστική ουσία είναι χημικά συνδεδεμένη με το πολυμερές

Στα συστήματα αυτά η διάβρωση του πολυμερούς πραγματοποιείται με την υδρολυτική ή ενζυματική σχάση των ασταθών δεσμών. Ο τύπος του δεσμού που αναπτύσσεται μεταξύ του πολυμερούς και της δραστικής ουσίας εξαρτάται σημαντικά από το είδος της δραστικής ουσίας. Τα συστήματα αποδέσμευσης που ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία μπορούν να διαχωριστούν σε δύο περαιτέρω υποκατηγορίες:

- I. Συστήματα στα οποία δημιουργείται χημικός δεσμός μεταξύ της δραστικής ουσίας και του πολυμερούς**
- II. Συστήματα στα οποία 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 (Βλάχου- Κωνσταντινίδου ΜΔ, 2016).

A.5.6 Μαθηματικά μοντέλα για την κινητική της αποδέσμευσης μιας δραστικής ουσίας στα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης

Τα μαθηματικά μοντέλα παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόβλεψη της αποδέσμευσης μιας δραστικής ουσίας από ένα σύστημα αποδέσμευσης, ενώ παρέχουν τις κατευθυντήριες γραμμές για την ανάπτυξη του συστήματος. Η ανάπτυξη ενός μαθηματικού μοντέλου, συμμετέχει ενεργά στη βελτιστοποίηση του συστήματος και απαιτεί την κατανόηση όλων των φαινομένων που επηρεάζουν την κινητική της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας από το σύστημα (Shaikh HK *et al.*, 2015). Στην περίπτωση των συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης, η μελέτη της κινητικής της αποδέσμευσης καθίσταται εξαιρετικά δύσκολη λόγω της μεγάλης πολυπλοκότητας των συστημάτων, καθώς και της ύπαρξης ποικίλων μηχανισμών αποδέσμευσης. Για το λόγο αυτό, η διαδικασία της αποδέσμευσης στα συστήματα αυτά μελετάται περισσότερο με κάποιες εμπειρικές σχέσεις.

Στη συνέχεια παρατίθενται τα πιο συνηθισμένα μαθηματικά μοντέλα που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη της κινητικής της αποδέσμευσης δραστικών ουσιών από ένα σύστημα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, καθώς και οι εξισώσεις των μοντέλων αυτών που συσχετίζουν την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας σε σχέση με το χρόνο.

A.5.6.1 Μοντέλα Διάχυσης

Για την περιγραφή του μηχανισμού της διάχυσης χρησιμοποιούνται οι ακόλουθοι νόμοι:

I. Πρώτος νόμος διάχυσης του Fick

II. Δεύτερος νόμος διάχυσης του Fick

I. Πρώτος νόμος διάχυσης του Fick

Η ροή μιας δραστικής ουσίας διαμέσου μιας μεμβράνης δίνεται από τον πρώτο νόμο του Fick, με την προϋπόθεση ότι οι συνθήκες διατηρούνται σταθερές με το χρόνο. Σε ένα διάλυμα ουσίας, η διαλυμένη ουσία διαχέεται αυθόρμητα από μια περιοχή υψηλής συγκέντρωσης σε μια περιοχή χαμηλότερης συγκέντρωσης, δηλαδή η μετακίνηση της ουσίας λαμβάνει χώρα αντίθετα με τη μεταβολή της συγκέντρωσής της. Σύμφωνα με τον πρώτο νόμο του Fick, η ποσότητα της ύλης που μετακινείται είναι ανάλογη με τη διαφορά

συγκεντρώσεων της ουσίας και δίνεται από τη σχέση:

$$J = -D \left(\frac{dc}{dt} \right)$$

Όπου,

- J: η ποσότητα της ύλης που διέρχεται κάθετα από μια μονάδα εμβαδού επιφανείας ανά ώρα
- D: ο συντελεστής διάχυσης της ουσίας
- $\frac{dc}{dt}$: η βαθμίδωση της συγκέντρωσης

Το αρνητικό πρόσημο στην εξίσωση, υποδηλώνει ότι η ροή της μετακινούμενης ύλης είναι αντίθετη από τη διεύθυνση που αυξάνει η συγκέντρωσή της, δηλαδή η διάχυση γίνεται προς την περιοχή χαμηλότερης συγκέντρωσης (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ, 2016; Shaikh HK *et al.*, 2015).

II. Δεύτερος νόμος διάχυσης του Fick

Στις περιπτώσεις όπου η συγκέντρωση μεταβάλλεται τόσο με την απόσταση όσο και με το χρόνο, ισχύει ο δεύτερος νόμος του Fick. Πιο συγκεκριμένα, μελετώντας ένα σύστημα σταθερού όγκου, όπου υπάρχει μια ουσία με διαβαθμισμένη συγκέντρωση, η μεταβολή της συγκέντρωσης της ουσίας σε σχέση με το χρόνο είναι αποτέλεσμα της διαφοράς της εισερχόμενης από την εξερχόμενη ποσότητα της ουσίας και δίνεται από τη σχέση (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ, 2016; Shaikh HK *et al.*, 2015):

$$\frac{dc}{dt} = D \frac{d^2c}{dx^2}$$

A.5.6.2 Κινητικό μοντέλο μηδενικής τάξης (zero- order kinetic model)

Σε ένα μηδενικής τάξης σύστημα, ο ρυθμός αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας είναι ανεξάρτητος από τη συγκέντρωσή του και δίνεται από τη σχέση:

$$C = C_0 - Kt$$

Όπου,

- C: η ποσότητα της δραστικής ουσίας που αποδεσμεύεται ή διαλύεται σε χρόνο t, υποθέτοντας ότι η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας συμβαίνει αμέσως μετά τη διάλυση του
- C₀: η αρχική ποσότητα της δραστικής ουσίας στο σύστημα
- K: ο μηδενικής τάξης ρυθμός αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας

Η παραπάνω σχέση χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη διάλυση της δραστικής ουσίας μετά από την αποδέσμευσή του από διάφορους τύπους συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης, όπως δισκία τύπου μήτρας με χαμηλής διαλυτότητας δραστικές ουσίες, ωσμωτικά συστήματα, κ.α. (Shaikh HK *et al.*, 2015; Ramteke KH *et al.*, 2014).

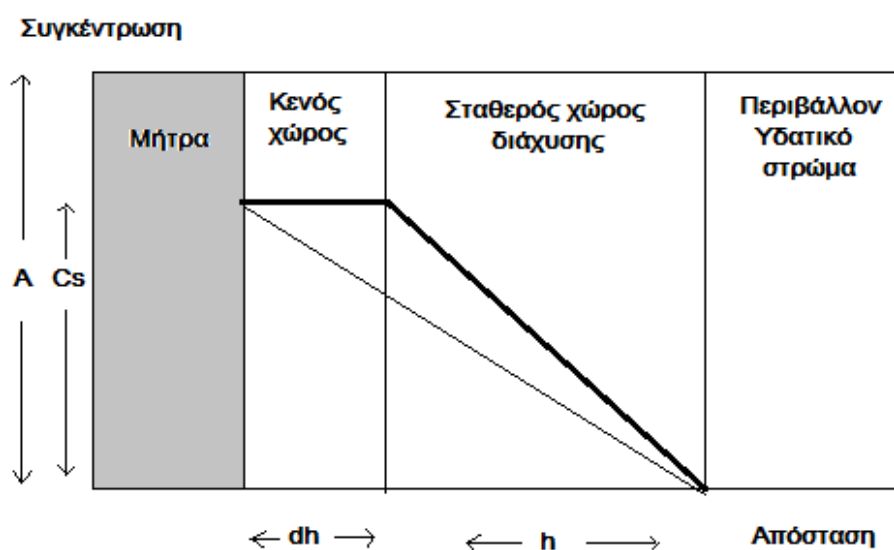
A.5.6.3 Μοντέλο Higuchi (Square Root Law)

Το 1961 ο Higuchi ανέπτυξε ένα θεωρητικό μοντέλο για τη μελέτη της αποδέσμευσης υδατοδιαλυτών και ελάχιστα διαλυτών δραστικών ουσιών από μια ποικιλία πλεγμάτων. Η εξίσωση Higuchi αποτελεί ίσως την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μαθηματική εξίσωση για την περιγραφή του ρυθμού αποδέσμευσης δραστικών ουσιών από τα πολυμερικά συστήματα μήτρας. Ο Higuchi αρχικά χρησιμοποίησε την εξίσωση αυτή για την μελέτη της αποδέσμευσης μιας περίσσειας δραστικής ουσίας από ένα λεπτό στρώμα αλοιφής μέσω του δέρματος, αργότερα όμως η εξίσωση τροποποιήθηκε ώστε να περιλαμβάνει τις γεωμετρικές διαφορές των συστημάτων μήτρας των στερεών φαρμακοτεχνικών μορφών, καθώς και δομές με πόρους μέσω των οποίων διεισδύει το υγρό στη μήτρα (Siermann J and Peppas NA, 2012). Αυτό το μοντέλο εφαρμόζεται συχνά σε συστήματα διαφορετικού πορώδους, όπως σε δισκία ομοιογενούς και ετερογενούς πολυμερικής μήτρας.

Το μοντέλο αυτό βασίζεται στις ακόλουθες υποθέσεις:

- Η αρχική συγκέντρωση της δραστικής ουσίας στη μήτρα είναι κατά πολύ μεγαλύτερη από τη διαλυτότητα της ουσίας
- Η διάχυση της δραστικής ουσίας πραγματοποιείται μόνο προς μία κατεύθυνση
- Τα σωματίδια της δραστικής ουσίας έχουν μικρό μέγεθος συγκριτικά με τη μέση απόσταση διάχυσης
- Η διόγκωση της μήτρας είναι αμελητέα
- Ο συντελεστής διάχυσης διατηρείται σταθερός
- Κατά την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας, στο περιβάλλον υγρό επικρατούν συνθήκες δεξαμενής (sink conditions)

- Δεν υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ δραστικής ουσίας και μήτρας
- Κατά την αποδέσμευση διατηρείται μια ψευδο-σταθερή κατάσταση.



Σχήμα A11: Διάχυση δραστικής ουσίας από δισκίο ομοιογενούς πολυμερικής μήτρας (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ 2016-2017).

Στο σχήμα A11 απεικονίζεται η μεταβολή της συγκέντρωσης μιας δραστικής ουσίας σε συνάρτηση με την απόσταση από το κέντρο ομοιογενούς πολυμερικής μήτρας για δύο χρονικές στιγμές. Κατά την αποδέσμευση μιας δραστικής ουσίας από ένα δισκίο με ομοιογενή πολυμερική μήτρα, η δραστική ουσία είναι ομοιογενώς κατανομημένη στην πολυμερική μήτρα. Αρχικά συμβαίνει διάλυση της δραστικής ουσίας μέσα στη μήτρα και στη συνέχεια αποδέσμευσή της με διάχυση από το δισκίο, και καθώς εξελίσσεται η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας, η επιφάνεια της αδιάλυτης ουσίας αποσύρεται προς το εσωτερικό και έτσι αυξάνει το πάχος του αδρανούς στρώματος διάχυσης. Όπως φαίνεται και στο σχήμα A11, η κατανομή της συγκέντρωσης αλλάζει με το χρόνο, επειδή μεταβάλλεται το πάχος του στρώματος διάχυσης από h σε $h + dh$ (Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ 2016-2017).

Η βασική εξίσωση του μοντέλου Higuchi δίνεται από τη σχέση:

$$\frac{M_t}{A} = \sqrt{D(2C_0 - C_s)} C_s t$$

Όπου,

- M_t : η ολική μάζα της δραστικής ουσίας που αποδεσμεύεται σε χρόνο t
- D : ο συντελεστής διάχυσης

- A: η ανά μονάδα όγκου ποσότητα (διαλυμένη και μη διαλυμένη) της δραστικής ουσίας στη μήτρα
- C₀: η αρχική συγκέντρωση της δραστικής ουσίας
- C_s: η διαλυτότητα της δραστικής ουσίας ή η συγκέντρωση κορεσμού της στη μήτρα
- t: ο χρόνος

Η παραπάνω εξίσωση ισχύει για C₀>C_s, δηλαδή σε περιπτώσεις μη κεκορεσμένου διαλύματος της δραστικής ουσίας στη μήτρα.

Τα συνηθέστερα λάθη τα οποία προκύπτουν από την εφαρμογή των διάφορων εξισώσεων, οι οποίες προέρχονται από το θεωρητικό μοντέλο Higuchi είναι:

1. Χρήση μιας εξίσωσης με σταθερό συντελεστή διάχυσης, όταν η φαρμακοτεχνική μορφή διογκώνεται ή συστέλλεται λόγω της σημαντικής διάλυσης του φορέα μορφοποίησης.
2. Χρήση μονοδιάστατων μαθηματικών εξισώσεων για τη μελέτη της αποδέσμευσης τρισδιάστατων φαρμακοτεχνικών μορφών, όπως είναι τα δισκία.
3. Ελλιπής εκτίμηση της σημασίας της πλευρικής διάχυσης, ειδικά στην περίπτωση των δισκίων και αντιμετώπιση του προβλήματος με τη θεώρηση μιας διάστασης.
4. Κατά τη διόγκωση ή διάλυση μιας δραστικής ουσίας θα πρέπει να χρησιμοποιείται μια σχέση που να θεωρεί σταθερές συνθήκες συνόρων.
5. Στις περισσότερες μαθηματικές εξισώσεις αγνοείται η ύπαρξη των άλλων εκδόχων πέραν της δραστικής ουσίας και έτσι το σύστημα μεταφοράς αντιμετωπίζεται σαν μια διεργασία διάχυσης μέσω ενός και μόνο συστατικού.

Στην περίπτωση της αποδέσμευσης μιας δραστικής ουσίας από ένα δισκίο με ετερογενή ή κοκκοποιημένη μήτρα, γίνεται αρχικά διείσδυση του περιβάλλοντος υγρού μέσα στη μήτρα, διάλυση της δραστικής ουσίας και απομάκρυνσή της μέσω των διαύλων του δισκίου. Η δεύτερη μορφή της εξίσωσης Higuchi περιλαμβάνει το πορώδες ε και το ελικοειδές τ του τριχοειδούς συστήματος και είναι η (Shaikh HK *et al.*, 2015; Ramteke KH *et al.*, 2014):

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

A.5.6.4 Μοντέλο Korsemeyer–Peppas (The Power law)

Το μοντέλο Korsemeyer–Peppas, ή αλλιώς “Νόμος της Δύναμης”, χρησιμοποιείται πολύ συχνά για να περιγράψει την αποδέσμευση μιας δραστικής ουσίας από διαφορετικού τύπου συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Το μοντέλο αυτό περιγράφει την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας μέσα από μια σειρά φαινομένων που περιλαμβάνουν:

- τη διάχυση του νερού μέσα στο δισκίο
- τη διόγκωση του δισκίου
- τη δημιουργία ενός στρώματος γέλης γύρω από την επιφάνεια του δισκίου
- τη διάχυση της δραστικής ουσίας προς το εξωτερικό περιβάλλον διαμέσου του στρώματος γέλης
- τη διάλυση της πολυμερικής μήτρας

Σε αυτήν την περίπτωση προτάθηκε για την περιγραφή της κινητικής της αποδέσμευσης η παρακάτω εξίσωση:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n$$

Όπου,

- $\frac{M_t}{M_\infty}$: το κλάσμα της δραστικής ουσίας που αποδεσμεύεται σε χρόνο t
- k: η κινητική σταθερά του ρυθμού αποδέσμευσης
- n: εκθέτης που καθορίζει το μηχανισμό της αποδέσμευσης και λαμβάνει τιμές από 0.5-1 για αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από μια μόνο επιφάνεια και εξαρτάται από τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της φαρμακοτεχνικής μορφής.

Πίνακας Α.1: Συσχέτιση των τιμών του εκθέτη n με το μηχανισμό αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας, ανάλογα με τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της φαρμακοτεχνικής μορφής (Buzzi V et al., 2013).

| 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 |
| 1 | 0.89 | 0.85 | Case II |
| n>1 | n>0.89 | n>0.85 | Super Case II αποδέσμευση |

Προκειμένου να ληφθούν ασφαλή συμπεράσματα για το μηχανισμό αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας, θα πρέπει να τηρούνται κάποιες παραδοχές που ελήφθησαν υπόψη για την εξαγωγή της παραπάνω εξίσωσης και οι οποίες είναι:

- Η γενική εξίσωση του μοντέλου ισχύει για μικρές τιμές χρόνου, ενώ το τμήμα της

καμπύλης αποδέσμευσης, όπου ισχύει $\frac{M_t}{M_\infty} < 0.6$ θα πρέπει να χρησιμοποιείται αποκλειστικά για τον προσδιορισμό του εκθέτη n και όχι για την κλάσμα της δραστικής ουσίας το οποίο αποδεσμεύτηκε.

- Η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας πραγματοποιείται προς μόνο μια κατεύθυνση.
- Η διόγκωση της μήτρας δεν πρέπει να υπερβαίνει το 30% του αρχικού όγκου της μήτρας.
- Θα πρέπει να εφαρμόζεται υδατοδιαλύτη δραστική ουσία σε συνθήκες δεξαμενής (sink conditions).
- Ο συντελεστής διάχυσης της δραστικής ουσίας θα πρέπει να είναι ανεξάρτητος της συγκέντρωσης (Shaikh HK *et al.*, 2015; Ramteke KH *et al.*, 2014).

A.6 ΕΚΔΟΧΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ

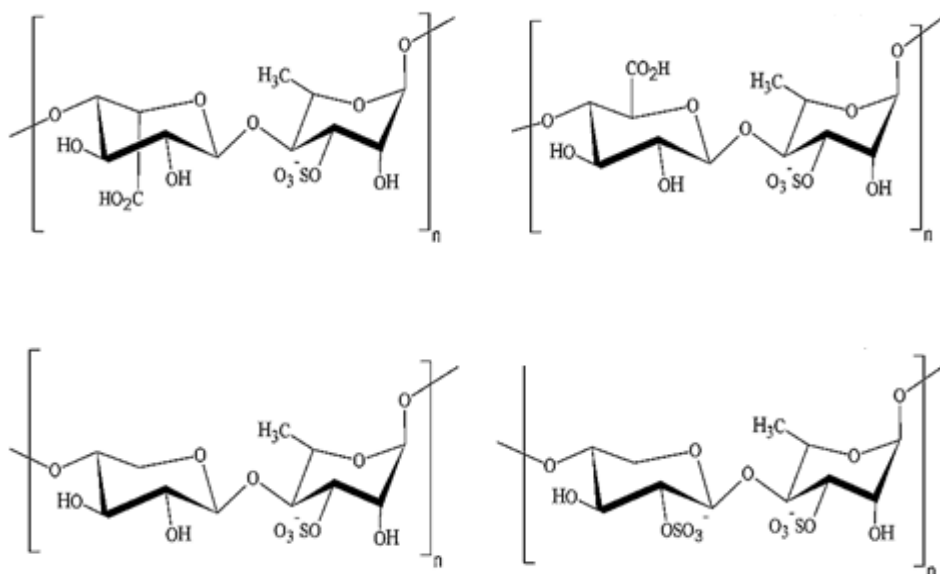
A.6.1 Ουλβάνες (Ulvals)

Με την αυξανόμενη ανάγκη για ανεύρεση νέων ανανεώσιμων πηγών πολυμερικών ουσιών, τα θαλάσσια χλωροφύκη των γενών *Ulva* και *Enteromorpha* κέντρισαν το ενδιαφέρον των ερευνητών ως πηγές πολυσακχαριτών με ιδιαίτερη δομή και λειτουργικές ιδιότητες (Majee SB *et al.*, 2017; Lahaye M *et al.*, 2007). Οι θαλάσσιοι πολυσακχαρίτες αποτελούν γενικά μια σημαντική τάξη φυσικών πολυμερών, με τους πιο σημαντικούς ως προς τις βιολογικές τους δράσεις να είναι οι θειικοί πολυσακχαρίτες (Morelli A *et al.*, 2010; Cardoso MJ *et al.*, 2016). Τα πολυμερή αυτά μελετώνται αρκετά τα τελευταία χρόνια, δεδομένης της δυνητικής χρησιμότητάς τους στο σχεδιασμό συστημάτων χορήγησης φαρμάκων.

Οι ουλβάνες είναι ανιονικοί θειικοί πολυσακχαρίτες, οι οποίοι απομονώνονται από τα κυτταρικά τοιχώματα των χλωροφυκών της τάξης Ulvals (Chlorophyta) (Toskas G *et al.*, 2011). Οι πολυσακχαρίτες αυτοί αποτελούνται από μια πολυμερική αλυσίδα από διαφορετικά σάκχαρα, οδηγώντας έτσι σε μια σημαντική μεταβλητότητα στη δομική διαμόρφωση του βιοπολυμερούς (Cunha L *et al.*, 2016). Παρά τη μεγάλη αυτή μεταβλητότητα έχουν αναγνωριστεί κάποια κύρια δομικά συστατικά τα οποία συναντώνται σε όλες τις δομές των ουλβανών και τα οποία περιλαμβάνουν τα σάκχαρα γλυκόζη, ραμνόζη, ξυλόζη, γλυκουρονικό και ιδουρονικό οξύ (Chiellini F *et al.*, 2011; Toskas G *et al.*, 2011). Η ύπαρξη μάλιστα κάποιων επαναλαμβανόμενων διμερικών αλληλουχιών στην πολυμερική αλυσίδα θεωρείται ότι είναι υπεύθυνη για τις ιδιότητες γέλης που εμφανίζουν οι ουλβάνες στη φυσική τους κατάσταση (Chiellini F *et al.*, 2011). Το χαρακτηριστικό που διακρίνει τη χημική δομή των

ουλβανών από εκείνη των άλλων πολυσακχαριτών θαλάσσιας προέλευσης είναι η παρουσία σπάνιων σακχάρων και συγκεκριμένα του ιδουρονικού οξέος και της θειϊκής ραμνόζης, τα οποία εμφανίζουν ομοιότητα με τις γλυκοζαμινογλυκάνες (GAGs) που υπάρχουν στα θηλαστικά (Alves A *et al.*, 2012; Chiellini F *et al.*, 2011; Majee SB *et al.*, 2017; Toskas G *et al.*, 2011). Η δομή του πολυμερούς φαίνεται να συμβάλλει αρκετά στην αξιοποίηση των θειϊκών αυτών πολυσακχαριτών σε συστήματα χορήγησης φαρμάκων. Συγκεκριμένα (Majee SB *et al.*, 2017; Cunha L *et al.*, 2016):

- Οι γλυκοζιτικοί δεσμοί διευκολύνουν την ενζυματική υδρόλυση και συνεπώς συμβάλλουν στη βιοαποικοδόμηση του πολυσακχαρίτη.
- Οι αρνητικά φορτισμένες θειϊκές ομάδες και οι υδροξυλομάδες καθιστούν εύκολη τη χημική τροποποίηση του βιοπολυμερούς, ενισχύοντας την ηλεκτρολυτική συμπεριφορά, ενώ επίσης επιτρέπουν την αλληλεπίδραση του πολυσακχαρίτη με τις αρνητικά φορτισμένες επιθηλιακές μεμβράνες του οργανισμού.



Σχήμα A.12: Δομή των επαναλαμβανόμενων δισακχαριτών που διακρίνονται στις ουλβάνες, αποτελούμενοι κυρίως από θειϊκή ραμνόζη, γλυκουρονικό και ιδουρονικό οξύ (Cunha L *et al.*, 2016).

Η εφαρμογή των ουλβανών στα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης στηρίζεται κυρίως στη χρήση του πολυσακχαρίτη σε μονολιθικά συστήματα τύπου μήτρας, σαν ένα φυσικό βιοπολυμερές κατάλληλο για το σχηματισμό ενός στρώματος υδρογέλης, το οποίο περιβάλλει τη φαρμακοτεχνική μορφή και επιτρέπει τη βραδεία και παρατεταμένη αποδέσμευση του φαρμάκου στον οργανισμό (Cunha L *et al.*, 2016). Με την προσθήκη μάλιστα και ειδικών λειτουργικών ομάδων στη δομή του πολυμερούς είναι δυνατόν να σχεδιαστούν υδρογέλες, οι οποίες ανταποκρίνονται στο φως και τη θερμοκρασία (Cardoso

MJ *et al.*, 2016).

Οι διαμορφώσεις που μπορεί να λάβει ο πολυσακχαρίτης διαφέρουν σημαντικά ως προς τη υδρογέλη την οποία σχηματίζουν. Οι υδρογέλες που σχηματίζονται μετά την επαφή των ουλβανών με τα βιολογικά υγρά, ιδιαίτερα εκείνες που περιέχουν φορτισμένες θεϊκές και υδροξυλικές ομάδες, εμφανίζουν φτωχές μηχανικές ιδιότητες, λόγω της εκτεταμένης απορρόφησης του νερού και της διόγκωσης που παρουσιάζουν, με αποτέλεσμα να οδηγούν στο σχηματισμό μεγάλων πόρων που αποδυναμώνουν εξαιρετικά τη δομή του πολυμερούς. Η χρήση συνεπώς του πολυσακχαρίτη στα συστήματα χορήγησης φαρμάκων είναι δυνατή μόνο μετά από κατάλληλες χημικές τροποποιήσεις, με στόχο την απόκτηση κατάλληλων μηχανικών ιδιοτήτων, αλλά και τη μείωση του έντονου υδρόφιλου χαρακτήρα του πολυμερούς, προκειμένου να αποικοδομηθεί πιο αργά από τον οργανισμό και να διατηρήσει μια ελεγχόμενη αποδέσμευση της δραστικής ουσίας. Η επιθυμητή αυτή ακεραιότητα των ουλβανών στα βιολογικά υγρά πραγματοποιείται μέσω της επαγωγής σχηματισμού μόνιμων ή προσωρινών δικτύων μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων, τα οποία έχουν χαρακτηριστικά υδρογέλης και ονομάζονται “ζώνες σύνδεσης”. Αυτές οι δομές αναστέλλουν τη διάλυσή του πολυμερούς στα βιολογικά υγρά, ενώ ταυτόχρονα διατηρούν τις αρχικές χημικές ιδιότητες του πολυσακχαρίτη, όπως είναι η μεγάλη χημική συγγένεια με το νερό, επιτρέποντας έτσι το σχηματισμό διογκωμένων αδιάλυτων πολυμερών φυσικής προέλευσης. Για το λόγο αυτό, η φύση και οι “ζώνες σύνδεσης” του πολυμερούς πρέπει να ρυθμίζονται κατάλληλα ανάλογα με το τελικό στόχο εφαρμογής (Chiellini F *et al.*, 2011).

Οι υδρογέλες που δημιουργούνται με βάση τις ουλβάνες διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, ανάλογα με τη σταθερότητα που προσφέρουν σε:

I. Φυσικές υδρογέλες

Ο σχηματισμός φυσικών (ή αλλιώς προσωρινών) υδρογελών με βάση τις ουλβάνες ενεργοποιείται όταν οι “ζώνες σύνδεσης” σταθεροποιούνται από ασθενείς ηλεκτροστατικές ή υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Οι βέλτιστες συνθήκες για την παρασκευή των φυσικών αυτών υδρογελών απαιτούν την παρουσία βορικού οξέος και ιόντων ασβεστίου στο διάλυμα σε ένα ελαφρώς αλκαλικό περιβάλλον (pH 7,5). Συγκεκριμένα, ο μηχανισμός σχηματισμού των φυσικών υδρογελών φαίνεται να στηρίζεται κυρίως στο σχηματισμό βορικών εστέρων μεταξύ των αλυσίδων του πολυμερούς, οι οποίοι σταθεροποιούνται από τα ιόντα ασβεστίου. Οι φυσικές υδρογέλες εμφανίζουν περιορισμένη εφαρμογή, κυρίως λόγω της μηχανικής τους αστάθειας, της ανεξέλεγκτης διάλυσής τους στα φυσιολογικά υγρά, καθώς και επειδή δεν σχηματίζουν ομοιογενείς δομές γέλης. Παράλληλα, οι υδρογέλες οι οποίες σχηματίζονται είναι αναστρέψιμες και μπορούν εύκολα να διαταραχθούν με αλλαγές στις φυσικές συνθήκες

του διαλύματος, όπως με τη θερμοκρασία, την ιονική ισχύ, το pH και τη συγκέντρωση των ιόντων (Cunha L *et al.*, 2016; Chiellini F *et al.*, 2011; Morelli A *et al.*, 2010).

II. Χημικές υδρογέλες

Οι υδρογέλες χαρακτηρίζονται ως χημικές (ή αλλιώς μόνιμες) όταν οι “ζώνες σύνδεσης” του πολυμερούς σταθεροποιούνται με ομοιοπολικούς δεσμούς, με αποτέλεσμα να παραμένουν ανεπηρέαστες από την ενζυματική δράση και την υδρόλυση και έτσι η σχηματιζόμενη υδρογέλη να παραμένει σταθερή για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Οι χημικά συνδεδεμένες υδρογέλες δημιουργήθηκαν προκειμένου να ξεπεραστούν τα προβλήματα της μηχανικής αστάθειας που παρουσιάζουν οι φυσικές υδρογέλες και έτσι να βελτιωθεί η σταθερότητα των υδρογελών στον οργανισμό. Η χημική σύνδεση αυτών των υδρογελών δημιουργείται με φωτοπολυμερισμό κάποιων ευαίσθητων στο φως ενώσεων, των φωτοεκκινητών, με τη χρήση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ελευθέρων ριζών, οι οποίες και προκαλούν τον πολυμερισμό. Παράλληλα, λόγω της αντικατάστασης των υδροξυλικών ομάδων που υπάρχουν στο μόριο του πολυσακχαρίτη από κάποιες υδρόφοβες ομάδες προκαλείται μειωμένη απορρόφηση μορίων ύδατος, με αποτέλεσμα τη σημαντική βελτιστοποίηση των μηχανικών ιδιοτήτων της υδρογέλης.

Όσον αφορά τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του πολυσακχαρίτη, οι ουλβάνες σχηματίζουν διαλύματα με χαμηλά ιξώδη, ενώ έχει αποδειχθεί ότι το πολυμερές διαλύεται κατά κύριο λόγο στο νερό και σχεδόν καθόλου στους οργανικούς διαλύτες, λόγω του φορτισμένου και εξαιρετικά υδρόφιλου χαρακτήρα του. Παρόλα αυτά συνήθως η διάλυση των ουλβανών στο νερό δεν είναι πλήρης, οδηγώντας έτσι στο σχηματισμό εναιωρημάτων. Εντούτοις, ο φορτισμένος αυτός πολυσακχαρίτης παρουσιάζει και μια ασυνήθιστη υδρόφοβη συμπεριφορά, ενδεχομένως λόγω της μεγάλης παρουσίας μεθυλίων στην επαναλαμβανόμενη ομάδα της ραμνόζης (Chiellini F *et al.*, 2011).

Γενικά η ουλβάνη στα συστήματα χορήγησης φαρμάκων αποτελεί ένα πολυλειτουργικό μόριο, καθώς πέρα από τη δράση του σαν πολυμερές, μπορεί να εμφανίσει και κάποιες άλλες παράλληλες λειτουργικές δράσεις σαν:

- Συνδετικό μέσο
- Υλικό επικάλυψης
- Σταθεροποιητής
- Αποσαρθρωτικό μέσο
- Διαλυτοποιητής
- Γαλακτωματοποιητής
- Παράγοντας απαιώρησης

- Χηλικός παράγοντας (Cunha L *et al.*, 2016; Toskas G *et al.*, 2011).

Η τελευταία αυτή σημαντική ιδιότητα των ουλβανών φαίνεται να σχετίζεται με την προέλευση του πολυσακχαρίτη από το κυτταρικό τοίχωμα των χλωροφυκών, που είναι πλούσιο σε λειτουργικές ομάδες οξυγόνου, όπως θειϊκές ομάδες και υδροξυλομάδες, οι οποίες λειτουργούν σαν πιθανές θέσεις δέσμησης βαρέων μετάλλων. Συγκεκριμένα, οι ουλβάνες επιδεικνύουν διαφορετική συγγένεια στα διάφορα ιόντα μετάλλων, όπως φαίνεται ακολούθως: Al>Cu>Pb>Zn>Cd=Mn>Sr>Mg=Ca (Alves A *et al.*, 2012).

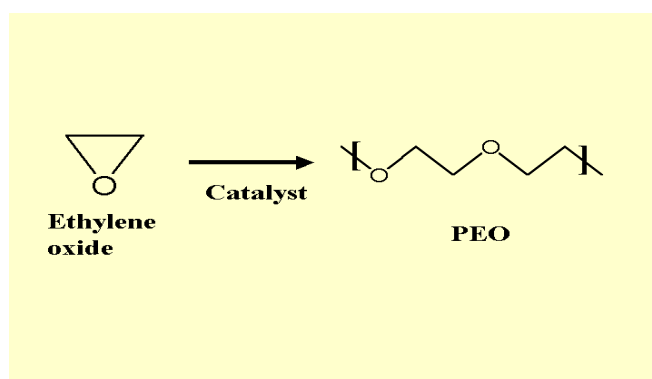
Σύμφωνα με αρκετές φαρμακολογικές μελέτες, η παρουσία θειϊκών ομάδων σε αυτούς τους πολυσακχαρίτες προσδίδει κάποιες εγγενείς βιολογικές ιδιότητες στο βιοπολυμερές, όπως αντιπηκτική, αντιοξειδωτική, αντινεοπλασματική, αντική, ανοσορρυθμιστική και αντιλιπιδαιμική (Cunha L *et al.*, 2016; Kikionis S *et al.*, 2015).

Το θαλάσσιο αυτό βιοϋλικό παρουσιάζει πολυάριθμα πλεονεκτήματα ως προς την ενσωμάτωση δραστικών συστατικών, καθώς και σε σχέση με τα συνθετικά παραγόμενα πολυμερή. Τα πιο βασικά πλεονεκτήματα του βιοπολυμερούς αυτού είναι:

- Βιοσυμβατότητα και βιοαποικοδομησιμότητα (Cardoso MJ *et al.*, 2016)
- Προέλευση του πολυμερούς από ανανεώσιμες πηγές στη φύση (Morelli A *et al.*, 2010; Chiellini F *et al.*, 2011)
- Σταθερότητα (Toskas G *et al.*, 2011).

A.6.2 Οξείδιο του πολυαιθυλενίου (Polyethylene Oxide, PEO)

Το οξείδιο του πολυαιθυλενίου (PEO), γνωστό και ως Polyox, είναι ένα μη ιονικό πολυμερές, το οποίο παρασκευάζεται με πολυμερισμό του αιθυλενόξειδίου παρουσία ενός κατάλληλου καταλύτη.



Σχήμα A.13: Σύνθεση του οξειδίου του πολυαιθυλενίου (PEO)

Αποτελεί μια λευκή, με καλές ιδιότητες ροής, κρυσταλλική σκόνη, που διατίθενται σε μια μεγάλη ποικιλία μοριακών βαρών και αντιπροσωπεύεται από το μοριακό τύπο $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$, όπου n είναι ο μέσος αριθμός των ομάδων οξυαιθυλενίου. Το πολυμερές αυτό είναι διαλυτό στο νερό, καθώς και σε ένα πλήθος οργανικών διαλυτών, όπως το ακετυλονιτρίλιο, το χλωροφόρμιο και το μεθυλενοχλωρίδιο, ενώ παρουσιάζει περιορισμένη διαλυτότητα στους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες και στις περισσότερες αλκοόλες. Παρουσιάζει επίσης ασυμβασία με τους ισχυρούς οξειδωτικούς παράγοντες, για αυτό και η ταυτόχρονη χρήση τους στα φαρμακευτικά σκευάσματα αντενδείκνυται. Το οξείδιο του πολυαιθυλενίου εμφανίζει μια ικανότητα σχηματισμού φιλμ, ενώ μπορεί να συγκρατήσει ένα μεγάλο ποσοστό νερού στη δομή του.

Στα φαρμακευτικά σκευάσματα αποτελεί ένα ευπροσάρμοστο πολυμερές για την εφαρμογή του σε συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, καθώς κατά την έκθεσή του στα γαστρεντερικά υγρά διογκώνεται εξαιρετικά γρήγορα, οδηγώντας στο σχηματισμό μιας υδρογέλης. Συγκεκριμένα, το οξείδιο του πολυαιθυλενίου βρίσκει αρκετά συχνά εφαρμογή σε συστήματα τύπου μήτρας, για την παρατεταμένη αποδέσμευση αρκετά ευδιάλυτων φαρμάκων, καθώς επιτρέπει τον αυστηρό έλεγχο της διάχυσης του φαρμάκου από τη μήτρα του πολυμερούς. Οι μηχανισμοί αποδέσμευσης του φαρμάκου από τα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης που χρησιμοποιούν σαν πολυμερές το οξείδιο του πολυαιθυλενίου, βασίζονται κυρίως στη διόγκωση και στη διάβρωση του πολυμερούς. Ανάλογα με το μοριακό βάρος επιτυγχάνονται διαφορετικοί βαθμοί διόγκωσης, με τα υψηλότερου μοριακού βάρους πολυμερή να ελέγχουν την αποδέσμευση του φαρμάκου κυρίως μέσω της διόγκωσης του πολυμερούς και όχι μέσω της διάβρωσής του. Εκτός από τη δράση του στα συστήματα παρατεταμένης αποδέσμευσης, το οξείδιο του πολυαιθυλενίου χρησιμοποιείται αρκετά συχνά στα δισκία σαν υλικό επικάλυψης και σαν συνδετικό μέσο.

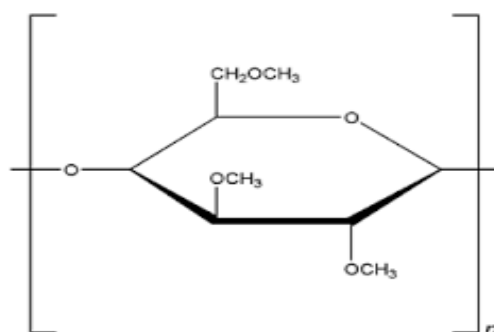
Το οξείδιο του πολυαιθυλενίου μπορεί να επιτύχει μηδενικής τάξης αποδέσμευσης (zero-order) από το σύστημα σε φάρμακα τα οποία παρουσιάζουν αρκετά χαμηλή διαλυτότητα.

Σύμφωνα με μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε πειραματόζωα, το οξείδιο του πολυαιθυλενίου εμφανίζει χαμηλό επίπεδο τοξικότητας ιδίως μετά από *per os* χορήγηση, καθώς απορροφάται ελάχιστα από το γαστρεντερικό βλεννογόνο (Rowe EC *et al.*, 2006).

A.6.3 Μεθυλοκυτταρίνη (Metolose)

Η μεθυλοκυτταρίνη είναι ένα πολυμερές, το οποίο χρησιμοποιείται αρκετά συχνά για την παρασκευή υδρόφιλων συστημάτων τύπου μήτρας. Το πολυμερές αυτό προέρχεται

ημισυνθετικά από την κυτταρίνη, με αντικατάσταση των υδροξυλικών ομάδων που υπάρχουν στη δομή της κυτταρίνης από ομάδες μεθυλαιθέρα. Έτσι μπορούν να παρασκευαστούν διαφορετικά είδη πολυμερούς, ανάλογα με τον αριθμό των υποκατεστημένων υδροξυλομάδων. Ο βαθμός υποκατάστασης επηρεάζει σημαντικά πολλές από τις φυσικές ιδιότητες της μεθυλοκυτταρίνης, όπως τη διαλυτότητά της. Η χημική σύνθεση της μεθυλοκυτταρίνης περιλαμβάνει τη θέρμανση της κυτταρίνης με καυστικό διάλυμα (π.χ. διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου) και στη συνέχεια την κατεργασία του παραγόμενου προϊόντος με μεθυλοχλωρίδιο.



Σχήμα Α.14: Χημικός τύπος της μεθυλοκυτταρίνης

Σε καθαρή μορφή, η μεθυλοκυτταρίνη είναι μια υδρόφιλη λευκή σκόνη, η οποία παρουσιάζει αυξημένη σταθερότητα και είναι ελαφρώς υγροσκοπική. Το πολυμερές είναι αδιάλυτο σε πολλούς οργανικούς διαλύτες, όπως την ακετόνη, τη μεθανόλη, την αιθανόλη και το τολουόλιο. Η μεθυλοκυτταρίνη διαλύεται εύκολα σε θερμοκρασίες μικρότερες των 40°C, ενώ σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες είναι αρκετά δυσδιάλυτη στο νερό. Ωστόσο, για την παρασκευή ενός διαυγούς διαλύματος μεθυλοκυτταρίνης αποφεύγεται η απευθείας διάλυση του πολυμερούς σε νερό χαμηλής θερμοκρασίας (<40°C), καθώς μόλις το πολυμερές έρθει σε επαφή με το κρύο νερό σχηματίζεται ένα στρώμα πηκτής το οποίο μειώνει σημαντικά τη διάχυση του νερού, με αποτέλεσμα το εσωτερικό να παραμένει ξηρό και να μην πραγματοποιείται ομοιόμορφη διάλυση του πολυμερούς. Έτσι συνίσταται η αρχική ανάμειξη της μεθυλοκυτταρίνης με ζεστό νερό, έτσι ώστε να διασκορπιστεί καλά στο διάλυμα και στη συνέχεια η μείωση της θερμοκρασίας προκειμένου να επιτευχθεί η πλήρη διάλυση του πολυμερούς.

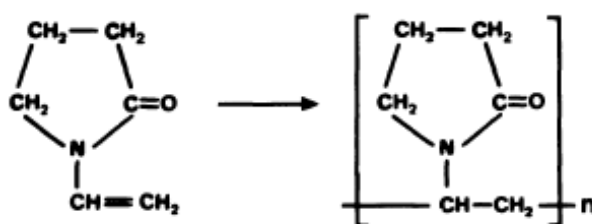
Η μεθυλοκυτταρίνη ανάλογα με το βαθμό ιξώδους, εμφανίζει ποικίλες εφαρμογές στα φαρμακευτικά σκευάσματα. Πιο συγκεκριμένα η υψηλού ιξώδους μεθυλοκυτταρίνη, χρησιμοποιείται αρκετά συχνά για την παρασκευή συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκων που χορηγούνται από το στόμα. Η χρήση της αυτή βασίζεται στην ικανότητα διόγκωσης του πολυμερούς μόλις έρθει σε επαφή με το νερό, οδηγώντας εξαιρετικά γρήγορα

στο σχηματισμό μιας διαηγούς, κολλώδους διασποράς σε μορφή γέλης. Αντίθετα οι πιο χαμηλού ιξώδους ενώσεις, χρησιμοποιούνται συνήθως σαν παράγοντες αύξησης του ιξώδους σε τοπικά σκευάσματα, παράγοντες απαιώρησης, υλικά επικάλυψης, γαλακτωματοποιητές, καθώς και σαν αποσαθρωτικά και συνδετικά μέσα στις στερεές φαρμακοτεχνικές μορφές. Όπως και η κυτταρίνη, η μεθυλοκυτταρίνη έχει χαμηλό προφίλ τοξικότητας, καθώς δεν είναι εύπεπτη και δεν απορροφάται εκτεταμένα από το γαστρεντερικό σύστημα.

Η αποδέσμευση του φαρμάκου από συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης που χρησιμοποιούν σαν πολυμερές τη μεθυλοκυτταρίνη, βασίζεται στις διαδικασίες της διάχυσης και της διάβρωσης. Σε γενικές γραμμές οι ευδιάλυτες ουσίες φαίνεται να αποδεσμεύονται κυρίως μέσω της διάχυσης τους διάμεσου του πολυμερούς, ενώ η αποδέσμευση των δυσδιάλυτων ουσιών καθορίζεται κυρίως από τη διάβρωση. Η αποδέσμευση αυτή φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από το pH του διαλύματος, ενώ αντίθετα επηρεάζεται από τις υψηλές συγκεντρώσεις ηλεκτρολυτών (Rowe EC *et al.*, 2006).

A.6.4 Πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP)

Η πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP), γνωστή και ως ποβιδόνη, είναι ένα υδατοδιαλυτό πολυμερές που παράγεται από τον πολυμερισμό του μονομερούς *N*-βινυλοπυρρολιδόνη στο νερό ή στην ισοπροπανόλη (Haaf F *et al.*, 1985). Ανάλογα με το βαθμό πολυμερισμού, προκύπτουν πολυμερή διαφορετικού μοριακού βάρους.



*Σχήμα A.15: Πολυμερισμός N-βινυλοπυρρολιδόνης σε πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP) (Haaf F *et al.*, 1985).*

Ο μοριακός τύπος της πολυβινυλοπυρρολιδόνης είναι ο $(C_6H_9NO)_n$. Σε καθαρή μορφή, η πολυβινυλοπυρρολιδόνη είναι μια λεπτή, λευκή έως υποκίτρινη υγροσκοπική σκόνη, η οποία μπορεί να απορροφήσει εύκολα μέχρι και το 40% του βάρους της την υγρασία της ατμόσφαιρας. Εμφανίζει εξαιρετικές ιδιότητες διαβροχής και μπορεί να σχηματίσει εύκολα φιλμ, γεγονός που την καθιστά κατάλληλη για τη χρήση της σαν υλικό επικάλυψης.

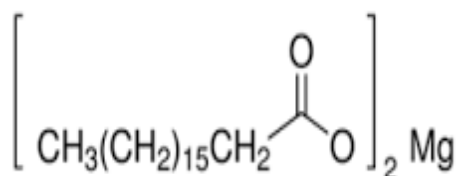
Από τις πιο σημαντικές ιδιότητες της πολυβινυλοπυρρολιδόνης είναι ότι εμφανίζει καλή διαλυτότητα τόσο στο νερό, όσο και σε αρκετούς πολικούς οργανικούς διαλύτες (π.χ. μεθανόλη, αιθανόλη, χλωροφόρμιο), γεγονός που οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην παρουσία υδρόφιλων και υδρόφοβων λειτουργικών ομάδων στη δομή του πολυμερούς. Σε αντίθεση με άλλα πολυμερή, το ιξώδες των διαλυμάτων της πολυβινυλοπυρρολιδόνης φαίνεται να μην επηρεάζεται τόσο από την παρουσία ηλεκτρολυτών στο διάλυμα, αλλά να εξαρτάται σημαντικά από τη συγκέντρωση και το μοριακό βάρος του πολυμερούς. Τα πολυμερή με εξαιρετικά μεγάλο μοριακό βάρος χρησιμοποιούνται κυρίως σαν παράγοντες αύξησης του ιξώδους σε υδατικά και αλκοολικά διαλύματα (Haaf F *et al.*, 1985).

Η πολυβινυλοπυρρολιδόνη συντέθηκε για πρώτη φορά από τον Walter Peppe το 1939 και χρησιμοποιήθηκε αρχικά για παρεντερική χρήση ως υποκατάστατο του πλάσματος του αίματος. Πλέον η παρεντερική χορήγηση της πολυβινυλοπυρρολιδόνης έχει μειωθεί, καθώς αποδείχτηκε ότι ο οργανισμός δεν μπορεί να μεταβολίσει όλο το πολυμερές, με αποτέλεσμα να παραμένουν μικρές ποσότητες του πολυμερούς στο σώμα. Το πρόβλημα αυτό ξεπεράστηκε με τη χορήγηση της πολυβινυλοπυρρολιδόνης σαν βοηθητικό έκδοχο σε από του στόματος χορηγούμενες φαρμακοτεχνικές μορφές. Η πολυβινυλοπυρρολιδόνη χρησιμοποιείται ευρέως σαν έκδοχο στα φαρμακευτικά σκευάσματα, ιδιαίτερα σαν αποσαρθρωτικό, συνδετικό μέσο και υλικό επικάλυψης στα δισκία. Η *per os* χορήγησή της πολυβινυλοπυρρολιδόνης θεωρείται εξαιρετικά ασφαλής, καθώς δεν προκαλεί τοξικότητα λόγω της περιορισμένης απορρόφησής της από το γαστρεντερικό βλεννογόνο. Η πολυβινυλοπυρρολιδόνη μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά και σαν παράγοντας απαιώρησης στα εναιωρήματα, καθώς και σαν βοηθητικό διάλυσης για τη ενίσχυση της διάλυσης δυσδιάλυτων φαρμάκων σε παρεντερικές μορφές χορήγησης (Haaf F *et al.*, 1985). Επίσης, εμφανίζει εξαιρετική βιοπροσκολλητικότητα και έτσι μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διαδερμικά συστήματα, γέλες και έμπλαστρα σαν προσκολλητικό στο δέρμα και στους βλεννογόνους.

Λόγω της χημικής της δομής, η πολυβινυλοπυρρολιδόνη σχηματίζει συχνά σύμπλοκα με πολλές ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους καθώς και με πολλά πολυμερή, βοηθώντας με αυτόν τον τρόπο στη διαλυτοποίηση δυσδιάλυτων ενώσεων, αν και τις περισσότερες φορές τα σχηματιζόμενα αυτά σύμπλοκα περιορίζουν τη βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου στον οργανισμό. Ο σχηματισμός μοριακών συμπλόκων από την πολυβινυλοπυρρολιδόνη, δρα πλεονεκτικά για τη χρήση της ουσίας σε στερεές μορφές παρατεταμένης αποδέσμευσης. Ένα από τα πιο γνωστά σύμπλοκα της πολυβινυλοπυρρολιδόνης είναι αυτό με το ιώδιο και συγκεκριμένα το “povidone-iodine”, που χρησιμοποιείται ευρέως σαν τοπικό αντισηπτικό (Betadine) (Rowe EC *et al.*, 2006).

A.6.5 Στεατικό Μαγνήσιο (Magnesium Stearate)

Το στεατικό μαγνήσιο (άλας μαγνησίου του οκταδεκανοϊκού οξέος) είναι μια λευκή, αδιάλυτη στο νερό σκόνη με χημικό τύπο $Mg(C_{18}H_{35}O_2)_2$. Παράγεται μετά από αντίδραση του στεατικού νατρίου με άλατα μαγνησίου ή από την αλληλεπίδραση του οξειδίου του μαγνησίου με το στεατικό οξύ σε αυξημένη θερμοκρασία.



Σχήμα A.16: Χημικός τύπος του στεατικού μαγνησίου

Το στεατικό μαγνήσιο αποτελεί το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο λιπαντικό έκδοχο κατά την παραγωγή στερεών φαρμακοτεχνικών μορφών. Συγκεκριμένα, λόγω των λιπαντικών ιδιοτήτων του ελαττώνει τις τριβές τόσο μεταξύ των κινούμενων τεμαχιδίων του προς δισκιοποίηση μίγματος, όσο και με τα τοιχώματα της μήτρας, εμποδίζοντας έτσι την προσκόλληση των συστατικών του μίγματος στον εξοπλισμό της παραγωγής κατά τη διάρκεια της συμπίεσης των κόκκων σε δισκία.

Το στεατικό μαγνήσιο αποτελεί μια μη τοξική ουσία και έτσι θεωρείται ασφαλής η από του στόματος χορήγησή του, αν και πολλές φορές η *per os* κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων στεατικού μαγνησίου μπορεί να οδηγήσει σε ερεθισμό του γαστρεντερικού βλεννογόνου και καθαρκτική δράση.

Εμφανίζει ασυμβασία με τα ισχυρά οξέα, τα αλκάλια και τα άλατα σιδήρου, ενώ πρέπει να αποφεύγεται η ανάμειξη του με ισχυρά οξειδωτικά υλικά. Επίσης, το στεατικό μαγνήσιο δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε φαρμακευτικά σκευάσματα που περιέχουν ασπιρίνη και αλκαλοειδή άλατα.

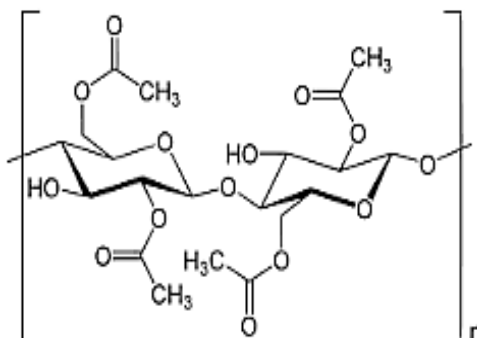
Το στεατικό μαγνήσιο έχει ένα εξαιρετικά υδρόφοβο χαρακτήρα και μπορεί να ελαττώσει σημαντικά τη διαβρεκτικότητα του δισκίου, με αποτέλεσμα να επιβραδύνει τη διάλυση του φαρμάκου από τη στερεή δοσολογική μορφή. Παράλληλα, η ελάττωση της ισχύς των δεσμών μεταξύ των κόκκων που προκαλείται, μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή μαλακών δισκίων με αυξημένη ευθρυπτότητα. Πιο συγκεκριμένα, υψηλά επίπεδα στεατικού μαγνησίου και μεγάλοι χρόνοι ανάμειξης με το μίγμα των κόκκων, οδηγούν στο σχηματισμό υδρόφοβων στρωμάτων κόκκων στην επιφάνεια του δισκίου, που δεν αναμειγνύονται με τα γαστρεντερικά υγρά. Συνεπώς, το στεατικό μαγνήσιο πρέπει να προστίθεται στην ελάχιστη

αποτελεσματική συγκέντρωση λίγο πριν τη συμπίεση των κόνων και ο χρόνος και οι συνθήκες ανάμειξης πρέπει να ελέγχονται προσεκτικά. Μελέτες έχουν δείξει πως ο υδροφοβικότητα του στεατικού μαγνησίου μπορεί να διαφέρει από παρτίδα σε παρτίδα, λόγω της ύπαρξης υδατοδιαλυτών υπολειμμάτων στεατικού νατρίου. Ταυτόχρονα η υδρόφοβη αυτή φύση του στεατικού μαγνησίου, εμποδίζει τη χρήση του στην παραγωγή διαλυτών δισκίων, όπως είναι τα μασώμενα, τα αναβράζοντα και τα λειφόμενα.

Έχει αποδειχθεί η ύπαρξη διάφορων κρυσταλλικών μορφών στεατικού μαγνησίου, με τις ένυδρες μορφές να είναι σταθερές παρουσία υγρασίας, ενώ αντίθετα οι άνυδρες μορφές να απορροφούν έως και πάνω από 50% υγρασία (Rowe EC *et al.*, 2006).

A.6.6 Οξική κυτταρίνη (Cellulose acetate, CA)

Η οξική κυτταρίνη αποτελεί ένα σχετικά υδρόφοβο πολυμερές, το οποίο παράγεται με μερική εστεροποίηση της φυσικής κυτταρίνης με οξικό οξύ παρουσία θειικού οξέος.



Σχήμα A.17: Χημικός τύπος της οξικής κυτταρίνης

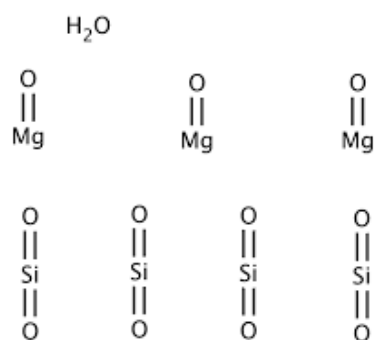
Ο εστέρας αυτός της κυτταρίνης σχηματίζει αδιάλυτα στο νερό πολυμερή, τα οποία παρουσιάζουν καλές ιδιότητες σχηματισμού φιλμ. Συγκεκριμένα, η οξική κυτταρίνη χρησιμοποιείται ευρέως στα φαρμακευτικά σκευάσματα σαν πολυμερική ουσία για την παραγωγή συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκων, αλλά και σαν υλικό επικάλυψης και αραιωτικό έκδοχο στις στερεές φαρμακοτεχνικές μορφές. Η χρήση της οξικής κυτταρίνης στα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης βασίζεται στο ότι το πολυμερές έχει την ικανότητα να διογκώνεται και να σχηματίζει μια δομή γέλης σε υδατικό περιβάλλον. Αξίζει να σημειωθεί πως το πολυμερές αυτό εμφανίζει κατάλληλα μηχανικά χαρακτηριστικά που το καθιστούν ιδανικό για την παραγωγή συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης που

βασίζονται στην ώσμωση. Αυτό οφείλεται στην εξαιρετικά χαμηλή διαλυτότητα της οξικής κυτταρίνης στο νερό τόσο σε όξινες όσο και σε αλκαλικές συνθήκες, όπου επιτρέπει έτσι το σχηματισμό ημιπερατών μεμβρανών οι οποίες είναι εκλεκτικά διαπερατές μόνο από μικρά μόρια διαλύτη. Τα πολυμερή της οξική κυτταρίνης παρουσιάζουν επίσης καλές ιδιότητες συμπίεσης και έτσι μπορούν να μορφοποιηθούν εύκολα με απευθείας συμπίεση του μίγματος της κόλλης (Shokri J *et al.*, 2013).

Η οξική κυτταρίνη είναι μια λευκή σκόνη με καλές ιδιότητες ροής. Η διαλυτότητα της επηρεάζεται αρκετά από την παρουσία ακετυλομαδών. Η εστεροποίηση των υδροξυλικών ομάδων της οξικής κυτταρίνης έχει σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό πολυμερών με διαφορετικό βαθμό υποκατάστασης, ενώ παράλληλα οδηγεί σε αύξηση της υδροφοβικότητας του πολυμερούς. Παρόλα αυτά η ύπαρξη των εστερικών δεσμών, την καθιστά πιο ευαίσθητη στην αποικοδόμηση σε υδατικό περιβάλλον, καθώς εμποδίζουν την κρυστάλλωση του μορίου και οδηγούν στο σχηματισμό ενός άμορφου πολυμερούς. Γενικά η οξική κυτταρίνη παρουσιάζει καλή διαλυτότητα σε διάφορα μίγματα οργανικών διαλυτών, όπως ακετόνης-νερού και διχλωρομεθανίου-αιθανόλης. Επίσης, ανάλογα με το βαθμό πολυμερισμού και την περιεκτικότητα του πολυμερούς σε ακετύλιο, μπορούν να προκύψουν πολυμερή οξικής κυτταρίνης διαφορετικού ιξώδους. Η οξική κυτταρίνη μπορεί να υποστεί αργή υδρόλυση παρουσία υγρασίας και σε υψηλές θερμοκρασίες. Θεωρείται ένα μη τοξικό και μη ερεθιστικό υλικό (Rowe EC *et al.*, 2006).

A.6.7 Τάλκης (Talc)

Ο τάλκης αποτελεί ένα ένυδρο πυριτικό μαγνήσιο, με χημική σύνθεση $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$ που λαμβάνεται από την εξόρυξη φυσικών πετρωμάτων. Αρκετά συχνά φαίνεται να περιέχει στη δομή του και μικρές ποσότητες πυριτικού αλουμινίου και σιδήρου.



Σχήμα A.18: Χημική δομή τάλκη

Ο τάλκης είναι μια λευκή έως γκρίζου χρώματος, άοσμη, κρυσταλλική σκόνη. Εμφανίζει περιορισμένη διαλυτότητα στο νερό, τα αραιά οξέα, τα αλκάλια και τους οργανικούς διαλύτες, ενώ διαθέτει μικρή ικανότητα προσρόφησης. Η διάλυση του τάλκη στο νερό οδηγεί στο σχηματισμό αλκαλικών διαλυμάτων με pH 7-10 (Rowe EC *et al.*, 2006).

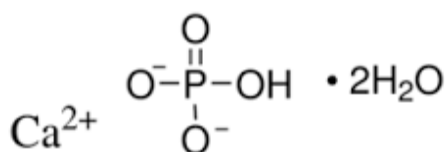
Η χρήση του τάλκη είναι ευρύτατη στα φαρμακευτικά σκευάσματα καθώς χρησιμοποιείται κυρίως στις στερεές φαρμακοτεχνικές μορφές σαν αραιωτικό και λιπαντικό έκδοχο, καθώς και σαν παράγοντας κατά της συσσωμάτωσης. Σε αντίθεση με τα υδρόφοβα λιπαντικά έκδοχα, τα σωματίδια του τάλκη μπορούν να συσσωματώνονται και να αποσυσσωματώνονται αρκετά εύκολα, ρυθμίζοντας έτσι σε μεγάλο βαθμό την κινητική διαλυτοποίησης των υδρόφοβων δραστικών ουσιών (Jadhav NR *et al.*, 2013). Από τις πιο σημαντικές εφαρμογές του τάλκη στα συστήματα χορήγησης φαρμάκων είναι η χρήση του ως επιβραδυντικό διάλυσης κατά την ανάπτυξη σκευασμάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης (Rowe EC *et al.*, 2006).

Η ποσότητα του τάλκη που χρησιμοποιείται κατά την παραγωγή των δισκίων πρέπει να ελέγχεται, καθώς σε μεγάλες ποσότητες μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της ευθρυπτότητας της φαρμακοτεχνικής μορφής (Jadhav NR *et al.*, 2013). Καθώς ο τάλκης αποτελεί ένα φυσικό υλικό, αρκετά συχνά μπορεί να περιέχει μικροοργανισμούς και για το λόγο αυτό θα πρέπει να αποστειρώνεται πριν τη χρήση του στα φαρμακευτικά σκευάσματα.

Η συγχορήγηση του τάλκη με ενώσεις τεταρτοταγούς αμμωνίου πρέπει να αποφεύγεται καθώς εμφανίζεται ασυμβασία. Ο τάλκης δεν απορροφάται συστηματικά μετά από *per os* χορήγηση και επομένως θεωρείται ένα μη τοξικό και εξαιρετικά ασφαλές υλικό. Πρέπει να φυλάσσεται σε καλά κλεισμένο δοχείο, σε δροσερό και ξηρό μέρος (Rowe EC *et al.*, 2006).

A.6.8 Διβασικό φωσφορικό ασβέστιο (Calcium hydrogen phosphate dihydrate)

Το διβασικό φωσφορικό ασβέστιο, ή αλλιώς διένυδρο φωσφορικό ασβέστιο, παράγεται από την αντίδραση ενός υψηλού βαθμού καθαρότητας φωσφορικού οξέος (H₃PO₄) με το υδροξείδιο του ασβεστίου (Ca(OH)₂). Αποτελεί μια άοσμη, λευκή κρυσταλλική σκόνη με χημικό τύπο CaHPO₄·2H₂O, η οποία είναι πρακτικά αδιάλυτη στην αιθανόλη και το νερό και διαλυτή στα αραιά οξέα (Rowe EC *et al.*, 2006).



Σχήμα A.19: Χημικός τύπος διβασικού φωσφορικού οξέος

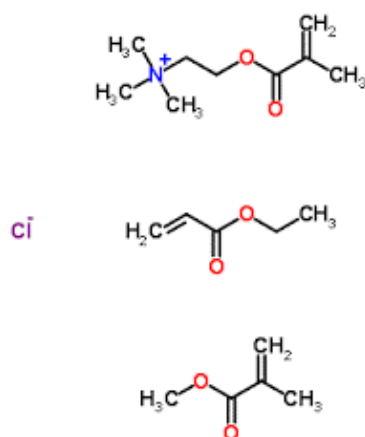
Χρησιμοποιείται αρκετά συχνά στα φαρμακευτικά σκευάσματα σαν αραιωτικό έκδοχο. Παράλληλα, έχει αποδειχθεί πως βελτιώνει σημαντικά τις ιδιότητες ροής και συμπύκνωσης του προς δισκιοποίηση μίγματος. Τα τελευταία χρόνια το διβασικό φωσφορικό ασβέστιο χρησιμοποιείται για την παρασκευή συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης αρκετά υδατοδιαλυτών φαρμάκων. Συγκεκριμένα, φάρμακα με αρκετά υψηλή διαλυτότητα στο νερό τα οποία είναι δύσκολο να μορφοποιηθούν σε συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης, παρουσιάζουν ένα παρατεταμένο προφίλ αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας όταν χρησιμοποιούνται μαζί με διβασικό φωσφορικό ασβέστιο. Στα συστήματα αυτά βρέθηκε ότι η αποδέσμευση αυτή της δραστικής ουσίας, εξαρτάται σημαντικά από τις διαστάσεις του δισκίου, με τα μεγάλου μεγέθους και κατάλληλης γεωμετρίας δισκία να επιτυγχάνουν ένα εξαιρετικά σταθερό προφίλ αποδέσμευσης το οποίο προσεγγίζει τη γραμμικότητα (Mulye NV *et al.*, 1994).

Το διβασικό φωσφορικό ασβέστιο αποτελεί ένα μη υγροσκοπικό και σταθερό σε θερμοκρασία δωματίου υλικό. Ωστόσο κάτω από ορισμένες συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας μπορεί να κρυσταλλωθεί, έχοντας σημαντικές συνέπειες τόσο στην αποθήκευση όσο και στην επικάλυψη των δισκίων που το περιέχουν. Για το λόγο αυτό πρέπει να φυλάσσεται σε καλά κλεισμένους περιέκτες.

Το υλικό αυτό εμφανίζει ασυμβασίες με πολλές δραστικές ουσίες, όπως την ερυθρομυκίνη, την ασπαρτάμη και την ασπιρίνη. Παράλληλα, η επιφάνεια του διβασικού φωσφορικού ασβεστίου είναι αλκαλική και κατά συνέπεια δεν πρέπει να χρησιμοποιείται με φάρμακα τα οποία είναι ευαίσθητα σε αλκαλικό pH (Rowe EC *et al.*, 2006).

A.6.9 Συμπολυμερή μεθακρυλικού αμμωνίου τύπου B (Ammonio methacrylate copolymer type b)

Τα συμπολυμερή μεθακρυλικού αμμωνίου είναι συμπολυμερή εστέρων ακρυλικού και μεθακρυλικού οξέος, με χαμηλή περιεκτικότητα σε ομάδες τεταρτοταγούς αμμωνίου. Οι ομάδες αμμωνίου υπάρχουν ως άλατα στη δομή της ένωσης και καθιστούν τα συμπολυμερή διαπερατά στα γαστρεντερικά υγρά. Αποτελούν στερεές ουσίες σε μορφή λευκής σκόνης με ελαφρά αμμώδη οσμή και έχουν χημικό τύπο $C_{19}H_{34}ClNO_6$.



Σχήμα Α.20: Χημικός τύπος συμπολυμερών μεθακρυλικού αμμωνίου.

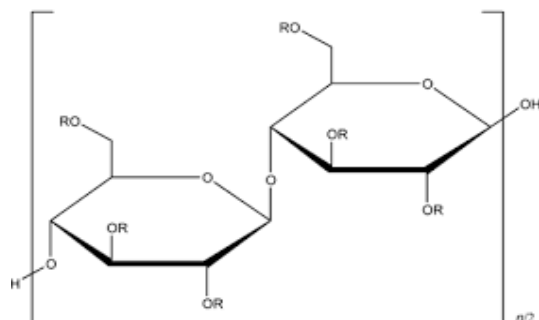
Τα συμπολυμερή αυτά χρησιμοποιούνται στα φαρμακευτικά σκευάσματα ως πολυμερικές ουσίες για την παρασκευή συστημάτων μήτρας ελεγχόμενης αποδέσμευσης δραστικών ουσιών, τα οποία είναι ανεξάρτητα από το pH. Μόλις τα συμπολυμερή μεθακρυλικού αμμωνίου έρθουν σε επαφή με τα γαστρεντερικά υγρά διογκώνονται και σχηματίζουν αδιάλυτες δομές (Naik J *et al.*, 2013).

Φυσικοχημικά, τα συμπολυμερή μεθυλοκρυλικού αμμωνίου εμφανίζουν περιορισμένη διαλυτότητα στο νερό και καλή διαλυτότητα στους οργανικούς διαλύτες, όπως το χλωριούχο μεθυλένιο, την ακετόνη και το διχλωρομεθάνιο δίνοντας καθαρά έως θολά διαλύματα (European Pharmacopoeia 5th ed. 2005).

Είναι βιοσυμβατά συμπολυμερή και θεωρούνται αρκετά ασφαλή και μη ερεθιστικά μετά από *per os* χορήγηση μικρών ποσοτήτων.

A.6.10 Υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη/Υπρομελλόζη (HPMC 2910, HPMC K15M)

Η υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη (HPMC), ή αλλιώς γνωστή και ως υπρομελλόζη, παράγεται από τη φυσικής προέλευσης κυτταρίνη μετά από αντίδραση με διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου, όπου και σχηματίζεται μια διογκωμένη αλκαλική κυτταρίνη από την οποία παράγονται οι μεθυλο-υδρόξυ-προπυλαιθέρες της κυτταρίνης.



Σχήμα Α.21: Χημική δομή της υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης

Αποτελεί μια άοσμη, κρεμώδη, λευκή σκόνη. Εμφανίζει καλή διαλυτότητα στο κρύο νερό, σχηματίζοντας ιζώδη, κολλοειδή διαλύματα, ενώ είναι πρακτικά αδιάλυτη στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες, με ορισμένες μόνο κατηγορίες της υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης να εμφανίζουν καλή διαλυτότητα σε υδατικά διαλύματα ακετόνης και κάποιους άλλους οργανικούς διαλύτες. Πρόκειται για μια σταθερή ουσία, αν και παρουσιάζει κάποιου βαθμού υγροσκοπικότητα μετά από ξήρανση. Μια αύξηση της θερμοκρασίας μειώνει το ιζώδες των διαλυμάτων της υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης.

Χρησιμοποιείται αρκετά συχνά στα φαρμακευτικά σκευάσματα ως υλικό επικάλυψης, γαλακτωματοποιητής, παράγοντας απαιώρησης και συνδετικό μέσο, ενώ σε αντίθεση με άλλα υδρόφιλα πολυμερή η υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη εμφανίζει καλές ιδιότητες συμπίεσης. Οι υψηλού ιζώδους ενώσεις της υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης χρησιμοποιούνται κυρίως σαν πολυμερή για την παρασκευή συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης ουσιών. Συγκεκριμένα, το υδατοδιαλυτό αυτό πολυμερές μετά την επαφή του με τα γαστρεντερικά υγρά παρουσιάζει μια εκτεταμένη διόγκωση και ένα σταθερό ρυθμό διάβρωσης της πολυμερικής μήτρας, κάτι το οποίο οφείλεται στη μικρή πρόσληψη του νερού και στο μικρό πορώδες που εμφανίζει, οδηγώντας έτσι σε μια σταδιακή και αργή αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τη δοσολογική μορφή (Tukaram BN *et al.*, 2010). Ο γρήγορος αυτός σχηματισμός του στρώματος της γέλης στην επιφάνεια των δοσολογικών μορφών είναι κρίσιμης σημασίας για την αποφυγή της διαβροχής του εσωτερικού και την αποσύνθεση του πυρήνα της φαρμακοτεχνική μορφής.

Η υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη εμφανίζει ασυμβασία με ορισμένους οξειδωτικούς παράγοντες, ενώ καθότι είναι μια μη ιονική ουσία δεν σχηματίζει αδιάλυτα ιζήματα με μεταλλικά άλατα ή ιονικές οργανικές ουσίες. Θεωρείται ένα μη τοξικό και μη ερεθιστικό υλικό για από του στόματος χορήγηση, αν και η κατανάλωση υπερβολικών ποσοτήτων από το στόμα μπορεί να έχει καθαρτική δράση. Το πολυμερές αυτό διατίθενται σε διάφορες μορφές,

οι οποίες διαφέρουν ως προς το ιξώδες και την έκταση της υποκατάστασης (Rowe EC *et al.*, 2006).

Στην παρούσα εργαστηριακή μελέτη χρησιμοποιήθηκαν σαν έκδοχα το HPMC 2910 και το HPMC K 15M. Συγκεκριμένα, το HPMC 2910 περιέχει 29% μεθόξυ ομάδα (OCH₃) και 10% υδρόξυ-προποξυ-ομάδα (OCH₂CH(OH) CH₃). Στο HPMC K 15M, ο όρος K χαρακτηρίζει το πολυμερές ανάλογα με το σημείο σχηματισμού γέλης σε 2% διάλυμα στους 20°C και ο όρος 15M (15.000) το βαθμό ιξώδους.

A.6.11 Κολλοειδές άνυδρο πυρίτιο (Colloidal anhydrous silica)

Το κολλοειδές άνυδρο πυρίτιο, γνωστό και ως κολλοειδές διοξείδιο του πυριτίου ή Aerosil, είναι ένα πυρογενές διοξείδιο του πυριτίου με μέγεθος σωματιδίων περίπου 15 nm. Παρασκευάζεται με υδρόλυση ατμών χλωροσιλανίων, όπως τετραχλωριούχου πυριτίου στους 1800°C χρησιμοποιώντας φλόγα υδρογόνου-οξυγόνου. Αποτελεί μια άσπρη έως μπλε χρώματος άοσμη, άμορφη σκόνη. Η σκόνη αυτή είναι πρακτικά αδιάλυτη στους οργανικούς διαλύτες, στο νερό και στα οξέα, εκτός από το υδροφθορικό οξύ, αλλά αρκετά διαλυτή σε θερμά διαλύματα αλκαλικού υδροξειδίου. Πρόκειται για ένα αρκετά υγροσκοπικό υλικό, που απορροφά μεγάλες ποσότητες νερού χωρίς όμως να προκαλεί υγροποίηση. Μόλις το κολλοειδές άνυδρο πυρίτιο έρθει σε επαφή με το υδατικό περιβάλλον σχηματίζει μια κολλοειδή διασπορά. Έχει χημικό τύπο SiO₂.



Σχήμα A.22: Χημική δομή κολλοειδούς άνυδρου πυριτίου

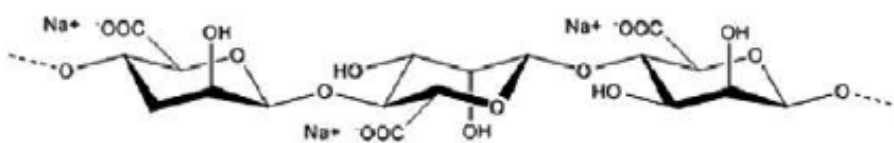
Χρησιμοποιείται αρκετά συχνά στα φαρμακευτικά σκευάσματα σαν αποσαθρωτικό, παράγοντας αύξησης του ιξώδους, σταθεροποιητής γαλακτωμάτων και σαν βελτιωτικό ροής. Το μικρό μέγεθος των σωματιδίων και η μεγάλη ειδική περιοχή που παρουσιάζει το υλικό αυτό του προσδίδουν κάποια επιθυμητά χαρακτηριστικά ροής, προκειμένου να βελτιώσει τις ιδιότητες ροής των ξηρών κόνεων σε διάφορες διεργασίες, όπως τη δισκιοποίηση. Το κολλοειδές άνυδρο πυρίτιο σε υδατικά διαλύματα με pH 0-7.5 και ειδικά παρουσία υλικών με παρόμοιο δείκτη διάθλασης με αυτό, οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους του διαλύματος και στο σχηματισμό μιας διαφανούς γέλης. Ο βαθμός αύξησης του ιξώδους που προκαλεί το κολλοειδές άνυδρο πυρίτιο εξαρτάται σημαντικά από την πολικότητα του υγρού μέσου, με τα πολικά υγρά να απαιτούν μεγαλύτερη συγκέντρωση κολλοειδούς άνυδρου πυριτίου σε σχέση

με τα μη πολικά. Η αύξηση αυτή του ιξώδους που προκαλείται είναι σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητη από τη θερμοκρασία, ωστόσο μπορεί να επηρεαστεί από κάποιες αλλαγές στο pH του συστήματος.

Το κολλοειδές άνυδρο πυρίτιο χρησιμοποιείται ευρέως σε από του στόματος χορηγούμενα φαρμακευτικά σκευάσματα και θεωρείται ένα μη τοξικό και μη ερεθιστικό υλικό. Παρουσιάζει ασυμβασία με τη διαιθυλοστιλβεστρόλη, για αυτό και η ταυτόχρονη χρήση τους πρέπει να αποφεύγεται (Rowe EC *et al.*, 2006).

A.6.12 Αλγινικό Νάτριο (Sodium Alginate)

Το αλγινικό οξύ είναι ένας φυσικός πολυσακχαρίτης που απομονώνεται από τα καφέ θαλάσσια φύκη (Phaeophyceae). Το φυσικό αυτό πολυμερές μετατρέπεται αρκετά συχνά σε άλας του αλγινικού νατρίου το οποίο χρησιμοποιείται ιδιαίτερα σήμερα ως βοηθητικός παράγοντας για την παρασκευή φαρμακοτεχνικών μορφών, τόσο ως συμβατικό έκδοχο όσο και ως εργαλείο για την ελεγχόμενη αποδέσμευση δραστικών ουσιών (Tønnesen HH *et al.*, 2002).



Σχήμα A.23: Γενική χημική δομή αλγινικού νατρίου

Το αλγινικό νάτριο χρησιμοποιείται συχνά στην παρασκευή φαρμακευτικών μορφών σαν σταθεροποιητικός παράγοντας, παράγοντας αύξησης του ιξώδους και σαν συνδετικό μέσο (Rowe EC *et al.*, 2006). Παράλληλα, το υδροκολλοειδές αυτό μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στο σχεδιασμό σκευασμάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης. Πιο συγκεκριμένα, το αλγινικό νάτριο είναι ένα υδρόφιλο πολυμερές, στο οποίο η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας ρυθμίζεται μέσω της διάχυσης της από τη διογκωμένη μήτρα και στη συνέχεια την επακόλουθη διάλυση/διάβρωση της. Μόλις το αλγινικό νάτριο έρθει σε επαφή με το διαλυτικό μέσο ενυδατώνεται και σχηματίζει μια υδροκολλοειδή στιβάδα υψηλού ιξώδους που διαλύεται αργά και έτσι παρατείνει σημαντικά την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τη φαρμακοτεχνική μορφή. Το αλγινικό νάτριο έχει την ικανότητα σχηματισμού δύο τύπων πηκτής ανάλογα με το pH του μέσου, μια πηκτή οξέος και μια ινοτροπική γέλη, κάτι το οποίο έχει σαν αποτέλεσμα μια μεγάλη μεταβολή στις φυσικοχημικές ιδιότητες του

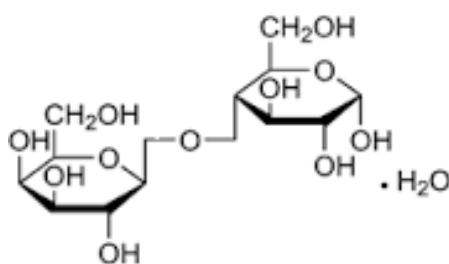
πολυμερούς (Tønnesen HH *et al.*, 2002).

Το ιξώδες των υδατικών διαλυμάτων του αλγινικού νατρίου ποικίλει ανάλογα με το pH, τη θερμοκρασία και την παρουσία μεταλλικών ιόντων στο μέσο διάλυσης, ενώ σε τιμές pH μεγαλύτερες του 10 έχει παρατηρηθεί πως το ιξώδες μειώνεται σημαντικά. Καλύτερη σταθερότητα φαίνεται να εμφανίζουν τα υδατικά διαλύματα αλγινικού νατρίου σε τιμές pH από 4 έως 10, ενώ σε pH μικρότερο του 3 συχνά παρατηρείται καθίζηση (Tønnesen HH *et al.*, 2002; Rowe EC *et al.*, 2006).

Το αλγινικό νάτριο εμφανίζει περιορισμένη διαλυτότητα και ασυμβασία με πολλούς οργανικούς διαλύτες, όπως την αιθανόλη. Παράλληλα, έχει παρατηρηθεί πως οι χαμηλές συγκεντρώσεις ηλεκτρολυτών στο διαλυτικό μέσο αυξάνουν το ιξώδες των διαλυμάτων αλγινικού νατρίου (Rowe EC *et al.*, 2006).

A.6.13 Μονοϋδρική Λακτόζη (Lactose Monohydrate)

Η λακτόζη είναι ένας φυσικός δισακχαρίτης που δημιουργείται από τη συνένωση ενός μονομερούς γαλακτόζης με ένα μονομερές γλυκόζης με β -1,4-γλυκοζιτικό δεσμό. Υπάρχουν διάφορες πολυμορφικές μορφές της λακτόζης, οι οποίες διαφέρουν κυρίως ως προς το μέγεθος και τα χαρακτηριστικά ροής των σωματιδίων, με την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μορφή για την παρασκευή στερεών φαρμακοτεχνικών μορφών να είναι η κρυσταλλική μονοϋδρική λακτόζη. Η μονοϋδρική λακτόζη αποτελείται από μεγάλους κρυστάλλους και είναι μη υγροσκοπική. Αποτελεί μια λευκή κρυσταλλική σκόνη, η οποία εμφανίζει καλή διαλυτότητα στο νερό (Gohel MC, 2005; Rowe EC *et al.*, 2006).



Σχήμα A.24: Χημική δομή της μονοϋδρικής λακτόζης

Η μονοϋδρική λακτόζη χρησιμοποιείται ευρέως στα φαρμακευτικά σκευάσματα ως αραιωτικό και συνδετικό υλικό πλήρωσης για την παρασκευή στερεών φαρμακοτεχνικών μορφών. Χρησιμοποιείται επίσης αρκετά συχνά για την παρασκευή δισκίων με τη μέθοδο της άμεσης συμπίεσης λόγω των καλών ιδιοτήτων ροής που εμφανίζουν τα σωματίδια του εκδόχου. Ο συνδυασμός της μονοϋδρικής λακτόζης με τη μικροκρυσταλλική κυτταρίνη έχει

βρεθεί πως εμφανίζει ισχυρό συνεργειακό αποτέλεσμα στο χρόνο αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας από τη φαρμακοτεχνική μορφή. Παράλληλα, οι μορφές που περιέχουν σαν έκδοχο τη μονοϋδρική λακτόζη φαίνεται να εμφανίζουν μεγαλύτερη αντοχή και σκληρότητα όσο μικρότερο είναι το μέγεθος των σωματιδίων του εκδόχου (Gohel MC, 2005).

Η μονοϋδρική λακτόζη χρησιμοποιείται αρκετά συχνά στα συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης δραστικών ουσιών. Πιο συγκεκριμένα, λόγω της υδρόφιλης της φύσης η μονοϋδρική λακτόζη διαλυόμενη στο νερό αφήνει πόρους στη δομή της πολυμερικής μήτρας οι οποίοι πληρώνονται με τη διείδυση του διαλύτη. Κατά αυτόν τον τρόπο, δημιουργούνται κάποιες μικροκοιλότητες στην πολυμερική μήτρα, έχοντας σαν αποτέλεσμα το μεγάλο βαθμό ενυδάτωσης και διάβρωσης της πολυμερικής μήτρας, λόγω της χαλάρωσης των πολυμερικών αλυσίδων (Tukaram BN *et al.*, 2010).

A.7 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΩΝ ΝΑΝΟΪΝΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΪΝΟΠΟΙΗΣΗΣ

A.7.1 Νανοΐνες (Nanofibers)

Μια σημαντική εφαρμογή πολλών φυσικών και συνθετικών πολυμερών, η οποία έχει αποκτήσει αυξανόμενο ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια στα συστήματα χορήγησης, είναι η παρασκευή καινοτόμων συστημάτων μεταφοράς φαρμάκων σε μορφή νανοϊνών (nanofibers) (Toskas G *et al.*, 2011; Garg T *et al.*, 2014). Οι νανοΐνες είναι εξαιρετικά λεπτές στερεές ίνες, με διαμέτρους της τάξεως των 1-1000 nm και μπορούν να παραχθούν με τη χρήση πολλών διαφορετικών πολυμερών και ως εκ τούτου να αποκτήσουν διαφορετικές φυσικές ιδιότητες και δυνατότητες εφαρμογής (Kumbar SG *et al.*, 2006). Οι νανοΐνες μπορούν να συνδέονται μεταξύ τους με ισχυρούς χημικούς δεσμούς και να λειτουργούν σαν συστήματα μεταφοράς φαρμάκων μέσω της κατασκευής τρισδιάστατων αρχιτεκτονικών δομών και εμφανίζουν σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τα συμβατικά συστήματα χορήγησης.

Η μορφολογία και η διάμετρος των προκύπτουσων νανοϊνών εξαρτώνται σημαντικά από διάφορες παραμέτρους, όπως η χημική δομή και το μοριακό βάρος του πολυμερούς, το ιξώδες και την αγωγιμότητα του διαλύματος, καθώς και τη θερμοκρασία και την υγρασία που επικρατούν στο θάλαμο παρασκευής (Frenot A *et al.*, 2003). Οι πιο χαρακτηριστικές ιδιότητες που παρουσιάζουν οι νανοΐνες είναι το υψηλό πορώδες και η υψηλή αναλογία επιφάνειας προς όγκο, οι οποίες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αποδέσμευση και στη στοχευμένη μεταφορά του φαρμάκου στην κατάλληλη θέση του σώματος (Garg T *et al.*, 2014; Kumbar SG *et al.*, 2006).

Οι νανοϊνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μεταφορά ενός ευρέος φάσματος υδρόφιλων και υδρόφοβων φαρμάκων, καθώς και μακρομορίων, όπως το DNA και οι πρωτεΐνες. Η χορήγησή τους γίνεται ως επί το πλείστον διαδερμικά, υποδόρια και με εμφύτευση (Garg T *et al.*, 2014).

Τα πλεονεκτήματα που εμφανίζουν οι πολυμερικές νανοϊνες ανάλογα με τη δομή του πολυμερούς και καθιστούν την εφαρμογή τους στα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων ιδιαίτερα σημαντική είναι:

- Εξαιρετική μηχανική αντοχή και ευκαμψία
- Σταθερότητα
- Καλύτερη στόχευση του φαρμάκου στη θέση δράσης
- Ικανότητα υψηλής ενσωμάτωσης ενός ευρέος φάσματος φαρμάκων σε άμορφη ή στερεά μορφή
- Προστασία του φαρμάκου από το περιβάλλον μέσω του εγκλεισμού του φαρμάκου στο εσωτερικό των ινών
- Καταλληλότητα για θερμοευαίσθητα υλικά
- Ικανότητα διάχυσης ή διατήρησης ηλεκτροστατικού φορτίου ανάλογα με τις ηλεκτρικές ιδιότητες του πολυμερούς (Garg T *et al.*, 2014).

Οι νανοϊνες χαρακτηρίζονται από άριστες ικανότητες εγκλεισμού φαρμάκων και εκδόχων μέσα στη δομή τους, αποφεύγοντας σε μεγάλο βαθμό την αρχική αυξημένη αποδέσμευση φαρμάκου στον οργανισμό και κατ' επέκταση τον κίνδυνο εμφάνισης τοξικότητας, γεγονός εξαιρετικά σύνηθες στις συμβατικές πολυμερικές μορφές. Η μοναδική ευελιξία της δομής τους επιτρέπει την ανάπτυξη “οχημάτων” μεταφοράς φαρμάκων που μπορούν να παρέχουν ελεγχόμενη και παρατεταμένη συμπεριφορά απελευθέρωσης του φαρμάκου από τον πυρήνα των ινών, η οποία είναι δυνατή με μεταβολή στον τρόπο εγκλεισμού των νανοϊνών μέσα στις φαρμακοτεχνικές μορφές (Garg T *et al.*, 2014). Πιο συγκεκριμένα, μελέτες έχουν δείξει την παραγωγή δυσδιάστατων και τρισδιάστατων δομών, οι οποίες εμφανίζουν ταχεία αποδέσμευση της δραστικής ουσίας τις πρώτες ώρες μετά τη χορήγηση, ακολουθούμενη από μια βραδύτερη και παρατεταμένη αποδέσμευση της δραστικής ουσίας τις επόμενες ημέρες (Cardoso MJ *et al.*, 2016; Sharifi F *et al.*, 2016). Ο περιορισμός της κινητικής της απελευθέρωσης του φαρμάκου από τη δομή των νανοϊνών μπορεί να ρυθμιστεί περαιτέρω με την εισαγωγή επιπρόσθετων στρωμάτων πολυμερούς στην επιφάνεια των ινών (Son YJ *et al.*, 2014).

Η ενσωμάτωση της δραστικής ουσίας σε αυτές τις νανοδομές μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με άμεση ενσωμάτωση του φαρμάκου στο εσωτερικό των ινών, είτε με

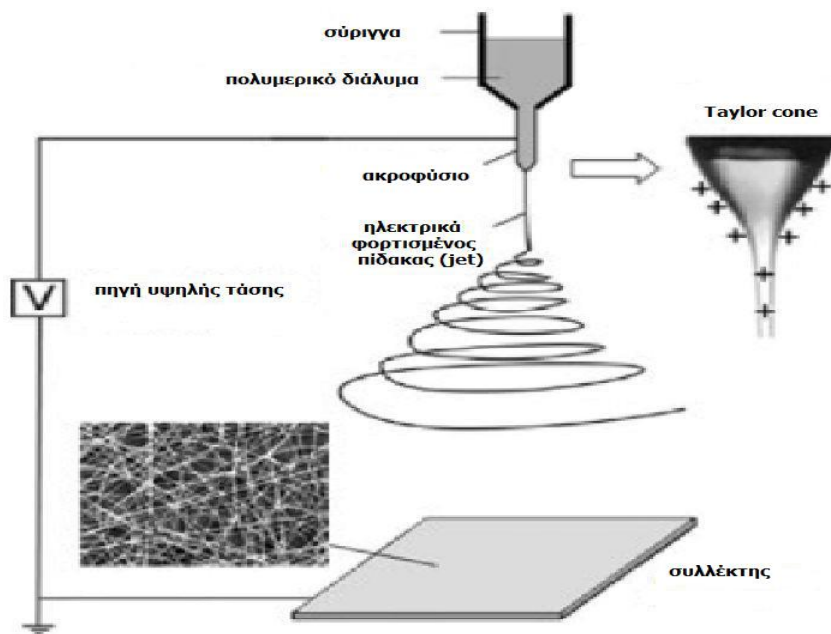
έμμεση εναπόθεση του φαρμάκου στην επιφάνεια τους (surface-immobilization). Συγκεκριμένα, ο προτιμότερος τρόπος είναι ο εγκλεισμός της δραστικής ουσίας στο εσωτερικό των πολυμερικών ινών, κάτι που πραγματοποιείται με διάλυση της ουσίας και του πολυμερούς στον ίδιο διαλύτη και στη συνέχεια απομάκρυνση του διαλύτη. Για την επιλογή της συγκεκριμένης μεθόδου, απαραίτητη προϋπόθεση είναι η διαλυτότητα του φαρμάκου στο διάλυμα του πολυμερούς, με τις υδρόφοβες δραστικές ουσίες να απαιτούν τη χρήση οργανικών διαλυτών και τις υδρόφιλες ουσίες να διαλύονται επιτυχώς στην υδατική φάση του διαλύματος του πολυμερούς. Η χρήση όμως οργανικών διαλυτών για τη διάλυση των υδρόφοβων δραστικών ουσιών και η ταυτόχρονη εφαρμογή υψηλής τάσης έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα επιβλαβής σε ορισμένες περιπτώσεις για τις δραστικές ουσίες, για αυτό και συνήθως αποφεύγεται. Αντίθετα, στη μέθοδο της έμμεσης ενσωμάτωσης της δραστικής ουσίας στις νανοϊνες πραγματοποιείται φυσική ή χημική ακινητοποίηση της ουσίας στην επιφάνεια της πολυμερικής ίνας. Το μειονέκτημα της εναπόθεσης της δραστικής ουσίας στην πολυμερική επιφάνεια της ίνας είναι η μεγάλη αρχική αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από το σύστημα, λόγω του υψηλού λόγου επιφανείας ως προς τον όγκο, κάτι το οποίο δεν είναι επιθυμητό. Οι δύο παραπάνω μέθοδοι προκαλούν διαφορετική αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από το σύστημα, ενώ ανάλογα με τον τύπο της ουσίας που έχει ενσωματωθεί στις ίνες απαιτείται και διαφορετική προσέγγιση για να ληφθεί το επιθυμητό προφίλ αποδέσμευσης (Son YJ *et al.*, 2014).

A.7.2 Μέθοδος ηλεκτροϊνοποίησης (electrospinning technique)

Υπάρχουν πολλές τεχνικές για την παραγωγή νανοϊνών, με την πιο επιτυχημένη να είναι αυτή της ηλεκτροϊνοποίησης (electrospinning). Η ικανότητα ενσωμάτωσης βιοδραστικών θεραπευτικών μορίων σε δομές νανοϊνών χρησιμοποιώντας την ήπια τεχνική της ηλεκτροϊνοποίησης, επιτρέπει τη διατήρηση της δομικής και βιολογικής ακεραιότητας των ινών και έχει εξελίξει σημαντικά την ανάπτυξη συστημάτων χορήγησης φαρμάκων βασισμένων σε πολυμερικές νανοϊνες. Η τεχνολογία της ηλεκτροϊνοποίησης βασίζεται στην ικανότητα ενός φορτισμένου πολυμερικού διαλύματος να οδηγεί στην παραγωγή ινών επιθυμητού μεγέθους, με στόχο τη δημιουργία εύκαμπτων δομών, των λεγόμενων “νανοϊνωδών φύλλων” (nanofiber-sheets), που θα εγκλείουν στο εσωτερικό τους τη δραστική ουσία και θα επιτρέπουν την ελεγχόμενη αποδέσμευσή της από το σύστημα (Hamori M *et al.*, 2014). Η δημιουργία των στερεών νανοϊνών από το διάλυμα γίνεται με εξάτμιση του πολυμερικού διαλύτη, χωρίς να απαιτείται πήξη του διαλύματος του πολυμερούς ή εφαρμογή υψηλών θερμοκρασιών, καθιστώντας την τεχνική κατάλληλη για την παραγωγή ινών από

θερμοευαίσθητα υλικά, όπως είναι οι πρωτεΐνες.

Η διαδικασία της ηλεκτροϊνοποίησης ξεκινά με την εφαρμογή ενός ηλεκτρικού πεδίου υψηλής τάσης (10-20 kV) σε μια σταγόνα πολυμερικού διαλύματος που διανέμεται μέσω ενός ακροφυσίου. Η επιφανειακή τάση και οι ιξωδοελαστικές δυνάμεις του διαλύματος του πολυμερούς τείνουν να διατηρήσουν το ημισφαιρικό σχήμα της σταγόνας, ενώ αντίθετα το φορτίο που δημιουργείται λόγω του ηλεκτρικού πεδίου τείνει να μετατρέψει το σχήμα της σταγόνας από ημισφαιρικό σε ένα κωνικό που ονομάζεται “Taylor cone”. Όταν η εφαρμοζόμενη τάση ξεπεράσει μια κρίσιμη τιμή, επικρατούν οι ηλεκτρικές δυνάμεις στο σύστημα, με αποτέλεσμα να φορτίζεται το διάλυμα του πολυμερούς και να αποκτά τελικά ένα σχήμα κωνικό (Taylor cone). Στην περίπτωση πολυμερικών διαλυμάτων κατάλληλου ιξώδους δημιουργείται ένας ηλεκτρικά φορτισμένος πίδακας (jet) από πολυμερές, ο οποίος κινείται διαμέσου του αέρα σε μια σχεδόν ευθεία γραμμή. Ωστόσο, κατά τη διάρκεια της πορείας του, λόγω της ύπαρξης απωθητικών δυνάμεων, ο πολυμερικός πίδακας φτάνει γρήγορα σε ένα σημείο αστάθειας, με αποτέλεσμα να κάμπτεται συνεχώς μπρος και πίσω και έτσι η δέσμη του πολυμερούς να παραμένει συνεχώς τεντωμένη, οδηγώντας στο σχηματισμό λεπτών μακριών ινών. Οι παραγόμενες νανοΐνες συλλέγονται σε ειδικό στατικό ή περιστρεφόμενο συλλέκτη (Kumbar SG *et al.*, 2006).



Σχήμα A.25: Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της ηλεκτροϊνοποίησης (*electrospinning*) ενός πολυμερικού διαλύματος για το σχηματισμό νανοϊνών (Ibrahim HM *et al.*, 2015).

Η διαδικασία της ηλεκτροϊνοποίησης είναι ευπροσάρμοστη καθώς επιτρέπει τη χρήση ενός ευρέος φάσματος πολυμερικών ουσιών, τόσο φυσικών όσο και συνθετικών, για το

σχηματισμό των ινών (Frenot A *et al.*, 2003). Οι ιδιότητες των πολυμερών που λαμβάνονται υπόψη για τη πιθανή χρήση τους στην παραγωγή των ινών είναι η βιοσυμβατότητα, η βιοαποικοδομησιμότητα, η υδροφιλικότητα και η μηχανική αντοχή. Ένας από τους πιο βασικούς περιορισμούς των φυσικών πολυμερικών ουσιών είναι η περιορισμένη διαλυτότητα και οι φτωχές ρεολογικές ιδιότητες που εμφανίζουν οι περισσότεροι πολυσακχαρίτες. Παράλληλα, υπάρχει και ένας μεγάλος αριθμός συνθετικών πολυμερών τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρασκευή νανοϊνών, όπως είναι η οξική κυτταρίνη (CA), η πολυγλυκερόλη, η πολυ-βινυλική αλκοόλη (PVA) κ.α. Τα συνθετικά πολυμερή αν και αποτελούν οικονομικά υλικά με καλά ελεγχόμενες φυσικοχημικές ιδιότητες, πολλές φορές εμφανίζουν προβλήματα βιοσυμβατότητας. Προκείμενου να ξεπεραστούν οι περιορισμοί αυτοί, τις περισσότερες φορές προτιμάται ο συνδυασμός φυσικών και συνθετικών πολυμερών για την παραγωγή των νανοϊνών. Τα συνθετικά βιοσυμβατά πολυμερή, τα οποία αναμειγνύονται σε μικρές ποσότητες με τους φυσικούς πολυσακχαρίτες είναι συνήθως το οξείδιο του πολυαιθυλενίου (PEO), η πολυ-βινυλική αλκοόλη (PVA) και η πολυκαπρολακτόνη (PCL), τα οποία βελτιώνουν σημαντικά τις ρεολογικές ιδιότητες, αλλά και την ικανότητα φόρτισης του πολυμερικού διαλύματος, καθιστώντας πιο εύκολη την παραγωγή των ινών. Τα πολυμερή αυτά είναι βιοαποικοδομήσιμα και εγκεκριμένα για εσωτερική χρήση στα φαρμακευτικά σκευάσματα (Toskas G *et al.*, 2011; Kikionis S *et al.*, 2015).

Ένα μειονέκτημα των καινοτόμων αυτών νανοδομών δημιουργείται στην περίπτωση υψηλού βαθμού ενσωμάτωσης των φαρμάκων στις νανοΐνες, η οποία μπορεί να προκαλέσει ανομοιόμορφη κατανομή της δραστικής ουσίας σε αυτές και να οδηγήσει έτσι σε μια αρχική αποδέσμευση μεγάλης ποσότητας δραστικής ουσίας (Garg T *et al.*, 2014).

A.8. ΣΤΟΧΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Τα *per os* χορηγούμενα φαρμακευτικά σκευάσματα και ειδικότερα τα δισκία και τα καψάκια, αποτελούν εδώ και δεκαετίες τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες φαρμακοτεχνικές μορφές για τη συστηματική χορήγηση φαρμάκων. Συγκεκριμένα, φαίνεται να υπάρχει σημαντικό ενδιαφέρον στη σύγχρονη θεραπευτική για δισκία και καψάκια ελεγχόμενης αποδέσμευσης, ο σχεδιασμός των οποίων αποσκοπεί στον έλεγχο της αποδέσμευσης της δραστικής ουσίας, τόσο ως προς το ρυθμό/χρόνο όσο και στη στόχευση και επιπλέον στη διατήρηση σταθερών επιπέδων του φαρμάκου στο αίμα, βελτιώνοντας έτσι το θεραπευτικό αποτέλεσμα. Παράλληλα, η αυξανόμενη ανάγκη για την ανεύρεση νέων ανανεώσιμων πηγών πολυμερικών ουσιών, έστρεψε το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας προς τους πολυσακχαρίτες θαλάσσιας προέλευσης, δεδομένης της δυνητικής χρησιμότητάς τους στο σχεδιασμό συστημάτων ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκων.

Ο στόχος της παρούσας εργασίας είναι διττός και περιλαμβάνει την παρασκευή, με τη χρήση καινοτόμων τεχνικών, δισκίων ελεγχόμενης αποδέσμευσης της μελατονίνης, καθώς και πολυμερικών νανοϊνών, οι οποίες επίσης θα περιέχουν ως δραστική ουσία τη μελατονίνη και θα τοποθετηθούν σε απλά και εντεροδιαλυτά καψάκια. Τα ελεγχόμενης αποδέσμευσης αυτά συστήματα αποσκοπούν τόσο στην αντιμετώπιση προβλημάτων έναρξης του ύπνου (sleep onset), όσο και στη βελτίωση της ποιότητάς του (sleep quality/maintenance), στοχεύοντας στην ολοκλήρωση της αποδέσμευσης της συνολικής ποσότητας της μελατονίνης εντός διαστήματος οχτώ ωρών.

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ακολουθεί αναφορά και περιγραφή των υλικών, των αντιδραστηρίων, των οργάνων και των συσκευών που χρησιμοποιήθηκαν, καθώς και των πειραματικών μεθόδων και των υπολογισμών για τη στατιστική επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων που εφαρμόστηκαν κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους.

B.2 ΥΛΙΚΑ–ΟΡΓΑΝΑ

B.2.1 Υλικά

✓ ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ

Melatonin TCI (1g), $C_{13}H_{16}N_2O_2$, Mw 232,28, λ_{max} : 278 nm, light and air sensitive, CAS: 73-31-4, #LOT: 402HH-IT, Tokyo Chemical Industry (Tokyo, Japan)

✓ ΕΚΔΟΧΑ

- Ulvan: συλλογή από τα θαλάσσια χλωροφύκη του γένους *Ulvan rigida*, σε βάθος 0.5-1 m, (Μάρτιος 2008, Χαλκίδα, Ελλάδα), Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Avicel PH 102 (500g), ΑΔΕ: 08/121, CAS: 9005-38-3, #LOT: 70731C, Alfa Aesar GmbH & Co KG, (Karlsruhe, Germany)
- Magnesium Stearate, #LOT: 405220, Riedel-De Haen (Hannover, Germany)
- HPMC K 15M, CAS:9004-62-0, #LOT: 17306 DD, Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- HPMC 2910, #LOT: SLBR5196V, Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- Lactose Monohydrate, #LOT: 107660, Merck (Darmstadt, Germany)
- Polyvinylpyrrolidone average, Mw 55,000, #LOT: MKBC3440, Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- Polyvinylpyrrolidone average, Mw 1,300,000, #LOT: MKBR5647V, Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- Cellulose Acetate, Mw 50,000, CAS: 9004-35-7, #LOT: MKBV3462V, Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- Alginic acid sodium salt, low viscosity, #LOT:10170044, Alfa Aesar GmbH & Co KG, (Karlsruhe, Germany)
- Poly(ethylene oxide), Mw 400,000, #LOT: 372773, Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)

- Poly(ethylene oxide), Mw 900,000, #LOT: MKBH0306V, Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)

✓ ΚΑΨΑΚΙΑ

- Καψάκια εντεροδιαλυτά DR caps N° 0, #LOT:53096451, Capsugel (Colmar, France)
- Hard Gelatin Capsules (500 mg), Chemco by Syndesmos (Αχαρναί, Ελλάδα)

✓ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- Δισόξινο φωσφορικό κάλιο (KH_2PO_4 , Potassium Dihydrogen Phosphate), αναλυτικού βαθμού καθαρότητας, Merck (Darmstadt, Germany)
- Μονόξινο φωσφορικό κάλιο (K_2HPO_4 , Di-Potassium Hydrogen Phosphate), αναλυτικού βαθμού καθαρότητας, LachNer (Neratovice, Czech Republic)
- Υδροχλωρικό οξύ (HCl, Hydrochloric acid), αναλυτικού βαθμού καθαρότητας, Fischer Schientific (Loughborough, UK)
- Χλωριούχο Νάτριο (NaCl, Sodium Chloride), αναλυτικού βαθμού καθαρότητας, Carlo Erba Reagenti SpA (Rodano, Italy)
- Ethanol (EtOH), Sigma–Aldrich (Darmstadt, Germany)
- Dichloromethane (DCM), Sigma–Aldrich (Darmstadt, Germany)

B.2.2 Όργανα – Συσκευές

- Αντλία Harvard PHD 2000 (Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA)
- Αναλυτικός ζυγός AE200 Mettler Toledo (Columbus-OH, USA)
- Αναμεικτήρας Turbula T2F (χωρητικότητα έως 2L) WAB (Willy A. Bachofen) (Zofinger, Germany)
- Δοσομετρική πιπέτα Labopette 20-200 μl Hirschmann Labogerate (Eberstadt, Germany)
- Δοσομετρική πιπέτα 100-1000 μl LLG Labware (Meckenheim, Germany)
- Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης PhenomWorld (SEM - Eindhoven, Netherlands)
- Λογισμικό ανάλυσης εικόνας (Phenom Pro Suite/Fibermetric)
- Λουτρό υπερήχων Ultrasonic Cleaner 5200 Branson (Hayward-CA, USA)
- Μαγνητική πλάκα ανάδευσης IKA RCT standard LLG Labware (Meickenheim, Germany)
- Μήτρα δισκιοποίησης 10 mm Maassen GmbH (Reutlingen, Germany)

- Παχύμετρο 6'' Vis Vernier Caliper (Thumbblack, Poland)
- Περιστρεφόμενος συλλέκτης τύμπανο RC-6000 (NaBond Technologies, Hong Kong)
- Πρέσα δισκιοποίησης MP150 Maassen GmbH (Reutlingen, Germany)
- Σκληρόμετρο THB 28 Erweka Apparatebau GmbH (Heusenstamm, Germany)
- Σύριγγες μίας χρήσης 5 ml Pic solution (Grandate, Italy)
- Συσκευή διάλυσης Pharma Test Apparatebau GmbH (Hainburg, Germany)
- Συσκευή μέτρησης pH Multi 3410 Set 1 WTW (Weilheim, Germany)
- Συσκευή περιδήνησης MX-S Vortex Mixer Scilogex (Rocky Hill-CT, USA)
- Συσκευή ηλεκτροϊονοποίησης Gamma High Voltage Research (Ormond Beach, FL, USA)
- Φασματοφωτομετρο NMR Bruker DRX 400 MHz (Billerica, Massachusetts, USA)
- Φασματοφωτόμετρο FTIR Bruker Tensor 27 (Billerica, Massachusetts, USA)
- Φασματοφωτόμετρο UV-Vis model uniSPEC 2 Spectrophotometer LLG Labware (Meckenheim, Germany)
- Φίλτρα κυτταρίνης 0,45 μm Titan 2 HPLC Filter-Lt Brown Sun SRI (Tennessee, USA)

B.3 ΜΕΘΟΔΟΙ

B.3.1 Πειραματικό μέρος μελατονίνης σε pH 1.2

B.3.1.1 Παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος σε pH 1.2

Σε μια ογκομετρική φιάλη των 1000 ml προστίθενται 600 ml απιονισμένου νερού. Ζυγίζεται ποσότητα 4 g NaCl (C=4mg/ml) και μεταφέρεται στην ογκομετρική φιάλη. Η ογκομετρική φιάλη τοποθετείται στη συνέχεια σε λουτρό υπερήχων, προκειμένου να πραγματοποιηθεί η διάλυση του στερεού NaCl. Μετά την πλήρη διάλυση του NaCl, προστίθενται απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραυγή και το περιεχόμενο της ογκομετρικής φιάλης μεταφέρεται σε ποτήρι ζέσεως όπου αναδεύεται με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα και πραγματοποιείται η μέτρηση του pH. Προστίθεται στάγδην 6 ml HCl 37% μέχρι ωστόσο το pH του διαλύματος να γίνει 1.2.

Το ρυθμιστικό αυτό διάλυμα χρησιμοποιείται τόσο στην κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, όσο και στον έλεγχο του ρυθμού διάλυσης του φαρμάκου.

B.3.1.2 Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων – Καμπύλη αναφοράς σε pH 1.2

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 της μελατονίνης από τα δισκία και τα καψάκια.

Παρασκευή stock διαλύματος σε pH 1.2

Για την παρασκευή του *stock* διαλύματος σε pH 1.2 ζυγίζονται 10 mg μελατονίνης και τοποθετούνται σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml, που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα pH 1.2, μέχρι τη χαραγή. Η ογκομετρική φιάλη τοποθετείται στη συνέχεια σε λουτρό υπερήχων για την πλήρη διάλυση της ουσίας, οπότε και προκύπτει πρότυπο διάλυμα (*stock solution*) με συγκέντρωση 0.2 mg/ml. Από το πρότυπο αυτό διάλυμα (*stock solution*) προέκυψαν με διαδοχικές αραιώσεις τα πρότυπα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία της καμπύλης αναφοράς.

Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων για καμπύλη αναφοράς της μελατονίνης σε pH 1.2

Για το σκοπό αυτό, ζυγίζονται 10 mg μελατονίνης και τοποθετούνται σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα με pH 1.2 (*stock solution*) (C=0.2 mg/ml). Στη συνέχεια λαμβάνεται ποσότητα από το παραπάνω διάλυμα και αραιώνεται σε 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος με pH 1.2 και παρασκευάζονται συνολικά 5 πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων 0.2 μg/ml, 1 μg/ml, 2 μg/ml, 3 μg/ml και 4 μg/ml. Τα πρότυπα αυτά διαλύματα μετρώνται στη συνέχεια στο φασματοφωτόμετρο για τη δημιουργία της καμπύλης αναφοράς σε pH 1.2.

Πίνακας B1: Χαρακτηριστικά της καμπύλης αναφοράς της μελατονίνης σε pH 1.2

| Μέσο Διάλυσης | Κλίση $a \pm SD$ | Τεταγμένη επί την αρχή | r^2 |
|---------------|-------------------|------------------------|--------|
| pH=1.2 | 25.232 \pm 0.21 | 0.0013 \pm 0.004 | 0.9992 |

B.3.2 Πειραματικό μέρος μελατονίνης σε pH 6.8

B.3.2.1 Παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος pH 6.8 από ρυθμιστικό διάλυμα με pH 9

Παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος pH 9

Σε μια ογκομετρική φιάλη των 1000 ml προστίθεται 600 ml απιονισμένο νερό. Ζυγίζεται ποσότητα 24.6 g K_2HPO_4 και προστίθεται στην ογκομετρική φιάλη. Η ογκομετρική φιάλη τοποθετείται στη συνέχεια σε λουτρό υπερήχων, προκειμένου να πραγματοποιηθεί η διάλυση του στερεού K_2HPO_4 . Μετά την πλήρη διάλυση του K_2HPO_4 , προστίθενται απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή της ογκομετρικής φιάλης.

Παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος pH 6.8

Για την παρασκευή διαλύματος pH 6.8 αναμιγνύονται ίσοι όγκοι ρυθμιστικού διαλύματος pH 1.2 και ρυθμιστικού διαλύματος pH 9. Συγκεκριμένα, για την παρασκευή 1000 ml διαλύματος με pH 6.8, τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως 500 ml ρυθμιστικού διαλύματος pH 1.2 και 500 ml ρυθμιστικού διαλύματος pH 9. Το διάλυμα στη συνέχεια αναδεύεται, με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα και πραγματοποιείται η μέτρηση του pH.

Το ρυθμιστικό αυτό διάλυμα χρησιμοποιείται τόσο στην κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, όσο και στον έλεγχο του ρυθμού διάλυσης του φαρμάκου.

B.3.2.2 Παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος pH 6.8 από πρότυπο διάλυμα NaOH 0.2N

Παρασκευή πρότυπου διαλύματος NaOH 0.2N

Σε μια ογκομετρική φιάλη των 1000 ml προστίθεται 600 ml απιονισμένο νερό. Ζυγίζεται ποσότητα 8 g NaOH και προστίθενται στην ογκομετρική φιάλη. Η ογκομετρική φιάλη τοποθετείται στη συνέχεια σε λουτρό υπερήχων, προκειμένου να πραγματοποιηθεί η διάλυση του στερεού NaOH. Μετά την πλήρη διάλυση του NaOH, προστίθενται απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή της ογκομετρικής φιάλης.

Παρασκευή ρυθμιστικού διαλύματος pH 6.8

Σε μια ογκομετρική φιάλη των 1000 ml προστίθεται 600 ml απιονισμένο νερό. Ζυγίζεται ποσότητα 6.8 g KH_2PO_4 και προστίθενται στην ογκομετρική φιάλη. Η ογκομετρική φιάλη τοποθετείται στη συνέχεια σε λουτρό υπερήχων, προκειμένου να πραγματοποιηθεί η διάλυση του στερεού KH_2PO_4 . Μετά την πλήρη διάλυση του KH_2PO_4 , προστίθενται απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή της ογκομετρικής φιάλης και το

περιεχόμενο της ογκομετρικής φιάλης μεταφέρεται σε ποτήρι ζέσεως όπου αναδεύεται με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα και πραγματοποιείται η μέτρηση του pH. Τέλος με τη βοήθεια ογκομετρικού σωλήνα προστίθενται NaOH 0.2N μέχρι ωσότου το pH του διαλύματος να γίνει 6.8.

Το ρυθμιστικό αυτό διάλυμα χρησιμοποιείται τόσο στην κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, όσο και στον έλεγχο του ρυθμού διάλυσης του φαρμάκου.

B.3.2.3 Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων – Καμπύλη αναφοράς σε pH 6.8

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 της δραστικής ουσίας από τα δισκία και τα καψάκια. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των *stock solutions* και των πρότυπων διαλυμάτων ήταν η ίδια τόσο για το ρυθμιστικό διάλυμα με pH 6.8, που παρασκευάστηκε από ρυθμιστικό διάλυμα με pH 9, όσο και για το ρυθμιστικό διάλυμα με pH 6.8, που παρασκευάστηκε από πρότυπο διάλυμα NaOH συγκέντρωσης 0.2N.

Παρασκευή stock διαλύματος σε pH 6.8

Για την παρασκευή του *stock* διαλύματος σε pH 6.8, ζυγίζονται 10 mg μελατονίνης και τοποθετούνται σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml, που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα με pH 6.8, μέχρι τη χαραγή. Η ογκομετρική φιάλη τοποθετείται στη συνέχεια σε λουτρό υπερήχων για την πλήρη διάλυση της ουσίας, οπότε και προκύπτει πρότυπο διάλυμα (*stock solution*) με συγκέντρωση 0.2 mg/ml. Από το πρότυπο αυτό διάλυμα (*stock solution*) προέκυψαν με διαδοχικές αραιώσεις τα πρότυπα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία της καμπύλης αναφοράς.

Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων για καμπύλη αναφοράς της μελατονίνης σε pH 6.8

Για το σκοπό αυτό, ζυγίζονται 10 mg μελατονίνης και τοποθετούνται σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα με pH 6.8 (*stock solution*) (C=0.2 mg/ml). Στη συνέχεια λαμβάνεται ποσότητα από το παραπάνω διάλυμα και αραιώνεται σε 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος με pH 6.8 και παρασκευάζονται συνολικά 5 πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων 0.1 µg/ml, 0.5 µg/ml, 1 µg/ml, 1.5 µg/ml και 2 µg/ml. Τα πρότυπα αυτά διαλύματα μετρώνται στη συνέχεια στο φασματοφωτόμετρο για τη δημιουργία της καμπύλης αναφοράς σε pH 6.8.

Πίνακας Β2: Χαρακτηριστικά της καμπύλης αναφοράς της μελατονίνης σε pH 6.8

| Μέσο Διάλυσης | Κλίση $\alpha \pm SD$ | Τεταγμένη επί την αρχή | r^2 |
|----------------------|-----------------------|------------------------|--------|
| pH=6.8 από pH 9 | 21.9 \pm 0.23 | 0.0002 \pm 0.0001 | 0.9964 |
| pH=6.8 από NaOH 0.2N | 22.63 \pm 0.19 | 0.0051 \pm 0.0009 | 0.9972 |

B.3.3 Παρασκευή δισκίων

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή των δισκίων στην παρούσα εργαστηριακή μελέτη είναι η ακόλουθη:

- Ζύγιση των συστατικών με τη βοήθεια ζυγού ακριβείας.
- Ανάμειξη όλων των συστατικών, εκτός από το στεατικό μαγνήσιο, στον αναμεικτήρα για 10 λεπτά σε 32 rpm. Στη συνέχεια προστίθεται το στεατικό μαγνήσιο και η ανάμειξη συνεχίζεται για 5 επιπλέον λεπτά σε 32 rpm.
- Ζύγιση της επιθυμητής ποσότητας (200 mg/δισκίο) του μίγματος για την παρασκευή κάθε δισκίου και τοποθετείται σε στρογγυλή μήτρα διαμέτρου 10 mm.
- Απευθείας συμπίεση σε υδραυλική πρέσα με τέτοια πίεση, έτσι ώστε η προκύπτουσα σκληρότητα των δισκίων να κυμαίνεται μεταξύ 8-10 Kp. Η κατάλληλη πίεση που απαιτείται προκείμενου τα δισκία να έχουν αυτή την επιθυμητή σκληρότητα, υπολογίστηκε πρωτύτερα με έλεγχο σκληρότητας σε σκληρόμετρο, δισκίων τα οποία παρασκευάστηκαν ακριβώς κατά τον ίδιο τρόπο, καθώς και με την ίδια σύσταση, με τα δισκία που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Όλα τα δισκία τα οποία παρασκευάστηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν κυλινδρικού σχήματος.
- Μέτρηση πάχους των δισκίων με τη χρήση παχυμέτρου.

Στους πίνακες που ακολουθούν αναφέρονται οι συνταγές των δισκίων που παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία. Οι παρακάτω συνταγές διαφέρουν τόσο στην ποσοτική, όσο και στην ποιοτική τους σύσταση.

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 1

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|---------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Ulvan | 144 | 72 |
| Lactose monohydrate | 16 | 8 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| HPMC K 15M | 16 | 8 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 2

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|---------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Ulvan | 16 | 8 |
| Lactose monohydrate | 144 | 72 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| HPMC K 15M | 16 | 8 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 3

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|--------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Ulvan | 176 | 88 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 4

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|--------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Ulvan | 144 | 72 |
| PVP (M.W 55.000) | 16 | 8 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| HPMC K15 | 16 | 8 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 5

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|---------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Ulvan | 160 | 80 |
| Lactose monohydrate | 16 | 8 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 6

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|---------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Ulvan | 16 | 8 |
| Lactose monohydrate | 160 | 80 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 7

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|--------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Ulvan | 160 | 80 |
| PVP (M.W 55.000) | 16 | 8 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 8

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|--------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Ulvan | 16 | 8 |
| PVP (M.W 55.000) | 144 | 72 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| HPMC K15 | 16 | 8 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 9

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|--------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Ulvan | 16 | 8 |
| PVP (M.W 55.000) | 160 | 80 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 10

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|---------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Sodium Alginate | 144 | 72 |
| Lactose monohydrate | 16 | 8 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| HPMC K15 | 16 | 8 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 11

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|---------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Sodium Alginate | 16 | 8 |
| Lactose monohydrate | 144 | 72 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| HPMC K15 | 16 | 8 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ 12

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|--------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 1 |
| Sodium Alginate | 176 | 88 |
| Avicel PH 102 | 20 | 10 |
| Magnesium Stearate | 2 | 1 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 100 |

B.3.4 Παρασκευή ναοϊνών για την πλήρωση καψακίων

Στην παρούσα μελέτη παρασκευάστηκαν από τον Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων ναοϊνώδη υποστρώματα (100 mg) από πολυμερικά υλικά, στα οποία έχει ενσωματωθεί η μελατονίνη. Τα ναοϊνώδη αυτά υποστρώματα εισήχθησαν στη συνέχεια στο εσωτερικό καψακίων σκληρής ζελατίνης και εντεροδιαλυτών καψακίων, όπου και μελετήθηκε η αποδέσμευση της μελατονίνης.

B.3.4.1 Ηλεκτροϊνοποίηση

Όλα τα διαλύματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των ναοϊνών παρασκευάστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου υπό ανάδευση για 24 ώρες προκειμένου να εξασφαλιστεί η ομοιογένειά τους. Η διαδικασία της ηλεκτροϊνοποίησης πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μιας γεννήτριας τροφοδοσίας υψηλής τάσης Gamma High Voltage Research, με μέγιστη τάση τα 50 kV. Τα πολυμερικά διαλύματα εισήχθησαν στη συνέχεια σε σύριγγες μίας χρήσης των 10 mL, όπου ήταν εξοπλισμένες με βελόνες τύπου 23G και οι οποίες τοποθετήθηκαν σε μια οριζόντια τοποθετημένη αντλία Harvard PHD 2000⁺. Οι παραγόμενες ναοϊνες συλλέχθηκαν σε έναν περιστρεφόμενο κυλινδρικό συλλέκτη RC-6000, ο οποίος ήταν τυλιγμένος με ένα φύλλο αλουμινίου, με ταχύτητα περιστροφής 400 rpm. Η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία κατά τη διάρκεια της παρασκευής των ναοϊνών ήταν 20 ± 2 °C και $60 \pm 5\%$ αντίστοιχα.

B.3.4.2 Παρασκευή νανοϊνών οξικής κυτταρίνης-μελατονίνης (CA-MLT)

Τα διαλύματα ηλεκτροϊνοποίησης παρασκευάστηκαν με τη διάλυση οξικής κυτταρίνης (CA) συγκέντρωσης 10% w/v σε ακετόνη. Στη συνέχεια η μελατονίνη προστέθηκε στα πολυμερικά διαλύματα σε συγκεντρώσεις 1.01% και 2.04% w/w (βάρος/βάρος πολυμερούς), προκειμένου να παρασκευαστούν νανοΐνες με 1% και 2% w/w συνολική συγκέντρωση μελατονίνης (συνταγές CA1 και CA2, αντίστοιχα). Η εφαρμοζόμενη τάση, η απόσταση του άκρου της βελόνας από το συλλέκτη και ο ρυθμός τροφοδοσίας του διαλύματος σταθεροποιήθηκαν στα 20 kV, 10 cm και 1 mL / h, αντίστοιχα.

B.3.4.3 Παρασκευή νανοϊνών πολυβινυλοπυρρολιδόνης-μελατονίνης (PVP-MLT)

Το διάλυμα ηλεκτροϊνοποίησης παρασκευάστηκε με τη διάλυση πολυβινυλοπυρρολιδόνης (PVP) συγκέντρωσης 10% w/v σε αιθανόλη (EtOH). Στη συνέχεια η μελατονίνη προστέθηκε στο πολυμερικό διάλυμα σε συγκέντρωση 1.01% w/w (βάρος/βάρος πολυμερούς), προκειμένου να παρασκευαστούν νανοΐνες με 1% w/w συνολική συγκέντρωση μελατονίνης (συνταγή PV1). Η εφαρμοζόμενη τάση, η απόσταση του άκρου της βελόνας από το συλλέκτη και ο ρυθμός τροφοδοσίας του διαλύματος σταθεροποιήθηκαν στα 20 kV, 10 cm και 1 mL / h, αντίστοιχα.

B.3.4.4 Παρασκευή νανοϊνών υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης-μελατονίνης, παρουσία οξειδίου του πολυαιθυλενίου (HPMC(PEO)-MLT)

Τα διαλύματα ηλεκτροϊνοποίησης παρασκευάστηκαν με τη διάλυση υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης (HPMC) συγκέντρωσης 1% w/v σε ένα σύστημα διαλυτών EtOH:DCM (1:1). Για την παρασκευή των νανοϊνών χρησιμοποιήθηκε οξύδιο του πολυαιθυλενίου (PEO) σε δύο διαφορετικά μοριακά βάρη (M_w 900,000 και M_w 400,000), το οποίο προστέθηκε σε κάθε πολυμερικό διάλυμα σε συγκέντρωση 0.05% w/v προκειμένου να διευκολυνθεί η ηλεκτροϊνοποίηση του HPMC (αναλογία HPMC/PEO 20:1). Στη συνέχεια η μελατονίνη προστέθηκε στα πολυμερικά διαλύματα σε συγκέντρωση 1.01% w/w (βάρος/βάρος πολυμερούς), προκειμένου να παρασκευαστούν νανοΐνες με 1% w/w συνολική συγκέντρωση μελατονίνης (συνταγές HP1 και HP2, αντίστοιχα). Η εφαρμοζόμενη τάση, η απόσταση του άκρου της βελόνας από το συλλέκτη και ο ρυθμός τροφοδοσίας του διαλύματος σταθεροποιήθηκαν στα 20 kV, 20 cm και 0.5 mL/h, αντίστοιχα.

B.3.4.5 Παρασκευή νανοϊνών οξικής κυτταρίνης/ πολυβινυλοπυρρολιδόνης-μελατονίνης (CA/PVP-MLT)

Τα διαλύματα ηλεκτροϊνοποίησης παρασκευάστηκαν με τη διάλυση οξικής κυτταρίνης συγκέντρωσης 10% w/v σε ακετόνη και τη διάλυση πολυβινυλοπυρρολιδόνης συγκέντρωσης 10% w/v σε αιθανόλη (EtOH). Στη συνέχεια η μελατονίνη προστέθηκε στα πολυμερικά διαλύματα σε συγκεντρώσεις 1.51%, 1.01%, 0.5% και 0% w/w (βάρος/βάρος πολυμερούς). Για την παρασκευή του μείγματος των νανοϊνών πραγματοποιήθηκε ηλεκτροϊνοποίηση με τις βελόνες της σύριγγας να βρίσκονται τοποθετημένες σε αντιπαράλληλη διάταξη, προκειμένου να εξασφαλιστεί η ομοιογενής ανάμειξη των πολυμερικών ινών του CA και του PVP. Τα πολυμερικά διαλύματα CA και PVP συν-ηλεκτροϊνοποιήθηκαν σε πέντε συνδυασμούς προκειμένου να παρασκευαστούν νανοΐνες με 1% w/w συνολική συγκέντρωση μελατονίνης, κατανεμημένη σε διαφορετικές αναλογίες σε κάθε πολυμερικό συστατικό των αναμειγμένων ινών (ο λόγος της μελατονίνης στο σύστημα των αναμειγμένων ινών του CA και PVP είναι 1:1, 3:1, 1:3 1:0 και 0:1, για τις συνταγές CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5, αντίστοιχα). Η εφαρμοζόμενη τάση, η απόσταση του άκρου της βελόνας από το συλλέκτη και ο ρυθμός τροφοδοσίας του διαλύματος σταθεροποιήθηκαν στα 20 kV, 10 cm και 1 mL / h, αντίστοιχα.

B.3.4.6 Χαρακτηρισμός των νανοϊνών

Για την ανάλυση με ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) των παραγόμενων νανοϊνών χρησιμοποιήθηκε ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης Phenom με νήμα βολφραμίου (10 kV) και κατάλληλο υποδοχέα δειγμάτων για τη μείωση του ηλεκτρικού φορτίου. Οι διάμετροι από 100 ίνες κάθε εικόνας SEM μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας ένα ενσωματωμένο λογισμικό ανάλυσης εικόνας (Fibermetrics) και προσδιορίστηκε η μέση διάμετρος των ινών. Η χημική σύσταση των ινών αναλύθηκε με φασματοσκοπία υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier (FTIR), χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της εξασθενημένης ολικής ανάκλασης (ATR). Η χημική ακεραιότητα της μελατονίνης μετά από την ηλεκτροϊνοποίηση αναλύθηκε με φασματοσκοπία NMR.

Στους πίνακες που ακολουθούν αναφέρονται οι συνταγές των καψακίων που παρασκευάστηκαν και μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία. Οι παρακάτω συνταγές διαφέρουν τόσο στην ποσοτική, όσο και στην ποιοτική τους σύσταση.

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ CA1

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|---------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 1 | 1 |
| CA | 99 | 99 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 100 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ CA2

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|---------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 2 | 2 |
| CA | 98 | 98 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 100 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ PV1

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|--------------------|------------|--------------------|
| Melatonin | 1 | 1 |
| PVP (Mw 1,300,000) | 99 | 99 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 100 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ HP1

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|---------------------|------------------------|--------------------|
| Melatonin | 1 | 1 |
| HPMC 2910 | 94.05 (1 mg of MLT) | 94.05 |
| PEO (Mw 900,000) | 4.95 (0 mg of MLT) | 4.95 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 100 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ HP2

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|---------------------|------------------------|--------------------|
| Melatonin | 1 | 1 |
| HPMC 2910 | 94.05 (1 mg of MLT) | 94.05 |
| PEO (Mw 400,000) | 4.95 (0 mg of MLT) | 4.95 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 100 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ CAPV1

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|-----------------------|-------------------------|--------------------|
| Melatonin | 1 | 1 |
| CA | 49.5 (0.5 mg of MLT) | 49.5 |
| PVP (Mw 1,300,000) | 49.5 (0.5 mg of MLT) | 49.5 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 100 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ CAPV2

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|-----------------------|--------------------------|--------------------|
| Melatonin | 1 | 1 |
| CA | 49.5 (0.75mg of MLT) | 49.5 |
| PVP (Mw 1,300,000) | 49.5 (0.25 mg of MLT) | 49.5 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 100 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ CAPV3

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|-----------------------|--------------------------|--------------------|
| Melatonin | 1 | 1 |
| CA | 49.5 (0.25 mg of MLT) | 49.5 |
| PVP (Mw 1,300,000) | 49.5 (0.75 mg of MLT) | 49.5 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 100 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ CAPV4

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|-----------------------|-----------------------|--------------------|
| Melatonin | 1 | 1 |
| CA | 49.5 (1 mg of MLT) | 49.5 |
| PVP (Mw 1,300,000) | 49.5 (0 mg of MLT) | 49.5 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 100 | 100 |

✓ ΣΥΝΤΑΓΗ CAPV5

| Συστατικά | Βάρος (mg) | Περιεκτικότητα (%) |
|-----------------------|-----------------------|--------------------|
| Melatonin | 1 | 1 |
| CA | 49.5 (0 mg of MLT) | 49.5 |
| PVP (Mw 1,300,000) | 49.5 (1 mg of MLT) | 49.5 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 100 | 100 |

B.3.5 Συγκεντρωτικοί πίνακες συνταγών

B.3.5.1 Δισκία

| ΣΥΝΤΑΓΗ (mg) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| MLT | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Ulvan | 144 | 16 | 176 | 144 | 160 | 16 | 160 | 16 | 16 | - | - | - |
| Lactose monohydrate | 16 | 144 | - | - | 16 | 160 | - | - | - | 16 | 144 | - |
| Avicel PH 102 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| HPMC K15 | 16 | 16 | - | 16 | - | - | - | 16 | - | 16 | 16 | - |
| Magnesium Stearate | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| PVP (Mw 55,000) | - | - | - | 16 | - | - | 16 | 144 | 160 | - | - | - |
| Sodium Alginate | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 144 | 16 | 176 |
| ΣΥΝΟΛΟ | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 |

B.3.5.2 Καψάκια

| ΣΥΝΤΑΓΗ (mg) | CA1 | CA2 | PV1 | HP1 | HP2 | CAPV1 | CAPV2 | CAPV3 | CAPV4 | CAPV5 |
|-----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| MLT | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| CA | 99.0 (1 mg of MLT) | 98.0 (2 mg of MLT) | - | - | - | 49.5 (0.5 mg of MLT) | 49.5 (0.75mg of MLT) | 49.5 (0.25 mg of MLT) | 49.5 (1 mg of MLT) | 49.5 (0 mg of MLT) |
| PVP (Mw 1,300,000) | - | - | 99.0 (1 mg of MLT) | - | - | 49.5 (0.5 mg of MLT) | 49.5 (0.25 mg of MLT) | 49.5 (0.75 mg of MLT) | 49.5 (0 mg of MLT) | 49.5 (1 mg of MLT) |
| HPMC 2910 | - | - | - | 94.05 (1 mg of MLT) | 94.05 (1 mg of MLT) | - | - | - | - | - |
| PEO (Mw 900,000) | - | - | - | 4.95 (0 mg of MLT) | - | - | - | - | - | - |
| PEO (Mw 400,000) | - | - | - | - | 4.95 (0 mg of MLT) | - | - | - | - | - |
| ΣΥΝΟΛΟ | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

B.3.6 Προσδιορισμός της αποδέσμευσης της μελατονίνης από τα δισκία και τα καψάκια

Η αποδέσμευση της μελατονίνης προσδιορίστηκε σε συσκευή διάλυσης με τις μεθόδους του περιστρεφόμενου πτερυγίου και καλαθίσκου για τα προαναφερθέντα δισκία και καψάκια αντίστοιχα και στη συνέχεια επακόλουθη μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων που ελήφθησαν σε φασματοφωτόμετρο UV-Vis. Για τη μελέτη της διάλυσης χρησιμοποιήθηκαν:

- Ποτήρια κυλινδρικού σχήματος με σφαιρικό πυθμένα, ύψους 16 cm και εσωτερικής διαμέτρου 10 cm.
 - ❖ Για τα δισκία: Χρησιμοποιήθηκαν 450 ml ρυθμιστικού διαλύματος με pH 1.2 για τις πρώτες 2 ώρες και στη συνέχεια έγινε προσθήκη 450 ml ρυθμιστικού διαλύματος με pH 9 (έως τελικό όγκο 900 ml), έτσι ώστε το τελικό pH του διαλύματος να γίνει ίσο με 6.8 για τις υπόλοιπες 8 ώρες.
 - ❖ Για τα καψάκια: Χρησιμοποιήθηκαν 450 ml ρυθμιστικού διαλύματος με pH 1.2 για οκτώ ώρες και 450 ml ρυθμιστικού διαλύματος με pH 6.8 για επίσης οκτώ ώρες. Η παρασκευή του ρυθμιστικού διαλύματος με pH 6.8 έγινε από πρότυπο διάλυμα NaOH με συγκέντρωση 0.2 N.
- Θερμοκρασία $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$

Η περιστροφή των πτερυγίων (USP Apparatus II) για τα δισκία και των καλαθίσκων (USP Apparatus I) για τα καψάκια ρυθμίστηκε σε 50 rpm. Η δειγματοληψία γινόταν αρχικά κάθε μισή ώρα για τις πρώτες 2 ώρες για τα δισκία και κάθε μισή ώρα για τις πρώτες 2.5 ώρες για τα καψάκια και στη συνέχεια και για τα δύο κάθε μια ώρα μέχρι τη συμπλήρωση 8 ωρών. Ο όγκος του δείγματος ήταν 5 ml και μετά από κάθε δειγματοληψία η ποσότητα αυτή αναπληρωνόταν με 5 ml ρυθμιστικού διαλύματος, προκειμένου να παραμείνει ο όγκος σταθερός καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος. Στη συνέχεια, ακολούθησε διήθηση των δειγμάτων από φίλτρα κυτταρίνης, διαμέτρου 0.45 mm και προσδιορισμός της απορροφητικότητας του διηθήματος με φασματοφωτόμετρο UV-Vis. Η μέτρηση της μέγιστης απορρόφησης των διαλυμάτων των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε σε μήκος κύματος $\lambda_{\text{max}} = 278 \text{ nm}$ και στη συνέχεια μετά από σύγκριση με τη μέγιστη απορρόφηση της αντίστοιχης συγκέντρωσης του διαλύματος αναφοράς, προσδιορίστηκε ποσοτικά η αποδεσμευμένη μελατονίνη.

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

B.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

B.4.1 Συντελεστής Επάρκειας Διάλυσης (Dissolution Efficiency, DE%)

Η ανάγκη για μελέτη της βιοδιαθεσιμότητας και της αποδέσμευσης των δραστικών ουσιών οδήγησε στην ανεύρεση πολλών μεθόδων *in vitro* ελέγχου του ρυθμού διάλυσης. Η συνήθης μέθοδος αξιολόγησης είναι η σύγκριση του χρόνου που απαιτείται για την αποδέσμευση ενός συγκεκριμένου ποσοστού της δραστικής ουσίας από τη φαρμακοτεχνική μορφή, κάτι το οποίο αποδίδεται από τις παραμέτρους $t_{20\%}$, $t_{50\%}$ και $t_{90\%}$, όπου αντιστοιχούν στη χρονική στιγμή στην οποία έχει αποδεσμευθεί το 20%, το 50% και το 90% της δραστικής ουσίας αντίστοιχα (Khan KA, 1975).

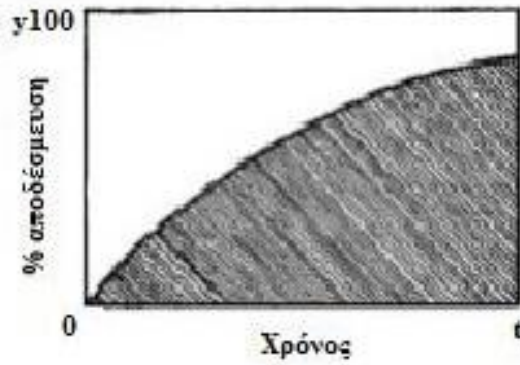
Μια άλλη παράμετρος κατάλληλη για την αξιολόγηση του *in vitro* ρυθμού διάλυσης μιας δραστικής ουσίας, προτάθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1970 και είναι αυτή του συντελεστή επάρκειας διάλυσης (Dissolution Efficiency, DE%). Πιο συγκεκριμένα, ο συντελεστής αυτός αποτελεί το λόγο της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη αποδέσμευσης-χρόνου προς την επιφάνεια του ορθογωνίου που ορίζεται από το 100% της αποδέσμευσης και της χρονικής στιγμής που γίνεται ο υπολογισμός του συντελεστή (Khan KA, 1975).

Στην περίπτωση των δισκίων, η μαθηματική έκφραση του συντελεστή επάρκειας διάλυσης (DE%) είναι η ακόλουθη:

$$DE\% = \frac{AUC}{y_{100}} t * 100\%$$

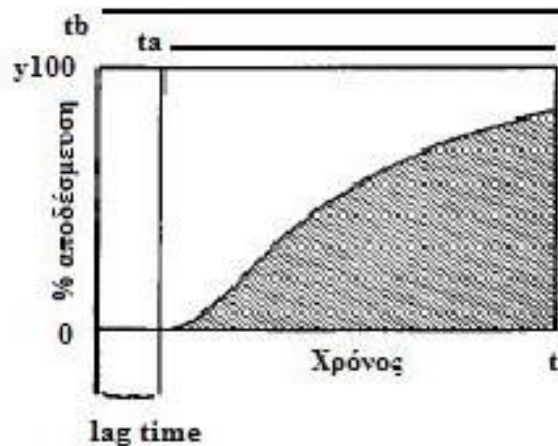
Όπου,

- y_{100} : είναι το 100% της διάλυσης της δραστικής ουσίας
- t : ο χρόνος της τελευταίας δειγματοληψίας



Σχήμα Β1: Διαγραμματική απεικόνιση υπολογισμού του συντελεστή επάρκειας διάλυσης (DE%) στα δισκία (Khan KA, 1975)

Στην περίπτωση των καψακίων, εμφανίζεται ένας χρόνος υστέρησης (lag time) κατά την αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τη φαρμακοτεχνική μορφή, όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα.



Σχήμα Β2: Διαγραμματική απεικόνιση υπολογισμού του συντελεστή επάρκειας διάλυσης (DE%) στα καψάκια (Khan KA, 1975)

Στην περίπτωση που είναι επιθυμητή η σύγκριση του περιεχομένου πλήρωσης διάφορων καψακίων και με την υπόθεση πως δεν υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ του περιεχομένου των καψακίων και του περιβλήματος του καψακίου, ο χρόνος υστέρησης θα μπορούσε να αποκλειστεί από τον υπολογισμό του συντελεστή επάρκειας διάλυσης (Dissolution Efficiency, DE%) και η % αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τα καψάκια θα δίνεται από τον τύπο:

$$DE\% = \frac{AUC}{y_{100}} t_a * 100\%$$

Όπου, t_a : ο χρόνος από τη στιγμή που ξεκινά η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας

Ωστόσο αν δοκιμάζεται ένα τελικό προϊόν, π.χ δείγματα καψακίων από την παρτίδα παραγωγής ή από τις συνθήκες αποθήκευσης, ο χρόνος υστέρησης θα πρέπει να συμπεριληφθεί στους υπολογισμούς του συντελεστή επάρκειας διάλυσης (Dissolution Efficiency, DE%) και η % αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τα καψάκια θα δίνεται από τον τύπο:

$$DE\% = \frac{AUC}{y_{100}} t_b * 100\%$$

Όπου, t_b : ο χρόνος από τη στιγμή εισαγωγής του καψακίου στον οργανισμό

Για τη σωστή εφαρμογή του συντελεστή επάρκειας διάλυσης (DE%) πρέπει να ληφθούν υπόψη τα ακόλουθα σημεία:

- Η συνολική ποσότητα της δραστικής ουσίας θα πρέπει να είναι διαθέσιμη για αποδέσμευση από τη φαρμακοτεχνική μορφή.
- Ο δείκτης DE% μπορεί να λάβει ένα εύρος τιμών, ανάλογα με τα χρονικά διαστήματα που επιλέγονται. Ο δείκτης DE% θα πρέπει να είναι μεγαλύτερος από τη χρονική στιγμή $t_{90\%}$, ώστε να μπορεί να ληφθεί υπόψη το μεγαλύτερο μέρος από τα αποτελέσματα του ελέγχου του ρυθμού διάλυσης, κάτι που είναι ιδιαίτερα δύσκολο σε δραστικές ουσίες που αποδεσμεύονται με αργό ρυθμό. Σε όλες τις περιπτώσεις τα χρονικά διαστήματα που επιλέγονται πρέπει να είναι συνεχή.
- Ο δείκτης DE% αποτελεί μια συγκριτική παράμετρο και πρέπει να αναφέρεται πάντα σε συνδυασμό με τον όρο $t_{50\%}$, ή κατά προτίμηση τον όρο $t_{90\%}$.

Ο δείκτης DE% επιτρέπει την εκτίμηση των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας αποδέσμευσης με μία μόνο αριθμητική τιμή, γεγονός που επιτρέπει την εύκολη σύγκριση μεταξύ διαφορετικών πειραμάτων αποδέσμευσης. Επιπρόσθετα, όταν είναι επιθυμητό να δειχθεί η επίδραση μιας παραμέτρου της διαδικασίας στο προφίλ διάλυσης της δραστικής ουσίας (π.χ η επίδραση της πίεσης που χρησιμοποιήθηκε για τη συμπίεση των δισκίων), η χρήση του δείκτη DE% φαίνεται να δίνει πιο ρεαλιστικά αποτελέσματα, καθώς λαμβάνει υπόψη το συνολικό προφίλ της αποδέσμευσης και της διάλυσης της δραστικής ουσίας, ενώ αντίθετα οι παράμετροι $t_{20\%}$, $t_{50\%}$ και $t_{90\%}$, λαμβάνουν υπόψη μόνο ένα σημείο από τη γραφική παράσταση.

Ο συντελεστής επάρκειας διάλυσης (DE%) μπορεί να συσχετισθεί με τα *in vivo* επίπεδα

της δραστικής ουσίας. Όπως είναι γνωστό, η *in vivo* απορρόφηση μιας δραστικής ουσίας μετά από *per os* χορήγηση, σχετίζεται άμεσα με τη συγκέντρωση της ουσίας στα γαστρεντερικά υγρά, καθώς και με τη χρονική διάρκεια παραμονής της ουσίας σε μια κρίσιμη περιοχή απορρόφησης του γαστρεντερικού σωλήνα. Ο δείκτης DE% φαίνεται να είναι σε συνάρτηση με αυτές τις δύο παραμέτρους και έτσι τα *in vitro* πειραματικά δεδομένα να προσομοιάζουν σε μεγάλο βαθμό τα *in vivo* επίπεδα της δραστικής ουσίας στο πλάσμα (Khan KA, 1975).

B.4.2 Παράμετροι Ομοιότητας και Διαφοράς (f_1 , f_2)

Λόγω της μεγάλης σημασίας που έχει η διάλυση μιας δραστικής ουσίας στην *in vivo* απορρόφησης της, ο *in vitro* έλεγχος διάλυσης θεωρείται ένας από τους σημαντικότερους ελέγχους ποιότητας των στερεών φαρμακοτεχνικών μορφών και συνεισφέρει σημαντικά στην εκτίμηση της *in vivo* συμπεριφοράς του φαρμάκου, ενώ κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την αντικατάσταση των μελετών βιοϊσοδυναμίας.

Σύμφωνα με τις οδηγίες του Αμερικάνικου Οργανισμού Φαρμάκων και Τροφίμων (Food & Drug Administration, FDA) και του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων (European Medicines Agency, EMA) και με βάση τις προδιαγραφές διάλυσης που περιγράφονται στην Ph.Eur. και τη USP, υπάρχουν διάφοροι μέθοδοι για τον *in vivo* έλεγχο διάλυσης μιας δραστικής ουσίας, με την πιο σημαντική να είναι αυτή της σύγκρισης των καμπυλών διάλυσης. Συγκεκριμένα, οι Moore & Flanner πρότειναν μια απλή προσέγγιση, η οποία δεν βασίζεται σε μοντέλα αλλά στη χρήση δεικτών για τη σύγκριση των καμπυλών διάλυσης και συγκεκριμένα τους δείκτες f_1 (difference factor) και f_2 (similar factor) (Σημειώσεις Εργαστηριακών Μαθημάτων και Ασκήσεων Βιοφαρμακευτικής-Φαρμακοκινητικής, 2014; Moore JW *et al.*, 1996).

Οι μαθηματικές εκφράσεις των δεικτών f_1 και f_2 δίνονται παρακάτω:

$$f_1 = \left\{ \frac{[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|]}{[\sum_{t=1}^n R_t]} \right\} * 100$$

$$f_2 = 50 * \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} * 100 \right\}$$

Ο δείκτης διαφοράς f_1 αντανακλά την αθροιστική διαφορά ανάμεσα στις δύο καμπύλες σε όλα τα χρονικά σημεία και αποτελεί μέτρο του σχετικού ανάμεσα στις δύο καμπύλες. Έτσι ο δείκτης f_1 , ο οποίος είναι συνάρτηση της μέσης απόλυτης διαφοράς ανάμεσα στις δύο

καμπύλες, αναφέρεται ως “δείκτης διαφοράς”. Με βάση το δείκτη διαφοράς f_1 δύο καμπύλες διάλυσης θεωρούνται όμοιες, όταν για την τιμή του f_1 ισχύει $0 < f_1 < 15$.

Ο δείκτης f_2 αποτελεί ένα λογαριθμικό μετασχηματισμό του αντιστρόφου της τετραγωνικής ρίζας του αθροίσματος των τετραγώνων των διαφορών (του σφάλματος) σε όλα τα χρονικά σημεία. Σύμφωνα με αυτή την έννοια, ο δείκτης f_2 αποτελεί μέτρο της ομοιότητας στο ποσοστό διάλυσης ανάμεσα στις δύο καμπύλες και αναφέρεται ως “δείκτης ομοιότητας”. Με βάση το δείκτη ομοιότητας, δύο καμπύλες μπορούν να θεωρηθούν όμοιες όταν για την τιμή του f_2 ισχύει $50 < f_2 < 100$. Η τιμή αυτή προσδιορίστηκε εμπειρικά θεωρώντας ότι μια μέση διαφορά δεν μπορεί να είναι μεγαλύτερη από 10%.

Για τη σωστή εφαρμογή των δεικτών f_1 και f_2 , απαραίτητη προϋπόθεση είναι ο υπολογισμός τους να γίνεται λαμβάνοντας υπόψη όλα τα πειραματικά σημεία μέχρι το 85% της διάλυσης και ένα επιπλέον (>85%). Αυτό συμβαίνει διότι τα πειραματικά δεδομένα που βρίσκονται στην περιοχή του plateau, όπου οι διαφορές ανάμεσα στις καμπύλες μειώνονται, θα επηρεάσουν το υπολογιζόμενο μέγεθος των δεικτών f_1 και f_2 (Σημειώσεις Εργαστηριακών Μαθημάτων και Ασκήσεων Βιοφαρμακευτικής-Φαρμακοκινητικής, 2014).

Όταν τα δύο προφίλ είναι όμοια, τότε ο δείκτης ομοιότητας (f_2)=100. Όταν μετρήσεις όλων των χρονικών σημείων έχουν μια μέση διαφορά της τάξεως του 10%, τότε το $f_2=50$. Τόσο ο FDA, όσο και ο EMA αποδέχονται ένα εύρος στη τιμή του f_2 με $50 < f_2 < 100$, το οποίο υποδεικνύει ομοιότητα μεταξύ των δύο προφίλ διάλυσης.

Για τη σύγκριση των προφίλ διάλυσης ισχύουν τα ακόλουθα (Moore JW *et al.*, 1996):

- Για τον προσδιορισμό του προφίλ διάλυσης του κάθε σκευάσματος, απαιτούνται τουλάχιστον 12 μονάδες. Ωστόσο, για την εκτίμηση του παράγοντα ομοιότητας f_2 , χρησιμοποιείται η μέση τιμή της % διάλυσης για κάθε χρονική στιγμή. Αξίζει να σημειωθεί, πως ο συντελεστής μεταβλητότητας μεταξύ των % ποσοστών διάλυσης δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερος από 20% την πρώτη χρονική στιγμή, ενώ στις υπόλοιπες χρονικές στιγμές δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερος από 10%.
- Στις περιπτώσεις που δεν ικανοποιείται η παραπάνω συνθήκη, τότε ο υπολογισμός του δείκτη f_2 μπορεί να γίνει με τη χρήση της τεχνικής bootstrap, όπου γίνεται ο προσδιορισμός ενός διαστήματος εμπιστοσύνης ή η εφαρμογή μεθόδων πολυμεταβλητής ανάλυσης δεδομένων.
- Οι μετρήσεις του ρυθμού διάλυσης μεταξύ του πρωτοτύπου και του υπό εξέταση σκευάσματος, πρέπει να γίνονται κάτω από τις ίδιες πειραματικές συνθήκες. Τα χρονικά σημεία λήψης των μετρήσεων και για τα δύο προφίλ πρέπει να είναι τα ίδια, και συγκεκριμένα για τα σκευάσματα άμεσης αποδέσμευσης είναι στα 15, 30, 45 και 60 λεπτά, ενώ για τα σκευάσματα παρατεταμένης αποδέσμευσης είναι 1, 2, 3, 5 και 8 ώρες.

- Επειδή οι τιμές του δείκτη ομοιότητας f_2 είναι ευαίσθητες στο πλήθος των χρονικών σημείων λήψης μετρήσεων, επιτρέπεται η λήψη μόνο ενός σημείου μετά το πέρας του 85% της διάλυσης του σκευάσματος αναφοράς. Αυτό γίνεται, επειδή η διάλυση έχει ολοκληρωθεί κατά 85%.
- Στις περιπτώσεις σκευασμάτων πολύ ταχείας αποδέσμευσης, όπου η δραστική ουσία αποδεσμεύεται >85% εντός 15 λεπτών, δεν απαιτείται σύγκριση των προφίλ διάλυσης.
- Σε περίπτωση που ο δείκτης ομοιότητας f_2 λάβει τιμές ίσες ή μεγαλύτερες από 50% (δηλαδή στο εύρος τιμών 50-100), υποδηλώνεται ομοιότητα μεταξύ των καμπυλών διάλυσης.
- Συχνά δημιουργείται το ερώτημα κατά πόσον επηρεάζει το μέγεθος της διαφοράς μεταξύ των προφίλ διάλυσης την *in vitro* συμπεριφορά των σκευασμάτων. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται ο δείκτης f_2 , όπου όταν λαμβάνει τιμές μεγαλύτερες ή ίσες από 50% αποτελεί μια συντηρητική, αλλά αρκετά αξιόπιστη εκτίμηση για την εξασφάλιση της ομοιότητας μεταξύ των εξεταζόμενων σκευασμάτων και επομένως την αποδοτικότητα τους.

B.4.3 Μέσος χρόνος διάλυσης (Mean Dissolution Time, MDT)

Ένας όρος που χρησιμοποιείται ευρύτατα στη βιοφαρμακευτική, αλλά και στη φαρμακοκινητική μελέτη *per os* χορηγούμενων σκευασμάτων είναι αυτός του μέσου χρόνου διάλυσης (MDT), ο οποίος εκφράζει το μέσο χρόνο που απαιτείται για να διαλυθούν τα σωματίδια μιας δραστικής ουσίας (Σημειώσεις Εργαστηριακών Μαθημάτων και Ασκήσεων Βιοφαρμακευτικής-Φαρμακοκινητικής, 2014).

Στις μελέτες διάλυσης, ο μέσος χρόνος διάλυσης μπορεί να υπολογιστεί αριθμητικά από τα πειραματικά δεδομένα, σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση (Rinaki *et al.*, 2003):

$$MDT_{\text{vitro}} = \frac{\int_0^{\infty} t dw}{\int_0^{W^{\infty}} dW(t)}$$

Όπου, $W(t)$: αθροιστικό ποσοστό διάλυσης του φαρμάκου σε χρόνο t

Η εξίσωση αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για τις συγκρίσεις μεταξύ *in vitro* και *in vivo* πειραμάτων. Μια ισοδύναμη εξίσωση για τον υπολογισμό του MDT σε *in vitro* πειραματικά δεδομένα διάλυσης είναι η ακόλουθη:

$$MDT = \frac{ABC}{W^{\infty}}$$

Όπου,

- W_{∞} : η ασύμπτωτη της διαλυμένης δραστικής ουσίας
- ABC: η περιοχή μεταξύ της αθροιστικής καμπύλης διάλυσης και του W_{∞}

Αξίζει να σημειωθεί πως κατά τη σύγκριση των καμπυλών διάλυσης δύο διαφορετικών φαρμακοτεχνικών μορφών, η μορφή εκείνη που παρουσιάζει το μικρότερο μέσο χρόνο διάλυσης (MDT) αποδεδειγμένα γρηγορότερα τη δραστική ουσία σε σχέση με την άλλη.

B.4.4 Μέθοδος Kolomogorov-Smirnov

Ο έλεγχος Kolomogorov-Smirnov είναι μια μη παραμετρική δοκιμασία για τον έλεγχο της ισότητας συνεχών, μονοδιάστατων κατανομών πιθανοτήτων και χρησιμοποιείται για τη σύγκριση της συμβατότητας μιας μεταβλητής ενός δείγματος με την κανονική κατανομή ή κάποια άλλη στατιστική κατανομή. Ο στατιστικός έλεγχος Kolomogorov-Smirnov ποσοτικοποιεί την απόσταση μεταξύ της εμπειρικής συνάρτησης κατανομής του δείγματος και της αθροιστικής συνάρτησης κατανομής της κατανομής αναφοράς ή την απόσταση μεταξύ των εμπειρικών συναρτήσεων κατανομής των υπό εξέταση δειγμάτων.

Η μηδενική κατανομή υπολογίζεται με βάση τη μηδενική υπόθεση (H_0 : τα δείγματα έχουν τον ίδιο μέσο, πχ. $\mu_1 = \mu_2$), με την προϋπόθεση ότι όλα τα δείγματα προέρχονται από την ίδια κατανομή (στην περίπτωση εξέτασης δύο δειγμάτων) ή ότι το δείγμα προέρχεται από την κατανομή αναφοράς (στην περίπτωση εξέτασης ενός μόνο δείγματος). Σε κάθε περίπτωση, οι κατανομές που ακολουθούν μηδενική υπόθεση (H_0) είναι συνεχείς, χωρίς να τίθενται σε περαιτέρω περιορισμούς.

Ο έλεγχος Kolomogorov-Smirnov είναι μια από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μη παραμετρικές μεθόδους σύγκρισης δύο δειγμάτων, καθώς εμφανίζει υψηλή ευαισθησία στις διαφορές τόσο της περιοχής, όσο και του σχήματος της εμπειρικής αθροιστικής κατανομής των δύο δειγμάτων. Οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή του ελέγχου Kolomogorov-Smirnov είναι:

- Το δείγμα να είναι τυχαίο και να προέρχεται από ισοπίθανες παρατηρήσεις
- Οι παρατηρήσεις να είναι αμοιβαία ανεξάρτητες (independence between two samples).

B.4.5 Ανάλυση της διασποράς (ANOVA, Analysis of variance)

Η ανάλυση διασποράς ANOVA βρίσκει εφαρμογή στη σύγκριση των μέσων όρων τριών ή περισσότερων τιμών που αποτελούν τυχαία δείγματα. Ο έλεγχος αυτός βασίζεται στις συγκρίσεις μεταξύ δειγμάτων και ειδικότερα στη σύγκριση της διαδειγματικής (Mean Square Between Groups) με την ενδοδειγματική διασπορά (Mean Square Within Groups). Πρόκειται στην ουσία για τον έλεγχο μιας μηδενικής υπόθεσης, με την προϋπόθεση ότι τα δείγματα έχουν μεταξύ τους τον ίδιο μέσο όρο.

Ο λόγος F της διαδειγματικής προς την ενδοδειγματική διασπορά αποτελεί το στατιστικό μέγεθος με βάση το οποίο γίνεται η εξαγωγή συμπερασμάτων, όσον αφορά την ορθότητα της μηδενικής υπόθεσης.

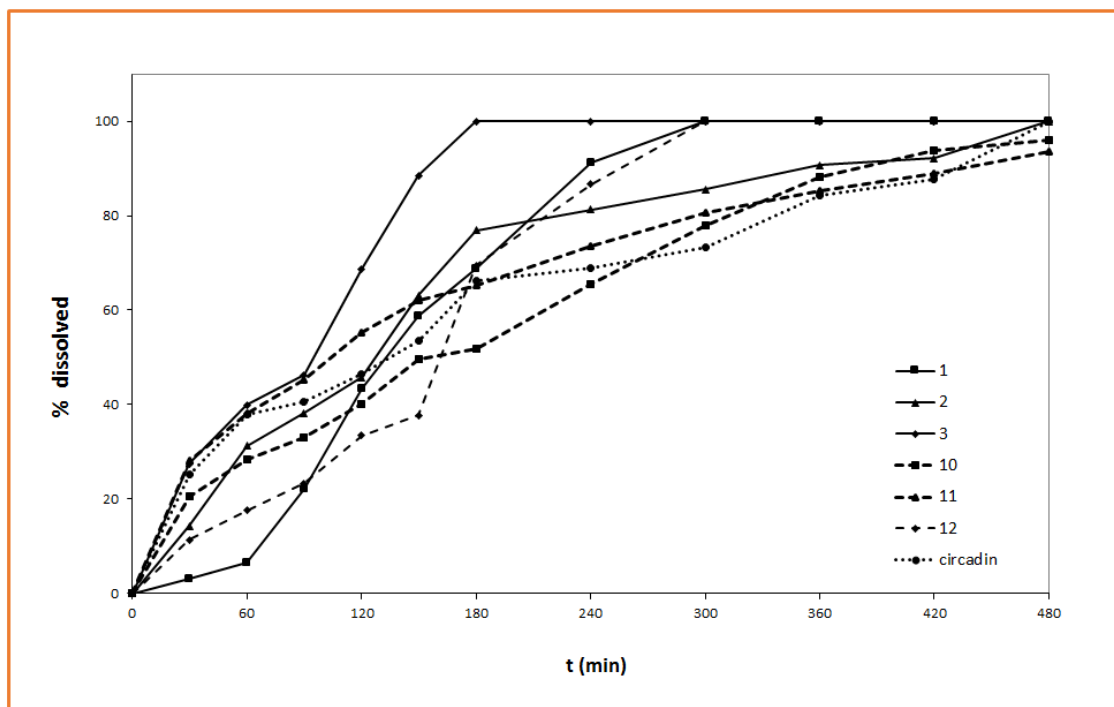
Σαν επίπεδο εμπιστοσύνης επιλέγεται το α ($\alpha=0.05$ για την παρούσα μελέτη), οπότε και προκύπτει πως $(1-\alpha) \times 100 = 95\%$ είναι η πιθανότητα ορθής αποδοχής της μηδενικής υπόθεσης, η οποία εκτιμάται με βάση τα παρακάτω κριτήρια (Στατιστικές Μέθοδοι και Εφαρμογές στη Φαρμακευτική, Σημειώσεις Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών Βιομηχανική Φαρμακευτική, 2017):

- Το λόγο F: Εάν η τιμή του F είναι μεγαλύτερη της κρίσιμης F_{cr} , η οποία εξαρτάται από το επίπεδο εμπιστοσύνης που επιλέχτηκε και τους βαθμούς ελευθερίας (αριθμός και μέγεθος δειγμάτων), σημαίνει ότι η μηδενική υπόθεση απορρίπτεται.
- Την τιμή p: Για τιμές p μικρότερες ή ίσες με την τιμή α , τότε απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση γεγονός που σημαίνει ότι οι διαδειγματικοί μέσοι διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, δηλαδή η διαφορά των δειγμάτων είναι στατιστικά σημαντική. Για τιμές p μεγαλύτερες από την τιμή α , τότε η μηδενική υπόθεση δεν μπορεί να απορριφθεί και τα δείγματα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Γ.1 ΔΙΣΚΙΑ

Γ.1.1 Συγκριτική μελέτη αποδέσμευσης της μελατονίνης από το Circadin® και τις συνταγές 1-12



Σχήμα Γ1: Συγκριτική απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο από τα δισκία των συνταγών 1, 2, 3, 10, 11, 12 και του Circadin® σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 (0-2 ώρες) και σε μέσο διάλυσης με pH 6.8(2-8 ώρες) (SD<2).

Όπως προκύπτει από το σχήμα Γ1, η % αποδέσμευση της μελατονίνης σε pH 1.2 από τις συνταγές 1, 2 και 3, οι οποίες περιείχαν τις ουλβάνες, ήταν σχετικά υψηλότερη σε σύγκριση με την αποδέσμευση του εμπορικά διαθέσιμου σκευάσματος Circadin® σε διάστημα 2 ωρών. Επιπλέον, από τα δισκία της συνταγής 3, όπου οι ουλβάνες αποτελούν το κύριο συστατικό, παρατηρήθηκε μία υψηλού ποσοστού (88.5%) και ταχεία (2.5 ώρες) αποδέσμευση της μελατονίνης.

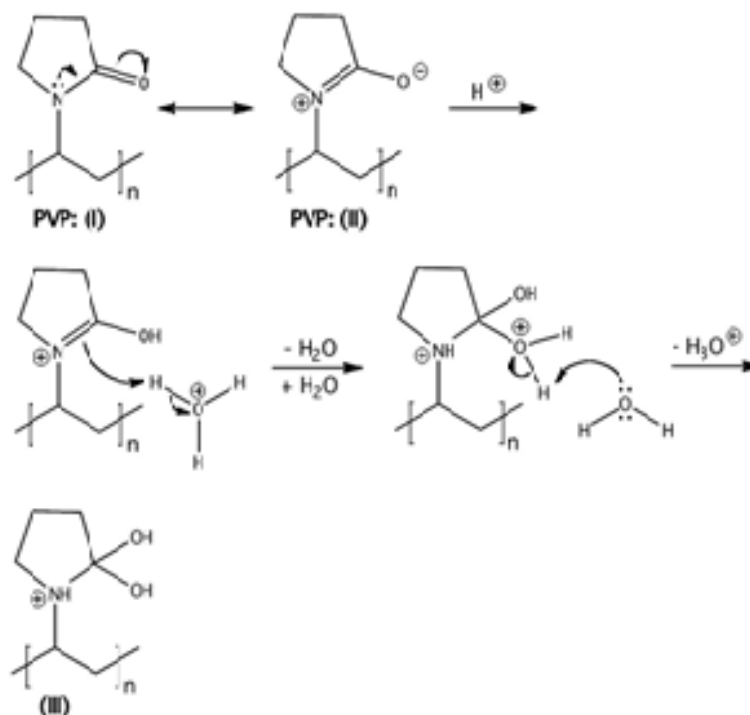
Επίσης, παρατηρείται ότι η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τη συνταγή 2 ήταν σχετικά υψηλότερη (63.1%) από εκείνη της συνταγής 1 (58.7%) σε pH 1.2. Στη δεύτερη περίπτωση η περιεκτικότητα των δισκίων σε ουλβάνες ήταν κατά πολύ υψηλότερη (σχεδόν 9-φορές υψηλότερη). Η υψηλή αυτή αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία της συνταγής 2 καθιστά επομένως προφανές ότι η ποσότητα των ουλβανών στα δισκία δεν είναι ο μόνος παράγοντας που επηρεάζει την αποδέσμευση της μελατονίνης. Συγκεκριμένα, η παρουσία της μονοϋδρικής λακτόζης σε μεγάλη ποσότητα (144 mg) στα δισκία της συνταγής 2 φαίνεται να

βελτιώνει σημαντικά την αποδέσμευση της μελατονίνης, αντισταθμίζοντας έτσι τη χαμηλή περιεκτικότητα της συνταγής σε ουλβάνες. Αυτό συμβαίνει διότι, όπως είναι γνωστό, η μονοϋδρική λακτόζη διευκολύνει σημαντικά τη διάλυση των ηπίως υδατοδιαλυτών δραστικών ουσιών (Tukaram BN *et al.*, 2010). Η αντικατάσταση των θαλάσσιων πολυσακχαριτών ουλβανών στις συνταγές 1, 2 και 3 από το επίσης θαλάσσιας προέλευσης αλγινικό νάτριο (συνταγές 10, 11 και 12, αντιστοίχως) φαίνεται να οδηγεί σε χαμηλότερο ποσοστό αποδέσμευσης της μελατονίνης, σε pH 1.2. Πιο συγκεκριμένα, η αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία της συνταγής 10 είναι 9% υψηλότερη από εκείνη των δισκίων της συνταγής 1. Η παρουσία της μονοϋδρικής λακτόζης σε υψηλή ποσότητα (144 mg στις συνταγές 2 και 11), σε σύγκριση με την περιεκτικότητα σε ουλβάνες και αλγινικό νάτριο (16 mg) σε αυτές τις συνταγές, οδηγεί σε μια αξιοσημείωτη αύξηση της αποδέσμευσης της μελατονίνης από τα δισκία. Όπως είναι γνωστό, η μονοϋδρική λακτόζη μέσω της υδατοδιαλυτής και υδρόφιλης φύσης της, διευκολύνει το σχηματισμό γέλης και μειώνει το χρόνο διείδυσης του μέσου διάλυσης εντός της μήτρας. Επιπλέον, η μονοϋδρική λακτόζη λειτουργεί ως ένας παράγοντας διοχέτευσης, βοηθώντας τη γρήγορη διάλυση και την εύκολη διάχυση της μελατονίνης προς το εξωτερικό της πολυμερικής μήτρας, μειώνοντας έτσι το ελικοειδές ή/και αυξάνοντας το πορώδες της μήτρας (Tukaram BN *et al.*, 2010).

Μια αξιοσημείωτη διαφορά στην αποδέσμευση της μελατονίνης παρατηρείται μεταξύ των συνταγών 3 και 12, σε pH 1.2. Στα δισκία της συνταγής 3, τα οποία περιέχουν ουλβάνες, η αποδέσμευση της μελατονίνης είναι κατά 50% υψηλότερη από τα δισκία της συνταγής 12, που περιέχουν αλγινικό νάτριο. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην πλήρη πρωτονίωση των καρβοξυλικών ομάδων του αλγινικού νατρίου σε σύγκριση με τη σχετική πρωτονίωση των θειικών ομάδων των ουλβανών. Συγκεκριμένα, οι ουλβάνες σε αντίθεση με το αλγινικό νάτριο, έχουν διαφορετική χημική δομή, η οποία εμπεριέχει θειικές ομάδες (49.8%). Έτσι, στο όξινο περιβάλλον ένας αριθμός λειτουργικών ομάδων των ουλβανών παραμένουν μη φορτισμένες, σε αντίθεση με τις καρβοξυλικές ομάδες του αλγινικού νατρίου, διευκολύνοντας κατά αυτόν τον τρόπο τη διάλυση της μελατονίνης. Αξίζει να σημειωθεί πως αυτή η σημαντική βελτίωση στη διάλυση της μελατονίνης που προκαλούν οι ουλβάνες σε όξινο περιβάλλον, φαίνεται να διατηρείται και στο pH 6.8. Στα δισκία που περιέχουν ουλβάνες (συνταγή 3), η πλήρης αποδέσμευση της μελατονίνης επιτυγχάνεται σε διάστημα 3 ωρών, ενώ στα δισκία της συνταγής 12, που περιέχουν αλγινικό νάτριο, η πλήρης αποδέσμευση της μελατονίνης επιτυγχάνεται στις 5 ώρες. Στο pH 6.8 όλες οι θειικές ομάδες των ουλβανών ιονίζονται, όπως και οι καρβοξυλικές ομάδες του αλγινικού νατρίου, αλλά στην περίπτωση του αλγινικού νατρίου ο σχετικός πληθυσμός των λειτουργικών ομάδων που είναι επιρρεπείς στον ιονισμό περιορίζεται σε σχέση με τις ανάλογες λειτουργικές ομάδες των ουλβανών.

Εκτός από την τιμή του pH και τις ιδιαιτερότητες στη δομή των ουλβανών, οι οποίες επηρεάζουν τη διάλυση της μελατονίνης, η άμορφη δομή και το μέγεθος των σωματιδίων των ουλβανών πιθανά συμβάλλουν σημαντικά στην ικανοποιητική αποδέσμευση της μελατονίνης. Είναι ευρύτερα γνωστό ότι η άμορφη δομή των σωματιδίων διευκολύνει γενικώς την αποδέσμευση των δραστικών ουσιών (Lee JH *et al.*, 2013). Επιπλέον, τα σωματίδια των ουλβανών έχουν δομή με μεγάλες κοιλότητες, μέσω των οποίων τα μόρια του υδατικού μέσου διεισδύουν ταχύτερα και βαθύτερα στο εσωτερικό της μήτρας (Vlachou M *et al.*, 2017).

Συγκρίνοντας το προφίλ διάλυσης της μελατονίνης μεταξύ των συνταγών 7 και 9, παρατηρείται μια αρκετά ταχεία αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία της συνταγής 7 (η 100% αποδέσμευση επιτυγχάνεται σε διάστημα 2 ωρών) και μια σχετικά βραδύτερη αποδέσμευση της ορμόνης από τα δισκία της συνταγής 9 (η 100% αποδέσμευση επιτυγχάνεται σε διάστημα 3 ωρών). Η ταχύτερη αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία της συνταγής 7 πιθανόν να σχετίζεται με την αρκετά υψηλότερη περιεκτικότητα των δισκίων αυτών σε ουλβάνες (160 mg) σε σύγκριση με τα δισκία της συνταγής 9 (16 mg). Στο όξινο pH αυτή η ταχύτερη αποδέσμευση της μελατονίνης που προκαλούν οι ουλβάνες στα δισκία της συνταγής 7, δεν φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από την αντικατάσταση των ουλβανών με πολυβινυλοπυρολλιδόνη (PVP), η οποία βρίσκεται σε μεγάλη περιεκτικότητα στα δισκία της συνταγής 9 (160 mg PVP στη συνταγή 9 και 16 mg PVP στη συνταγή 7). Πιο συγκεκριμένα, η μεγάλη περιεκτικότητα της PVP στη συνταγή 9 οδηγεί σε μία πιο γρήγορη αποδέσμευση της μελατονίνης στο pH 1.2, καθώς στο όξινο περιβάλλον η PVP μετατρέπεται στη *gem*-διόλη (III), όπως φαίνεται στο σχήμα Γ2 (Vlachou M *et al.*, 2016). Ο σχηματισμός αυτός της διόλης ευνοεί την αλληλεπίδραση της PVP με το υδρογόνο του αμιδικού NH και του C5 μεθοξυλίου του μορίου της μελατονίνης, μέσω του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου, οδηγώντας έτσι στην εύκολη αποδέσμευση της μελατονίνης από αυτά τα δισκία.



(III: δέκτης δεσμού υδρογόνου)

Σχήμα Γ2: Μετατροπή PVP στο *gem*-διολοπαράγωγο III

Η ευνοϊκή αυτή επίδραση της PVP στην αποδέσμευση της μελατονίνης, σε pH 1,2, είναι επίσης εμφανής, αν και σε μικρότερο βαθμό, και στα δισκία των συνταγών 4 και 8, τα οποία περιέχουν και HPMC K15 (16 mg). Φαίνεται λοιπόν, ότι η ταυτόχρονη παρουσία των HPMC K15 και PVP σε μεγάλες ποσότητες στα δισκία της συνταγής 8 διευκολύνει με ένα συνεργικό τρόπο την αποδέσμευση της μελατονίνης, τουλάχιστον στο όξινο περιβάλλον, αρκετά περισσότερο από ότι ο συνδυασμός της HPMC K15 με τις ουλβάνες, που συναντάται στα δισκία της συνταγής 4 (Lee JH *et al.*, 2013; Patel SM *et al.*, 2012).

Η υψηλότερη αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία της συνταγής 5 (η πλήρης αποδέσμευση της μελατονίνης επιτυγχάνεται σε 3 ώρες) συγκριτικά με την αποδέσμευσή της από τα δισκία της συνταγής 6 (το 84% της αποδέσμευσης της μελατονίνης επιτυγχάνεται σε 3 ώρες) οφείλεται στη 10-φορές υψηλότερη περιεκτικότητα σε ουλβάνες που περιέχουν τα δισκία της συνταγής 5 (160 mg ουλβάνες και 16 mg μονοϋδρική λακτόζη). Αξίζει να σημειωθεί ότι παρά το γεγονός ότι η μονοϋδρική λακτόζη είναι ένας αρκετά υδατοδιαλυτός δισακχαρίτης (19.5 g/100 ml) (Vlachou M *et al.*, 2017), η υψηλή περιεκτικότητα υδατανθράκων που περιέχονται στη δομή των ουλβανών, φαίνεται να οδηγεί σε μεγαλύτερη αποδέσμευση της μελατονίνης από τα συγκεκριμένα δισκία. Σύμφωνα με τα δεδομένα ως

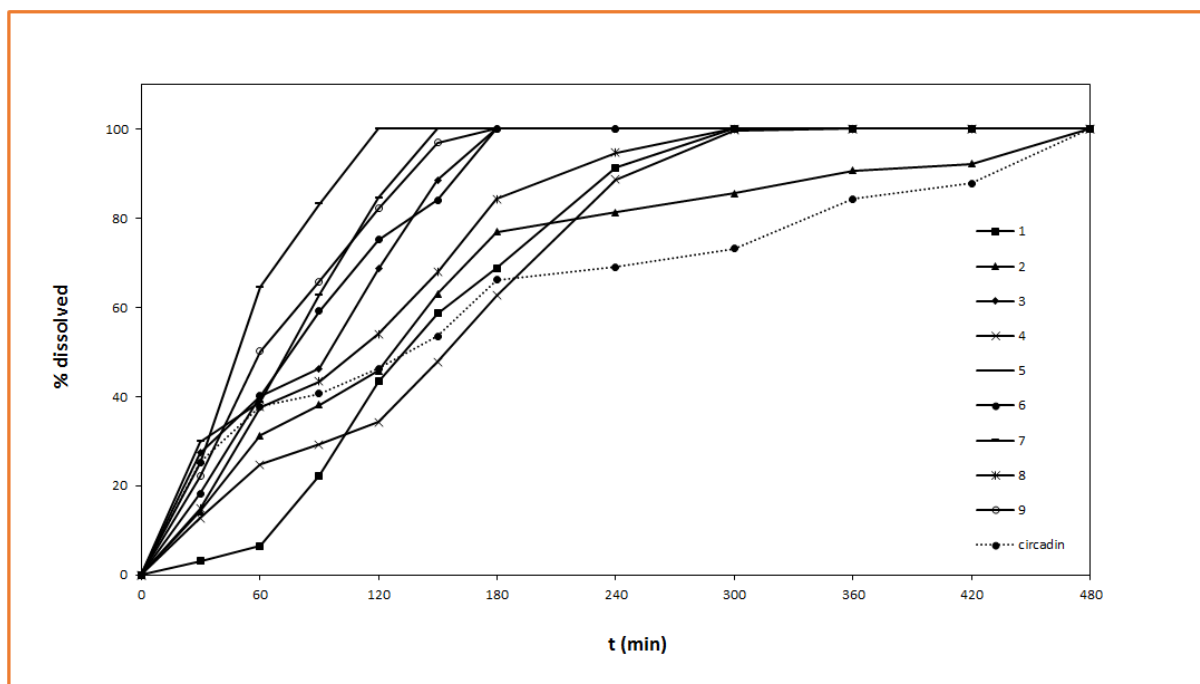
προς την κινητική της αποδέσμευσης της μελατονίνης που λαμβάνονται μέσω της εξίσωσης Korsmeyer-Peppas (Πίνακας Γ1), συμπεραίνεται ότι μεταξύ των συνταγών που μελετήθηκαν, οι συνταγές 1 (n=1.94), 4 (n=0.95), 6 (n=1.04), 7 (n=1.37) και 9 (n=0.92) ακολουθούν μηχανισμό αποδέσμευσης Super Case II (n>0.89), σύμφωνα με τον οποίο η αποδέσμευση της δραστικής ουσίας φαίνεται να ελέγχεται από τη διάβρωση του πολυμερούς (Sriamornsak T *et al.*, 2007; Korsmeyer RW *et al.*, 1983). Ο μηχανισμός αποδέσμευσης της μελατονίνης από τα δισκία των συνταγών 3 (n=0.70), 5 (n=0.75) και 8 (n=0.80) φαίνεται να ακολουθεί μηχανισμό non-Fickian/Ανώμαλης διάχυσης (0.45<n<0.89), δηλαδή ένα συνδυασμό απλής διάχυσης και Case II μεταφοράς (Papadopoulou V *et al.*, 2006).

Πίνακας Γ1: Φυσικές ιδιότητες και φαρμακοκινητικές παράμετροι των δισκίων μελατονίνης των συνταγών 1-12 και του Circadin®

| Συνταγές | Διάμετρος (mm) | Πάχος (mm) mean±SD n=10 | Σκληρότητα (kp) mean±SD n=10 | Ευθρυπτότητα n=35 | t _{20%} | t _{50%} | t _{90%} | MDT | DE (%) | Συντελεστής διάχυσης (n) |
|-----------|----------------|-------------------------------|------------------------------------|----------------------|------------------|------------------|------------------|--------|--------|--------------------------|
| 1 | 10 | 1.68±0.04 | 9.48±0.15 | 0.13 | 85 | 135 | 236 | 144.06 | 70.49 | 1.94 |
| 2 | 10 | 1.69±0.09 | 8.54±0.22 | 0.37 | 40 | 130 | 360 | 133.21 | 69.11 | 0.85 |
| 3 | 10 | 1.65±0.03 | 9.36±0.34 | 0.15 | 23 | 100 | 151 | 113.73 | 82.96 | 0.70 |
| 4 | 10 | 1.70±0.05 | 10.05±0.45 | 0.18 | 45 | 152 | 248 | 144.03 | 70.32 | 0.95 |
| 5 | 10 | 1.68±0.04 | 9.38±0.12 | 0.14 | 22 | 70 | 130 | 85.18 | 85.38 | 0.75 |
| 6 | 10 | 1.69±0.03 | 7.55±0.22 | 0.42 | 35 | 75 | 160 | 111.99 | 82.92 | 1.04 |
| 7 | 10 | 1.65±0.04 | 9.95±0.14 | 0.18 | 26 | 50 | 100 | 1.37 | 89.01 | 1.37 |
| 8 | 10 | 2.02±0.08 | 8.01±0.19 | 0.35 | 35 | 110 | 220 | 0.80 | 76.95 | 0.80 |
| 9 | 10 | 2.01±0.06 | 8.54±0.45 | 0.38 | 25 | 62 | 135 | 0.92 | 85.51 | 0.92 |
| 10 | 10 | 1.71±0.05 | 7.69±0.41 | 0.47 | 30 | 200 | 390 | 156.81 | 61.55 | 0.61 |
| 11 | 10 | 1.75±0.04 | 8.84±0.15 | 0.34 | 20 | 110 | 430 | 122.28 | 67.64 | 0.49 |
| 12 | 10 | 1.71±0.06 | 7.98±0.18 | 0.37 | 80 | 160 | 260 | 149.76 | 69.14 | 1.39 |
| Circadin® | 8.10 | 3.30±0.01 | 7.03±0.11 | 0.45 | 20 | 140 | 440 | 145.75 | 64.99 | 0.43 |

Συνολικά, συμπεραίνεται ότι η παρουσία των ουλβανών στα δισκία των συνταγών που μελετήθηκαν στα πλαίσια αυτής της εργασίας, ενισχύει την *in vitro* αποδέσμευση της μελατονίνης σε όλο το εύρος τιμών pH (σχήμα Γ3). Ακόμα και όταν η ποσότητα των ουλβανών στα δισκία ήταν μικρή, για παράδειγμα στη συνταγή 2, το προφίλ της αποδέσμευσης της μελατονίνης είναι ικανοποιητικό, παρόμοιο με εκείνο του εμπορικά διαθέσιμου σκευάσματος Circadin®, το οποίο χρησιμοποιείται τόσο για τη μείωση του

χρόνου έναρξης του ύπνου, όσο και για την αντιμετώπιση των δυσλειτουργιών που προκαλούνται από την κακή ποιότητά του.

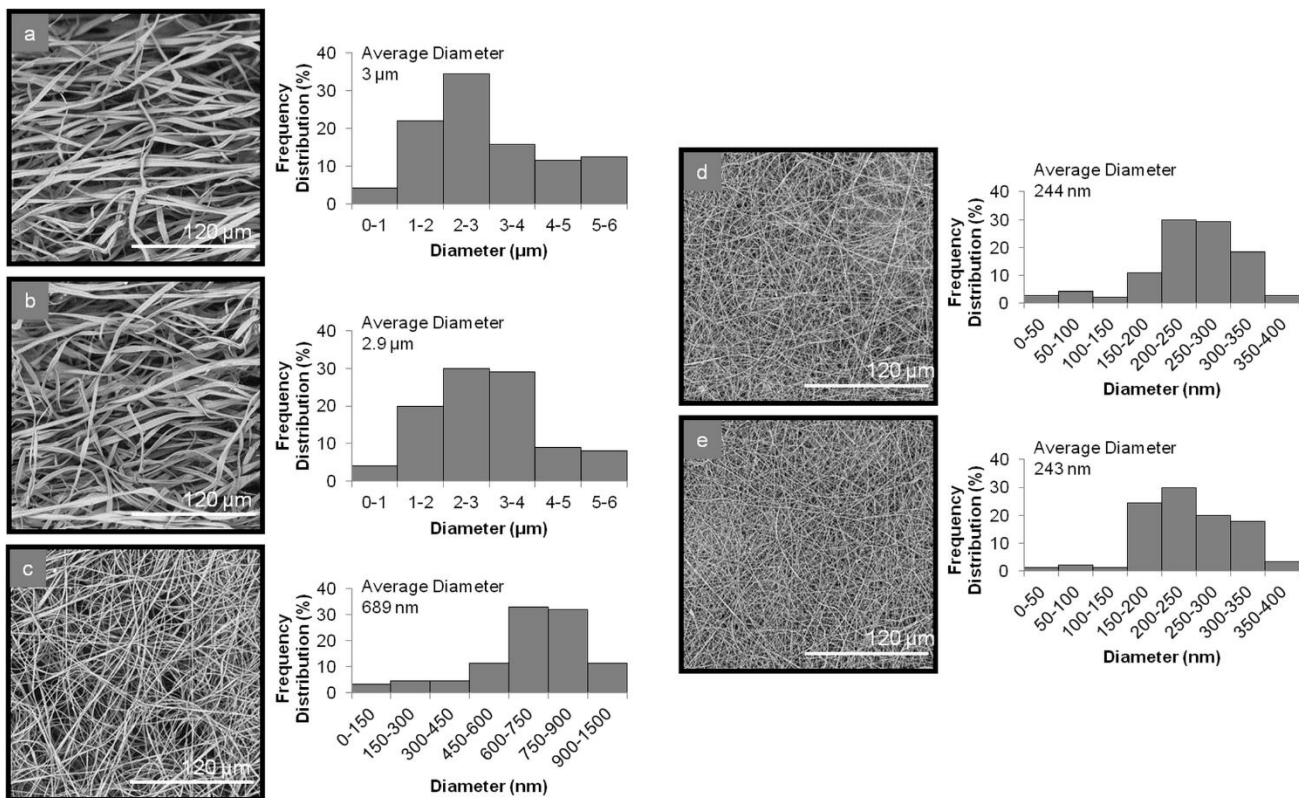


Σχήμα Γ3: Συγκριτική απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο από τα δισκία των συνταγών 1-9 και του Circadin® σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 (0-2 ώρες) και σε μέσο διάλυσης με pH 6.8 (2-8 ώρες) (SD<2).

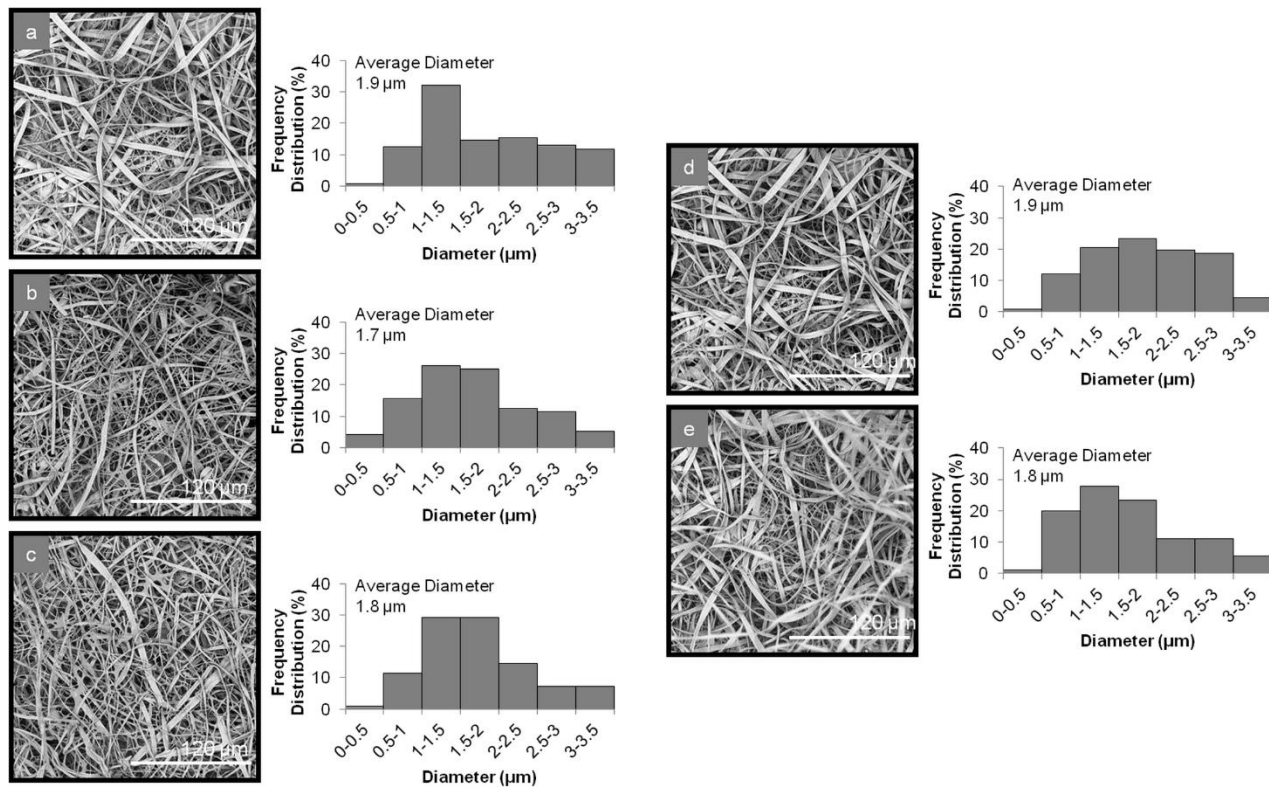
Γ.2 ΚΑΨΑΚΙΑ ΩΣ ΦΟΡΕΙΣ ΝΑΝΟΪΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά με επιτυχία η ενσωμάτωση της μελατονίνης σε νανοϊνώδη υποστρώματα. Η χημική ακεραιότητα της μελατονίνης μετά από τη διαδικασία της ηλεκτροϊονοποίησης, η οποία πραγματοποιήθηκε υπό ειδικά καθορισμένες συνθήκες, επιβεβαιώθηκε μέσω ανάλυσης με φασματοσκοπία ^1H NMR της μελατονίνης που ανακτήθηκε μετά από εκχύλιση των νανοϊνώδων υποστρωμάτων.

Μετά από μελέτη των παραγόμενων νανοϊνών με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) αποκαλύφθηκαν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ινών, οι οποίες σε όλες τις περιπτώσεις ήταν ομοιόμορφες, καλά διαμορφωμένες, χωρίς την παρουσία χαντρών. Η κατανομή της διαμέτρου και η μέση διάμετρος των ινών για τα διαφορετικά συστήματα φαίνονται στα σχήματα Γ4 και Γ5.



Σχήμα Γ4: Απεικόνιση των νανοϊνών με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) και παράθεση ιστογραμμάτων κατανομής της μέσης διαμέτρου των ινών για τις συνταγές των καμακίων (a) CA1, (b) CA2, (c) PVI, (d) HP1 και (e) HP2.



Σχήμα Γ5: Απεικόνιση των νανοϊνών με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) και παράθεση ιστογραμμάτων κατανομής της μέσης διαμέτρου των ινών για τις συνταγές των καμακίων (a) CAPV1, (b) CAPV2, (c) CAPV3, (d) CAPV4 και (e) CAPV5.

Στην περίπτωση των CA-MLT συνταγών (συνταγές CA1 και CA2), παρασκευάστηκαν νανοΐνες που προσομοίαζαν κορδέλα με ευρεία κατανομή διαμέτρου στην νανο-κλίμακα. Η διαφορετική συγκέντρωση της μελατονίνης που ενσωματώθηκε στις συνταγές αυτές δεν επηρέασε τη μορφολογία, ούτε το μέγεθος των παραγόμενων ιών. Συγκεκριμένα, στις νανοΐνες της συνταγής CA1 η διάμετρος των ιών κυμαινόταν από 689 nm έως 6 μm, με μέση διάμετρο ιών 3 ± 0.67 μm, ενώ στις νανοΐνες της συνταγής CA2, η διάμετρος κυμαινόταν από 637 nm έως 5.8 μm, με μέση διάμετρο ιών 2.9 ± 0.62 μm (Σχήμα Γ4, Πίνακας Γ2). Τα νανοϊνώδη υποστρώματα της συνταγής PV1 αποτελούνταν από ομαλές ίνες κυλινδρικού σχήματος με διάμετρο ιών που κυμαινόταν από 110 έως 990 nm και μέση διάμετρο 689 ± 164 nm (Σχήμα Γ4, Πίνακας Γ2). Ομοιόμορφες κυλινδρικές νανοΐνες παρατηρήθηκαν επίσης και στα HPMC(PEO)-MLT νανοϊνώδη υποστρώματα (συνταγές HP1 και HP2). Τα διαφορετικά μοριακά βάρη του PEO στις συνταγές αυτές δεν οδήγησαν σε σημαντικές διαφορές στις μέσες διαμέτρους των δύο εξεταζόμενων συστημάτων. Έτσι, στη συνταγή HP1 η διάμετρος των νανοϊνών κυμαινόταν από 35 έως 382 nm, με μέση διάμετρο 244 ± 70 nm. Παρομοίως, οι ίνες της συνταγής HP2 είχαν διάμετρο από 50 έως 413 nm και μέση διάμετρο ιών 243 ± 81 nm (Σχήμα Γ4, Πίνακας Γ2).

Η ανάλυση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) των αναμειγνύμενων νανοϊνών CA και PVP (συνταγές CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5) ανέδειξαν την επιτυχή ανάμειξη των δύο χρησιμοποιούμενων πολυμερών, με τις νανοΐνες σε μορφή κορδέλας της CA και τις κυλινδρικού σχήματος νανοΐνες του PVP να διατηρούνται ακέραίες και μετά την ανάμειξη. Σε όλα τα εξεταζόμενα συστήματα, οι διαμέτροι των αναμειγνύμενων ιών ήταν σε παρόμοιου εύρους μέγεθος. Πιο συγκεκριμένα, στη συνταγή CAPV1 η διάμετρος των ιών κυμαινόταν από 430 nm έως 3.7 μm, με μέση διάμετρος ιών 1.9 ± 0.44 μm, στη συνταγή CAPV2 η διάμετρος των ιών κυμαινόταν από 284 nm έως 4.3 μm, με μέση διάμετρο $1,7 \pm 0,47$ μm, στη συνταγή CAPV3 η διάμετρος των ιών κυμαινόταν από 336 nm έως 4.6 μm, με μέση διάμετρο 1.8 ± 0.44 μm, στη συνταγή CAPV4 η διάμετρος των ιών κυμαινόταν από 386 nm έως 3.4 μm, με μέση διάμετρο 1.9 ± 0.43 μm και στη συνταγή CAPV5 η διάμετρος των ιών κυμαινόταν από 325 nm έως 5.2 μm με μέση διάμετρο $1.8 \pm 0,42$ μm (Σχήμα Γ5, Πίνακας Γ2).

Πίνακας Γ2: Τιμές του εύρους διαμέτρου και της μέσης διαμέτρου των νανοϊνών για την κάθε συνταγή, μετά από ανάλυση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM).

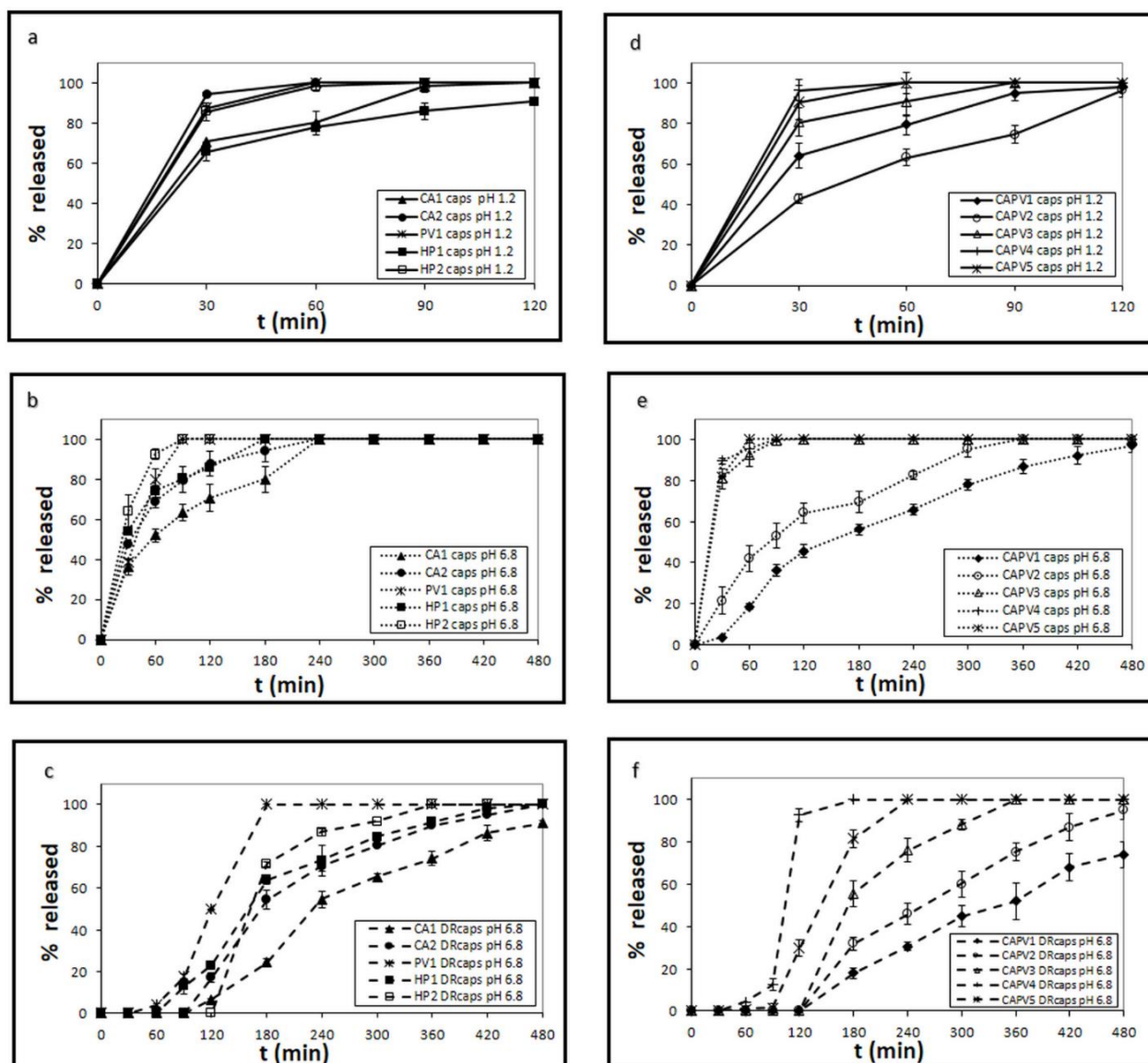
| Συνταγές | Εύρος διαμέτρου νανοϊνών | Μέση διάμετρος νανοϊνών |
|--------------|--------------------------|-------------------------|
| CA1 | 689 nm - 6 μm | 3 ± 0.67 μm |
| CA2 | 637 nm - 5.8 μm | 2.9 ± 0.62 μm |
| PV1 | 110 nm - 990 nm | 689 ± 164 nm |
| HP1 | 35 nm - 382 nm | 244 ± 70 nm |
| HP2 | 50 nm - 413 nm | 243 ± 81 nm |
| CAPV1 | 430 nm - 3.7 μm | 1.9 ± 0.44 μm |
| CAPV2 | 284 nm - 4.3 μm | 1.7 ± 0.47 μm |
| CAPV3 | 336 nm - 4.6 μm | 1.8 ± 0.44 μm |
| CAPV4 | 386 nm - 3.4 μm | 1.9 ± 0.43 μm |
| CAPV5 | 325 nm - 5.2 μm | 1.8 ± 0.42 μm |

Η αποδέσμευση της μελατονίνης σε pH 1.2 από τις CA-MLT νανοΐνες βρέθηκε να εξαρτάται σημαντικά από την ποσότητα της μελατονίνης στη νανοϊνώδη μήτρα. Συγκεκριμένα, ο διπλασιασμός της συγκέντρωσης της μελατονίνης (από 1 σε 2 mg) στη συνταγή CA2, οδήγησε σε σημαντική αύξηση στην αποδέσμευση της ορμόνης (70,74% έως 94,43%) στο ίδιο χρονικό διάστημα (30 λεπτά) (Σχήμα Γ6(a)). Αυτή η διαφορά στο ποσοστό αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές CA1 και CA2, η οποία οφείλεται στη διαφορετική συγκέντρωσή της στο εσωτερικό των νανοϊνών, μπορεί να ερμηνευθεί ικανοποιητικά από την εξίσωση Higuchi. Η εξίσωση Higuchi, η οποία αναφέρεται εκτενέστερα στην ενότητα B.4.5, αποτελεί ένα θεωρητικό μοντέλο για τη μελέτη της αποδέσμευσης υδατοδιαλυτών και ελάχιστα διαλυτών δραστικών ουσιών από μία ποικιλία πλεγμάτων, συμπεριλαμβανομένων των ημιστερεών και των στερεών φαρμακοτεχνικών μορφών (Sinko and Singh, 2011):

$$Q = (2ADC_s t)^{\frac{1}{2}}$$

Όπου,

- Q: η ποσότητα της δραστικής ουσίας ανά μονάδα επιφάνειας που αποδεσμεύεται από τη μήτρα σε χρόνο t
- C_s: η συγκέντρωση ή διαλυτότητα κορεσμού της δραστικής ουσίας στη μήτρα
- A: η ανά μονάδα όγκου ποσότητα (διαλυμένη και μη διαλυμένη) της δραστικής ουσίας στη μήτρα
- D: ο συντελεστή διάχυσης της δραστικής ουσίας.



Σχήμα Γ6: Συγκριτική απεικόνιση της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο από τις συνταγές CA1, CA2, PV1, HP1 και HP2 (a) σε pH 1.2 από απλά καψάκια σκληρής ζελατίνης, (b) σε pH 6.8 από απλά καψάκια σκληρής ζελατίνης, (c) σε pH 6.8 από εντεροδιαλυτά καψάκια και από τις συνταγές CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5 (d) σε pH 1.2 από απλά καψάκια σκληρής ζελατίνης, (e) σε pH 6.8 από απλά καψάκια σκληρής ζελατίνης, (f) σε pH 6.8 από εντεροδιαλυτά καψάκια.

Η χρήση της PVP για την παρασκευή των ναοϊνών της συνταγής PV1 οδήγησε σε αποδέσμευση της μελατονίνης της τάξεως του 87.58%, εντός 30 λεπτών σε pH 1.2, όπως απεικονίζεται και στο σχήμα Γ6(a). Η αυξημένη αυτή αποδέσμευση της μελατονίνης από τη συνταγή PV1, σε σύγκριση με τη συνταγή CA1 (70,74%), μπορεί να αποδοθεί στη μετατροπή της PVP σε pH 1.2 στη *gem*-διόλη (III), όπως φαίνεται και στο σχήμα Γ2 (Vlachou M *et al.*, 2016), η οποία όπως έχει ήδη αναφερθεί, διευκολύνει σημαντικά τη διαλυτότητα της

μελατονίνης στο όξινο περιβάλλον. Εξαιρετικό ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το μοτίβο αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις ναοΐνες της συνταγής HP1 σε pH 1.2 δείχνει να είναι ανάλογο με εκείνο των ναοϊνών, που βασίζονται στην CA, ενώ η ίδια τάση φαίνεται να παρατηρείται και στα PVP ναοϊνώδη υποστρώματα (Σχήμα Γ6(a)). Παράλληλα, μετά από τη σύγκριση μεταξύ των συνταγών HP1 και HP2, φαίνεται πως η μελατονίνη αποδεσμεύεται σε υψηλότερο ποσοστό (87,59%) από τη συνταγή HP2 απ' ότι από τη συνταγή HP1 (65.76%), όπως φαίνεται στο σχήμα Γ6(a). Αυτή η διαφορά στο ποσοστό αποδέσμευσης της μελατονίνης είναι πιθανόν να οφείλεται στο κατά πολύ υψηλότερο μοριακό βάρος του PEO που χρησιμοποιήθηκε στη συνταγή HP1, συγκρινόμενο με αυτό της συνταγής HP2, και το οποίο φαίνεται να περιορίσε σημαντικά την αποδέσμευση της μελατονίνης από τις ναοΐνες, εντείνοντας ακόμα περισσότερο την εγγενή χαμηλή διαλυτότητα του PEO (Balogh A *et al.*, 2016).

Όσον αφορά στην αποδέσμευση της μελατονίνης σε pH 6.8 από τις συνταγές CA1 και CA2, παρατηρείται ότι το προφίλ της αποδέσμευσης ήταν ανάλογο με εκείνο που παρατηρήθηκε στις αντίστοιχες συνταγές σε pH 1.2. Σύμφωνα με το σχήμα Γ6(b), φαίνεται ότι σε pH 6.8 οι συνταγές CA1 και PV1 ακολουθούν αρχικά ($t=30$ λεπτά) το ίδιο μοτίβο αποδέσμευσης της μελατονίνης. Μετά την παρέλευση όμως των 30 λεπτών, η αποδέσμευση της μελατονίνης από τις ναοΐνες της συνταγής PV1 γίνεται ταχύτερη σε σύγκριση με εκείνη από τη συνταγή CA1, πιθανώς λόγω της μικρότερης διαμέτρου που εμφανίζουν οι ναοΐνες του PVP (συνταγή PV1: 689 nm και συνταγή CA1: 3 μm , Σχήμα Γ4), οδηγώντας έτσι σε υψηλότερο λόγο επιφανείας/όγκου επιφανείας και συνεπώς σε σημαντική αύξηση της ταχύτητας διάλυσης της μελατονίνης (Verreck G *et al.*, 2003; Skoug JW *et al.*, 1991).

Μετά από την ανάμειξη των ναοϊνών της CA και του PVP για την παρασκευή ναοϊνώδων υποστρωμάτων μελατονίνης (συνταγές CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5), η αποδέσμευση της μελατονίνης σε pH 1.2 από τη συνταγή CAPV4 (η μελατονίνη βρίσκεται ενθυλακιωμένη στις ναοΐνες της CA) έφτασε το 100% στο χρονικό διάστημα των 30 λεπτών (Σχήμα Γ6 (d)). Ομοίως, στη συνταγή CAPV5 (η μελατονίνη βρίσκεται ενθυλακιωμένη στις ναοΐνες της PVP), η αποδέσμευση της μελατονίνης έφτασε το 90.55% στο ίδιο χρονικό διάστημα των 30 λεπτών (Σχήμα Γ6 (d)). Καθίστανται λοιπόν εμφανές ότι από τις παραπάνω συνταγές, η % αποδέσμευση της μελατονίνης παραμένει αμετάβλητη είτε η μελατονίνη βρίσκεται ενθυλακιωμένη στις ναοΐνες της CA είτε στις ναοΐνες της PVP, κάτι το οποίο επιβεβαιώνεται και από τη μέση διάμετρο των ναοϊνών στις συνταγές αυτές (συνταγή CAPV4: 1.9 μm και συνταγή CAPV5: 1.8 μm , Σχήμα Γ5, Πίνακας Γ2). Αυτό το μοτίβο στην αποδέσμευση της μελατονίνης παρατηρήθηκε σε όλες τις συνταγές CA/PVP-MLT, σε σύγκριση με την αποδέσμευση που παρατηρήθηκε από τις αντίστοιχες συνταγές CA,

στις οποίες η CA αποτελούσε το μοναδικό πολυμερές των ναοϊνώδων υποστρωμάτων. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η PVP, όπως έχει προαναφερθεί, ενισχύει τη διάλυση της μελατονίνης σε pH 1.2 λόγω της μετατροπής της στη *gem*-διόλη (III) (Σχήμα Γ2).

Σε pH 6.8, η μελατονίνη φαίνεται γενικά να αποδεσμεύεται πιο αργά τα πρώτα 30 λεπτά από τις CA-MLT και PVP-MLT συνταγές, συγκριτικά με τις CA/PVP-MLT συνταγές στις οποίες συνυπάρχει η CA με τη PVP (Σχήμα Γ6 (b) και (e)).

Η αποδέσμευση της μελατονίνης από τα ναοϊνώδη υποστρώματα των εντεροδιαλυτών καψακίων, φαίνεται να παρουσιάζει γενικά ομοιότητες με το προφίλ αποδέσμευσης που παρατηρήθηκε στα αντίστοιχα ναοϊνώδη υποστρώματα των καψακίων σκληρής ζελατίνης (Σχήμα Γ6 (c) και (f)). Ο χρόνος υστέρησης στην αποδέσμευση της μελατονίνης, που παρατηρείται στην περίπτωση των εντεροδιαλυτών καψακίων, οφείλεται στη χρονική περίοδο που απαιτείται για τη διάλυση των εντεροδιαλυτών καψακίων, λόγω του διαφορετικού υλικού που χρησιμοποιείται για την παρασκευή τους. Τα εντεροδιαλυτά καψάκια που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη είναι παρασκευασμένα με μια καινοτόμο σύνθεση που περιλαμβάνει HPMC, έναν παράγοντα πήξης (κόμμι Gellan) και νερό. Είναι γνωστό ότι η συγκεκριμένη σύνθεση οδηγεί σε καθυστερούμενη αποδέσμευση, η οποία πραγματοποιείται περίπου 20 λεπτά μετά την έναρξη της αποδέσμευσης των δραστικών ουσιών στο έντερο (Cole ET *et al.*, 2002; Al-Tabakha NM *et al.*, 2015).

Γ.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στα πλαίσια της παρούσης εργαστηριακής μελέτης πραγματοποιήθηκε η παρασκευή δισκίων και ναοϊνών με ενσωματωμένη την ορμόνη μελατονίνη, με στόχο τόσο ένα ταχύ αρχικό ρυθμό αποδέσμευσής της για την αντιμετώπιση των προβλημάτων έναρξης του ύπνου (sleep onset), όσο και την αργή και παρατεταμένη αποδέσμευση της μελατονίνης για τη βελτίωση της συνολικής ποιότητάς του (sleep maintenance).

Γ.2.1 Δισκία

- Η μελατονίνη είναι περισσότερο ευδιάλυτη σε μη όξινα διαλύματα (pH 6.8) από ότι σε όξινα (pH 1.2), παρουσία των εκδόχων μονοϋδρική λακτόζη και υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη, ο συνδυασμός των οποίων σε όξινο pH έχει ως αποτέλεσμα να παρατείνεται σημαντικά η αποδέσμευσή της από τις δοσολογικές μορφές, οδηγώντας σε μια παράταση του φαρμακολογικού αποτελέσματος.
- Ο δείκτης DE% είναι ευθέως ανάλογος με την ποσότητα των ουλβανών που περιέχονται στις δοσολογικές μορφές. Οι ουλβάνες οδηγούν σε σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό αποδέσμευσης της μελατονίνης σε σχέση με το αλγινικό νάτριο στις ίδιες συγκεντρώσεις.
- Οι ουλβάνες, λόγω εκτεταμένης απορρόφησης διαλυτών, υφίστανται μια εξαιρετικά μεγάλη ενυδάτωση, διόγκωση και διάβρωση της πολυμερικής τους μήτρας, οδηγώντας έτσι σε μια άμεση και υψηλού ποσοστού αποδέσμευση της μελατονίνης από τις δοσολογικές μορφές. Συγκεκριμένα, προκύπτει ότι όσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητα των ουλβανών που εμπεριέχονται στις δοσολογικές μορφές, τόσο μεγαλύτερου ρυθμού είναι η αποδέσμευση της μελατονίνης. Επίσης, παρατηρείται ότι και απουσία των εκδόχων μονοϋδρική λακτόζη και υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη οι ουλβάνες οδηγούν σε ταχεία αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία.
- Η αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία αυξάνεται όσο μεγαλύτερη είναι η ποσότητα του αλγινικού νατρίου που εμπεριέχεται στις δοσολογικές μορφές, ακόμα και απουσία της μονοϋδρικής λακτόζης και της υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης. Παράλληλα, παρατηρείται ότι το αλγινικό νάτριο διαλύεται πιο αργά συγκριτικά με τις ουλβάνες στις ίδιες συγκεντρώσεις, οδηγώντας έτσι σε μια πιο αργή και μικρότερου βαθμού αποδέσμευση της μελατονίνης από τις δοσολογικές μορφές.

- Τα δισκία με ουλβάνες σε μεγάλη συγκέντρωση διαφέρουν σημαντικά ως προς τη συμπεριφορά τους στην αποδέσμευση τόσο ως προς αυτά με το αλγινικό νάτριο όσο και ως προς το Circadin[®], καθώς και ως προς τις δοσολογικές μορφές που περιέχουν μονοϋδρική λακτόζη και υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη.
- Το αλγινικό νάτριο παρουσιάζει παρόμοια εικόνα αποδέσμευσης της μελατονίνης από τα δισκία σε σχέση με το Circadin[®]. Παράλληλα, φαίνεται ότι η μονοϋδρική λακτόζη σε μεγάλες συγκεντρώσεις προκαλεί την ίδια αποδέσμευση είτε βρίσκεται παρουσία των ουλβανών είτε παρουσία του αλγινικού νατρίου.
- Ο συνδυασμός της πολυβινυλοπυρολλιδόνης με τις ουλβάνες στα δισκία, απουσία του εκδόχου υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη, οδηγεί σε μία άμεση και υψηλού ποσοστού αποδέσμευση της μελατονίνης. Η ταχεία αυτή αποδέσμευση της δραστικής ουσίας μπορεί να επιταχυνθεί περισσότερο αυξάνοντας την ποσότητα των ουλβανών και μειώνοντας την ποσότητα της πολυβινυλοπυρολλιδόνης στις δοσολογικές μορφές.
- Η υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη παρατείνει σημαντικά την αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία, ιδιαίτερα όταν βρίσκεται σε συνδυασμό με μία μεγάλη ποσότητα ουλβανών και με μια μικρή ποσότητα της πολυβινυλοπυρολλιδόνης, οδηγώντας κατά αυτόν τον τρόπο σε μια ιδιαίτερα βραδεία αποδέσμευση της δραστικής ουσίας από τις δοσολογικές μορφές.
- Ο δείκτης DE% αυξάνει στις δοσολογικές μορφές που περιέχουν ουλβάνες και πολυβινυλοπυρολλιδόνη, απουσία του εκδόχου υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνη.
- Παρουσία της υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης, οι ουλβάνες σε συνδυασμό με την πολυβινυλοπυρολλιδόνη οδηγούν σε σημαντικές διαφοροποιήσεις αποδέσμευσης της ορμόνης μεταξύ των συνταγών. Αντιθέτως, απουσία της υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης, οι συνταγές φαίνεται να συμπεριφέρονται με παρόμοιο τρόπο ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση των ουλβανών και της πολυβινυλοπυρολλιδόνης.
- Η πολυβινυλοπυρολλιδόνη και οι ουλβάνες φαίνεται πως οδηγούν σε διαφορετικού είδους αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία, είτε παρουσία είτε όχι της υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης.

Γ.2.2 Καψάκια ως φορείς νανοϊκών υποστρωμάτων της μελατονίνης

- Τα νανοϊνώδη υποστρώματα της μελατονίνης βασιζόμενα στα έκδοχα CA, PVP και HPMC παρασκευάστηκαν με επιτυχία μέσω τη διαδικασίας της ηλεκτροϊνοποίησης. Η ανάλυση των παρασκευαζόμενων νανοϊνών με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM) αποκάλυψε τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους, με τις νανοΐνες να έχουν παρασκευαστεί ομοιόμορφα, καλά διαμορφωμένες, χωρίς την παρουσία χαντρών στη δομή τους.
- Σε pH 1.2 οι συνταγές CA1, CA2, PV1, HP1, HP2, καθώς και οι συνταγές των μειγμάτων CAPV1-CAPV5, όταν εισήχθησαν στο εσωτερικό καψακίων σκληρής ζελατίνης παρουσίασαν μία ταχεία αποδέσμευση της μελατονίνης και έτσι φαίνεται να είναι ιδανικές φαρμακοτεχνικές μορφές για την αντιμετώπιση των προβλημάτων στην έναρξη του ύπνου (sleep onset). Σε γενικές γραμμές, η ίδια τάση ακολουθείται και σε pH 6.8, με εξαίρεση τις συνταγές CAPV1 και CAPV2. Όλες οι συνταγές, απλών και αναμεμιγμένων νανοϊνών, μετά την εισαγωγή τους σε εντεροδιαλυτά καψάκια παρουσίασαν επίσης ικανοποιητική αποδέσμευση της μελατονίνης και έτσι είναι κατάλληλες για την ελαχιστοποίηση προβλημάτων σχετιζόμενων με την ποιότητα του ύπνου (sleep quality maintenance).
- Οι CA-MLT συνταγές παρουσίασαν το ίδιο προφίλ αποδέσμευσης σε pH 1.2 και 6.8. Ο διπλασιασμός της συγκέντρωσης της μελατονίνης (από 1 σε 2 mg) στη συνταγή CA2 δεν επηρέασε τη μορφολογία και το μέγεθος των παραγόμενων ινών, αντίθετα, όμως, φαίνεται να οδήγησε σε σημαντική αύξηση την αποδέσμευση της μελατονίνης (70,74% έως 94,43%) στο ίδιο χρονικό διάστημα (30 λεπτά). Αυτή η διαφορά στο ποσοστό αποδέσμευσης της μελατονίνης από τις συνταγές CA1 και CA2, η οποία οφείλεται στη διαφορετική συγκέντρωση της μελατονίνης στο εσωτερικό των νανοϊνών, μπορεί να ερμηνευθεί ικανοποιητικά μέσω της εξίσωσης Higuchi.
- Η χρήση του PEO διαφορετικών μοριακών βαρών στις συνταγές HP1 και HP2 δεν οδήγησε σε σημαντικές διαφορές στη μέση διάμετρο των νανοϊνών. Αντίθετα, φαίνεται, όμως, να διαδραμάτισε σημαντικό ρόλο στην αποδέσμευση της μελατονίνης από τις νανοΐνες, με τη μελατονίνη να αποδεσμεύεται σε υψηλότερο ποσοστό (87,59%) από τη συνταγή HP2 απ' ότι από τη συνταγή HP1 (65.76%). Αυτή η διαφορά στο ποσοστό αποδέσμευσης της μελατονίνης είναι πιθανόν να οφείλεται στο κατά πολύ υψηλότερο μοριακό βάρος του PEO, που χρησιμοποιήθηκε στη συνταγή HP1, συγκρινόμενο με αυτό

στη συνταγή HP2 και το οποίο, όπως φαίνεται, περιόρισε σημαντικά την αποδέσμευση της μελατονίνης από τις ναοΐνες, εντείνοντας ακόμα περισσότερο την εγγενή μικρή διαλυτότητα του PEO.

- Η αυξημένη αποδέσμευση (87.58%) της μελατονίνης σε pH 1.2, εντός 30 λεπτών, από τις PVP-MLT ναοΐνες συγκριτικά με εκείνη από τη συνταγή CA1, μπορεί να αποδοθεί στη μετατροπή της PVP στη *gem*-διόλη (III) σε pH 1.2, η οποία διευκολύνει σημαντικά τη διαλυτότητα της μελατονίνης σε όξινο περιβάλλον. Παράλληλα, η επίσης υψηλή αποδέσμευση της μελατονίνης από τις PVP-MLT ναοΐνες σε pH 6.8, είναι πιθανόν να οφείλεται στη μικρή διάμετρο των ναοϊνών του PVP, η οποία οδηγεί σε υψηλό λόγο επιφανείας/όγκου και συνεπώς σε αυξημένη ταχύτητα διάλυσης της μελατονίνης.
- Η ανάμειξη ναοϊνών CA και PVP για την παρασκευή ναοϊνώδων υποστρωμάτων μελατονίνης (συνταγές CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5) ανέδειξε την επιτυχή ανάμειξη των δύο χρησιμοποιούμενων πολυμερών, με τις ναοΐνες CA σε μορφή κορδέλας και της κυλινδρικού σχήματος ναοΐνες PVP να διατηρούνται ακέραιες και μετά την ανάμειξη. Η αποδέσμευση της μελατονίνης σε pH 1.2 από τη συνταγή CAPV4 (η μελατονίνη βρίσκεται ενθυλακιωμένη στις ναοΐνες της CA) έφτασε το 100%, ενώ, ομοίως από τη συνταγή CAPV5 (η μελατονίνη βρίσκεται ενθυλακιωμένη στις ναοΐνες της PVP) έφτασε το 90.55% στο ίδιο χρονικό διάστημα των 30 λεπτών. Καθίστανται λοιπόν εμφανές, ότι από τις παραπάνω συνταγές, η αποδέσμευση της μελατονίνης από τα μείγματα των ναοϊνών CA και PVP παραμένει αμετάβλητη είτε η μελατονίνη βρίσκεται ενθυλακιωμένη στις ναοΐνες της CA είτε στις ναοΐνες της PVP.

Δ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μελατονίνη (*N*-ακετυλο-5-μεθοξυθρυπταμίνη), συντίθεται κυρίως στην επίφυση του εγκεφάλου από το αμινοξύ *L*-θρυπτοφάνη, ακολουθώντας έναν κίρκαδιανό ρυθμό με περιοδικότητα 24 ωρών και λειτουργεί ως το βιολογικό ρολόι του οργανισμού, το οποίο ελέγχει σχεδόν όλες τις φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού. Η σύνθεση της μελατονίνης στον άνθρωπο γίνεται με φωτοπεριοδικό τρόπο και είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την προσαρμογή του οργανισμού στον κύκλο ημέρας-νύχτας, με τη μελατονίνη να παράγεται και να εκκρίνεται σχεδόν αποκλειστικά κατά τη διάρκεια της νύχτας, καθώς το φως αναστέλλει την παραγωγή της. Η ενδογενής αυτή ορμόνη ασκεί πολλές από τις δράσεις της μέσω της ενεργοποίησης των MT1 και MT2 υποδοχέων της, που ανήκουν στην κατηγορία υποδοχέων που είναι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες. Σύμφωνα με μελέτες, η εξωγενής χορήγηση μελατονίνης σε ασθενείς με προβλήματα ύπνου μπορεί να προκαλέσει μετατοπίσεις στον κίρκαδιανό ρυθμό και να βελτιώσει σημαντικά την ποιότητα και τη διάρκεια του ύπνου. Παρολ' αυτά, η χρήση της μελατονίνης σε φαρμακευτικά σκευάσματα, που μιμούνται το φυσιολογικό ρυθμό έκκρισης της ορμόνης, είναι περιορισμένη, εξαιτίας του μικρού χρόνου ημιζωής και της χαμηλής βιοδιαθεσιμότητάς της.

Στην παρούσα εργασία διεξήχθησαν μελέτες που αφορούσαν στην παρασκευή δισκίων και καψακίων τροποποιημένης αποδέσμευσης της μελατονίνης, με στόχο τόσο την αντιμετώπιση προβλημάτων έναρξης του ύπνου (sleep onset), όσο και τη βελτίωση της ποιότητάς του (sleep quality/maintenance). Τα χαρακτηριστικά της αποδέσμευσης της μελατονίνης από αυτές τις φαρμακοτεχνικές μορφές συγκρίθηκαν με εκείνα του εμπορικά διαθέσιμου σκευάσματος Circadin®. Σε όλες τις περιπτώσεις επιδιώχθηκε η ολοκλήρωση της αποδέσμευσης της μελατονίνης εντός διαστήματος οχτώ ωρών. Οι μελέτες αποδέσμευσης από τα δισκία και τα καψάκια πραγματοποιήθηκαν αρχικά σε μέσο διάλυσης με pH 1.2 και στη συνέχεια σε μέσο διάλυσης με pH 6.8, προκειμένου να προσομοιαστεί η *in vivo* μεταφορά κατά την απορρόφηση του φαρμάκου, από τις όξινες συνθήκες του στομάχου στο αλκαλικό περιβάλλον του λεπτού εντέρου. Για την παρασκευή των δισκίων εκτός από τα κοινώς χρησιμοποιούμενα έκδοχα, χρησιμοποιήθηκε και ένα νέο πολυμερές θαλάσσιας προέλευσης, οι ουλβάνες. Οι ουλβάνες είναι θαλάσσιοι πολυσακχαρίτες και χρησιμοποιήθηκαν στα δισκία της παρούσας εργασίας ως ένα φυσικό βιοπολυμερές κατάλληλο για την παρασκευή συστημάτων τύπου μήτρας, το οποίο σχηματίζει ένα στρώμα υδρογέλης που περιβάλλει τη φαρμακοτεχνική μορφή και επιτρέπει την παρατεταμένη αποδέσμευση της δραστικής ουσίας στον οργανισμό. Όσον αφορά στα καψάκια, για την πλήρωσή τους παρασκευάστηκαν, με την τεχνική της ηλεκτροϊνοποίησης, νανοϊνώδη υποστρώματα από πολυμερικά υλικά, στα οποία έχει ενσωματωθεί η μελατονίνη. Τα νανοϊνώδη αυτά υποστρώματα εισήχθησαν στη συνέχεια στο εσωτερικό καψακίων σκληρής ζελατίνης και εντεροδιαλυτών καψακίων, από τα οποία

μελετήθηκε η αποδέσμευση της μελατονίνης. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα τα οποία ελήφθησαν από τις μελέτες αποδέσμευσης, κατέδειξαν ότι οι ουλβάνες, σε συνδυασμό με τα κοινώς χρησιμοποιούμενα έκδοχα οδηγούν σε μια εξαιρετική ενυδάτωση, διόγκωση και διάβρωση της πολυμερικής μήτρας και κατ' επέκταση σε μια υψηλού ποσοστού αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δισκία, ακόμα και σε σύγκριση με το επίσης θαλάσσιας προέλευσης αλγινικό νάτριο. Οι πολυμερικές νανοΐνες που παρασκευάστηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, για την πλήρωση των καψακίων αποτελούν πολλά υποσχόμενα δυναμικά συστήματα μεταφοράς φαρμάκων για per os χορήγηση. Συγκεκριμένα, στο εσωτερικό των καψακίων εισήχθησαν απλές νανοΐνες ενός μόνο υλικού (CA, PVP, HPMC/PEO), καθώς και μείγματα νανοϊνών πολλών εκδόχων (CA, PVP), τα οποία φαίνεται να προκαλούν μια καθυστέρηση στην αρχική αποδέσμευση της μελατονίνης. Συνολικά, τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι σε pH 1.2 οι συνταγές CA1, CA2, PV1, HP1, HP2 και οι συνταγές μειγμάτων CAPV1-CAPV5, όταν εισήχθησαν στο εσωτερικό καψακίων σκληρής ζελατίνης παρουσίασαν μια ταχεία αποδέσμευση της μελατονίνης και έτσι φαίνεται να είναι ικανοποιητικές φαρμακοτεχνικές μορφές για την αντιμετώπιση των προβλημάτων έναρξης του ύπνου (sleep onset). Σε γενικές γραμμές, η ίδια τάση ακολουθείται και σε pH 6.8, με εξαίρεση τις συνταγές CAPV1 και CAPV2. Όλες οι συνταγές, απλών και αναμειγμένων νανοϊνών, μετά την εισαγωγή τους σε εντεροδιαλυτά καψάκια, παρουσίασαν επίσης ικανοποιητική αποδέσμευση της μελατονίνης με αποτέλεσμα να θεωρούνται κατάλληλες για την ελαχιστοποίηση προβλημάτων σχετιζομένων με την ποιότητα του ύπνου (sleep quality maintenance).

E. ABSTRACT

Melatonin (*N*-acetyl-5-methoxy tryptamine) is synthesized primarily by the pineal gland from the essential amino acid tryptophan, follows a circadian rhythm with a periodicity of approximately 24h and maintains the internal clock of the body that regulate most of the major physiological systems. The synthesis of the neurohormone in humans is regulated from the prevailing light/dark environment and it is inextricably linked to the body adaptation to the day-night cycle, with the production and secretion of the neurohormone taking place almost only during the night, as the light signals inhibit its production. Melatonin participates in many physiological functions by acting through MT1 and MT2 receptors, that belong to the G-protein receptor family. Studies have shown, that exogenous administrated melatonin in patients with sleep disturbances can induce phase shifts in the circadian rhythm, encouraging sleep quality and duration. However, the use of melatonin in dosage forms, which mimic the physiologically secreted hormone concentration versus time model, is hampered by its short biological half-life and poor bioavailability.

In the context of this study, a series of melatonin modified released tablets and capsules was prepared and tested in order to treat sleep onset problems and also improve the sleep quality and maintenance. Melatonin's release characteristics from these new formulations were compared with those of the market drug Circadin[®]. In both cases, it was intended to achieve completion of the hormone's release within eight hours. The release studies were conducted in two media, initially at pH 1.2 dissolution media and then at pH 6.8 dissolution media, in order to simulate the *in vivo* transference of the drug from the gastric fluids to the intestine fluids. In some tablets, except of some commonly used excipients, it was used a new polymeric biomaterial that is extracted from the green seaweeds, known as ulvan. Ulvan is a marine polysaccharide suitable for controlled release tablet matrices, that after the interaction with the physiological fluids, starts swelling and at the same time release the incorporated drug with a sustained release rate. According to the capsules, novel fibrous biocomposites comprising melatonin were successfully prepared using the electrospinning technique. These nanofibers were then introduced into commonly used and DRcaps[™] capsules, from where was studied melatonin's release. In summary, the results of the melatonin release from all the above dosage forms showed that these combinations of marine derived ulvan and classical excipients leads to a high rate of hydration, swelling and erosion of the polymeric matrix and in that way in a high rate release of melatonin from the tablets, even if compared with other marine polysaccharides, such as sodium alginate. The electrospun nanofibers developed in the present study show potential as promising drug delivery systems for the *per os* administration of melatonin. At pH 1.2, the formulations CA1, CA2, PV1, HP1, HP2 and the composite formulations CAPV1-CAPV5, with hard gelatin capsules, exhibited rapid MLT release, a

suitable profile for alleviating sleep onset problems. In general, the same trend is followed at pH 6.8, with the exception of CAPV1 and CAPV2. On the other hand, all formulations, composite and not, with DRcapsTM capsules filled with the nanofiber: MLT systems, are suitable for delivering melatonin in a modified manner, with a potential for treating sleep maintenance dysfunctions.

ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΣΤ.1 ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Al-Tabakha MM, Arida AI, Fafelelbom KMS, Sadek B, Jarad RAA (2015) Performances of New Generation of Delayed Release Capsules, *Journal of Young pharmaceutics*, Vol 7, pp 36-44
- Altun A, Ugur-Altun B (2007) Melatonin: therapeutic and clinical utilization, *International Journal of Clinical Practice*, Vol 61, No 5, pp 835-845
- Alves A, Sousa RA, Reis RL (2013) A practical perspective on ulvan extracted from green algae, *Journal of Applied Phycology*, Vol 25, pp 407-424
- Arendt J, Van Someren EJW, Appleton R, Skene DJ, Akerstedt T (2008) Clinical update: melatonin and sleep disorders, *Clinical Medicine*, Vol 8, No 4, pp 381-383
- Auld F, Maschauer EL, Morrison I, Skene DJ, Riha RL (2016) Evidence for the efficacy of melatonin in the treatment of primary adult sleep disorders, *Sleep Medicine Reviews*, pp 1-31
- Balogh, A, Farkas B, Verreck G, Mensch J, Borbás E, Nagy B, Marosi G, Nagy ZK (2016) AC and DC electrospinning of hydroxypropylmethylcellulose with polyethylene oxides as secondary polymer for improved drug dissolution, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol 30, pp 159-166
- 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, in *Current Topics in Medicinal Chemistry*, Bentham Science, Vol 2, Issue 2, pp 113-132
- Boutin JA, Audinot V, Ferry G, Delagrangre P (2005) Molecular tools to study melatonin pathways and actions, *TRENDS in Pharmacological Sciences*, Vol 26, No 8, pp 412-419
- Bubenik GA, Konturek SJ (2011) Melatonin and aging: Prospects for human treatment, *Journal of Physiology and Pharmacology*, Vol 62, No 1, pp 13-19
- Buzzi V, Brunder M, Wagner TM, Bazzo GC, Paula Testa Pezzin A, Abatti Kasper Silva D (2013) Caboxymethylcellulose/Gelatin Blends Loaded with Piroxicam: Preparation, Characterization and Evaluation of *in Vitro*, Release Profile, *Journal of Encapsulation and Absorption Sciences*, Vol 3, pp 99-107
- Cardoso MJ, Costa RR, Mano JF, (2016), Marine Origin Polysaccharides in Drug Delivery Systems, *Marine Drugs*, Vol 14, No 34, pp 1-27
- Chiellini F, Morelli A (2011) Ulvan: A Versatile Platform of Biomaterials from Renewable Resources, in Pignatello RE (ed), *Biomaterials- Physics and Chemistry*, Intech, Chapter 4, pp 75-98

- Cole ET, Connor AL, Wilding BR, Petereit HU, Schminke C, Beckert T, Cadé D (2002) Enteric coated HPMC capsules designed to achieve intestinal targeting, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol 231, pp 83-95
- Cunha L, Grenha A (2016) Sulfated Seaweed Polysaccharides as Multifunctional Materials in Drug Delivery Applications, *Marine Drugs*, Vol 14, No 42, pp 1-41
- Dixit N, Maurya SD, PS Sagar B (2013) Sustained release drug delivery system, *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, Vol 1, No 3, pp 305-310
- European Pharmacopoeia 5.0, Ammonio methacrylate copolymer (type B), *Monographs A*, pp 984-985
- Ferracioli-Oda E, Qawasmi A, Bloch MH (2013) Meta-Analysis: Melatonin for the Treatment of Primary Sleep Disorders, *PLoS ONE*, Vol 8, Issue 5, pp 1-6
- Fourtillan JB, Brisson AM, Gobin P, Ingrand I, Decourt Jph, Girault J (2000) Bioavailability of Melatonin in Humans after Day-time Administration of D₇ Melatonin, *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, Vol 21, pp 15-22
- Frenot A, Chronakis IS (2003) Polymer nanofibers assembled by electrospinning, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, Vol 8, pp 64-75
- Gagnier JJ (2001) The Therapeutic Potential of Melatonin in Migraines and other Headache Types, *Alternative Medicine Review*, Vol 6, No 4, pp 383-389
- Garg T, Rath G, Goyal AK (2014) Biomaterials-based nanofiber scaffold: targeted and controlled carrier for cell and drug delivery, *Journal of Drug Target*, pp 1-20
- Gohel MC (2005) A review of co-processed directly compressible excipients, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol 8, No 1, pp 76-93
- Haaf F, Sanner A, Straub F (1985) Polymers of *N*-Vinylpyrrolidone: Synthesis, Characterization and Uses, *Polymer Journal*, Vol 17, No 1, pp 143-152
- Hamori M, Yoshimatsu S, Hukuchi Y, Shimizu Y, Fukushima K, Sugioka N, Nishimura A, Shibata N (2014) Preparation and pharmaceutical evaluation of nano-fiber matrix supported drug delivery system using the solvent-based electrospinning method, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol 464, pp 243-251
- Herxheimer A, Petrie KJ (2009) Melatonin for the prevention and treatment of jet lag, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 2, pp 1-20
- Holowka EP, Bhatia SK (2014) Controlled-Release Systems, in *Drug Delivery: Materials Design and Clinical Perspective*, Springer Science + Business Media, XVII, Chapter 2, pp 7-62
- Hussain SA, Khadim HM, Khalaf BH, Ismail SH, Hussein KI, Sahib AS (2006) Effects of melatonin and zinc on glycemic control in type 2 diabetic patients poorly controlled

- with metformin, Saudi Medicinal Journal, Vol 27, No 10, pp 1483-1488
- Huynh CT, Lee DS (2014) Controlled Release, Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials, pp -1-12
- Ibrahim HM, El-Zairy EMR (2015) Chitosan as a Biomaterial- Structure, Properties, and Electrospun Nanofibers, Concepts, in Dr Varaprasad Bobbarala (ed) *Compounds and the Alternatives of Antibacterials*, Intech, Chapter 4, pp 81-101
- Iriti M, Varoni EM, Vitalini S (2010) Melatonin in traditional Mediterranean diets, Journal of Pineal Research, Vol 49, pp 101-105
- Jadhav NR, Paradkar AR, Salunkhe NH, Karade RS, Mane GG (2013) Talc: A versatile pharmaceutical excipient, World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Vol 2, Issue 6, pp 4639-4660
- Jean A Boutin, Audinot V, Ferry G, Delagrangre P (2005) Molecular tools to study melatonin pathways and actions, Trends in Pharmacological Sciences, Vol 26, No 8, pp 412-419
- Khan KA (1975) The concept of dissolution efficiency, COMMUNICATIONS, Journal of Pharmacy and Pharmacology, Vol 27, pp 48-49
- Kikionis S, Ioannou E, Toskas G, Roussis V (2015) Electrospun biocomposite nanofibers of ulvan/PCL and ulvan/PEO, Journal of Applied Polymer Science, pp 1-5
- Korsmeyer RW, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas NA (1983) Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers, International Journal of Pharmaceutics, Vol 15, pp 25-35
- Kumbar SG, Nair LS, Bhattacharyya S, Laurencin CT (2006) Polymeric Nanofibers as Novel Carriers for the Delivery of Therapeutic Molecules, Journal of Nanoscience and Nanotechnology, Vol 6, No 9/10, pp 2591-2607
- Kushal M, Monali M, Durgavati M, Mittal P, Umesh S, Pragna S (2013) Oral controlled release delivery system: an overview, International Research Journal of Pharmacy, Vol 4, No 3, pp 70-76
- Lahaye M, Robic A (2007) Structure and Functional Properties of Ulvan, a Polysaccharide from Green Seaweeds, Biomacromolecules, Vol 8, No 6, pp 1766- 1774
- Lee JH, Kim MJ, Yoon H, Shim CR, Ko HA, Cho SA, Lee D, Khang G (2013) Enhanced dissolution rate of celecoxib using PVP and/or HPMC based solid dispersions prepared by spray drying method, International Journal of Pharmaceutical Investigation, Vol 43, pp 205-213
- Ling ZQ, Tian Q, Wang L, Fu ZQ, Wang XC, Wang Q (2009) Constant illumination induces

- Alzheimer like damages with endoplasmic reticulum involvement and the protection of melatonin, *Journal of Alzheimer's Disease*, Vol 16, pp 287-300
- Maestroni GJ (1999) Therapeutic potential of melatonin in immunodeficiency states, viral diseases, and cancer, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Vol 467, pp 217-226
- Majee SB, Avlani D, Biswas GR (2017) Pharmacological, pharmaceutical, cosmetic and diagnostic applications of sulfated polysaccharides from marine algae and bacteria, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Vol 11, No 5, pp 68-77
- Malhotra S, Sawhney G, Pandhi P (2004) The Therapeutic Potential of Melatonin: A Review of the Science, *Medscape General Medicine*, Vol 6, No 2, pp 1-46
- Mills E, Wu P, Seely D, Guyatt G (2005) Melatonin in the treatment of cancer: a systematic review of randomized controlled trials and meta-analysis, *Journal of Pineal Research*, Vol 39, pp 360-366
- Moore JW, Flanner HH (1996) Mathematical Comparison of Curves with an Emphasis on *in Vitro* Dissolution Profiles, *Pharmaceutical Technology*, Vol 20, pp 64-74
- Morelli A, Chiellini F (2010) Ulvan as a New Type of Biomaterial from Renewable Resources: Functionalization and Hydrogel Preparation, *Macromolecular Chemistry and Physics*, Vol 211, pp 821-832
- Mulye NV, Turco SJ (1994) Use of Dicalcium Phosphate Dihydrate for sustained release of highly water soluble drugs, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, Vol 20, No 17, pp 262-263
- National Center for Biotechnology Information (2017) PubChem Compound Database, CID=896
- Nokhodchi A, Raja S, Patel P, Asare-Addo K (2012) The Role of Oral Controlled Release Matrix Tablets in Drug Delivery Systems, *BioImpacts*, Vol 2, No 4, pp 175-187
- Paaver U, Heinämäki J, Laidmäe I, Lust A, Kozlova J, Sillaste E, Kirsimäe K, Veski P, Kogermann K (2015) Electrospun nanofibers as a potential controlled-release solid dispersion system for poorly water-soluble drugs, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol 479, pp 252-260
- Pagel JF, Bennett LP (2001) Medications for the Treatment of Sleep Disorders: An Overview, *Primary Care Companion to the Journal of Clinical Psychiatry*, Vol 3, No 3, pp 118-125
- Pandav S, Naik J (2014) Sustained release of ramipril from ammonio methacrylate copolymer matrix prepared by high pressure homogenizer, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 6, Issue 1, pp 349-353

- Papadopoulou V, Kosmidis K, Vlachou M, Macheras P (2006) On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol 309, pp 44-50
- Patel H, Panchal DR, Patel U, Brahmabhatt T, Suthar M (2011) Matrix Type Drug Delivery System: A Review, *Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research*, Vol 1, Issue 3, pp 143-151
- Patel SM, Patel RP, Prajapati BG (2012) Solubility enhancement of benfotiamine, a lipid derivative of thiamine by solid dispersion technique, *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, Vol 4, pp 104-105
- Paulis L, Simko F (2007) Blood Pressure Modulation and Cardiovascular Protection by Melatonin: Potential Mechanisms Behind, *Physiological Research*, Vol 56, pp 671-684
- Parashar T, Soniya, Singh V, Singh G, Tyagi S, Patel C, Gupta A (2013) Novel oral sustained release technology: a concise review, *International Journal of Research and Development in Pharmacy & Life Sciences*, Vol 2, No 2, pp 262-269
- Perrie Y, Rades T (2012) Controlling drug delivery in *Pharmaceutics: Drug Delivery and Targeting*, 2th edn, Pharmaceutical Press, Chapter 1, pp 1-23
- Ramteke KH, Dighe PA, Kharat AR, Patil SV (2014) Mathematical Models of Drug Dissolution: A Review, *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, Vol 3, No 5, pp 388-396
- Reiter RJ, Manchester LC, Tan DX (2010) Neurotoxins: Free Radical Mechanisms and Melatonin Protection, *Current Neuropharmacology*, Vol 8, pp 194-210
- Rinaki E, Dokoumetzidis A, Macheras P (2003) The Mean Dissolution Time Depends on the Dose/Solubility Ratio, *Pharmaceutical Research*, Vol 20, No3, pp 406-408
- Rowe RC, Sheskey PJ, Owen SC (2006) *Handbook of pharmaceutical excipients*, 5th edn, Pharmaceutical Press
- Sack RL (2010) Clinical Practise: Jet lag, *The New England Journal of Medicine*, Vol 362, pp 440-447
- Sahoo PK (2007) *Tablets*, Delhi Institute of Pharmaceutical Sciences and Research, pp 1-42
- Sampath Kumar KP, Bhowmik D, Srivastava S, Paswan S, Dutta AS (2012) Sustained Release Drug Delivery System Potential, *The Pharma Innovation Journal*, Vol 1, No 2, pp 48-60
- Siepmann J, Peppas NA (2012) Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxylpropyl methylcellulose (HPMC), *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol 64, pp 163-174

- Sinko PJ, Singh Y (2011) *Martin's Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Sixth Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore
- Shah AP, Bhandary SR (2010) POLYOX (polyethylene oxide)- applications in pharma industry, *Pharmaceutical Reviews*, Vol 8, No 3
- Shaikh HK, Kshirsagar RV, Patil SG (2015) Mathematical models for drug release characterization: a review, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 4, Issue 4, pp 324-338
- Sharifi F, Sooriyachchi AC, Altural H, Montazami R, Rylander MN, Hashemi N (2016) Fiber-Based Approaches as Medicine Delivery Systems, *ACS Biomaterials Science and Engineering*, pp 1-64
- Shokri J, Adibkia K (2013) Application of Cellulose and Cellulose Derivatives in Pharmaceutical Industries, in Theo van de Ven and Godbout L (ed), *Cellulose: Medical, Pharmaceutical and Electronic Applications*, Chapter 3, pp 47-66
- Skoug JW, Borin MT, Fleishaker JC, Cooper AM (1991) *In vitro* and *in vivo* evaluation of whole and half tablets of sustained-release adinazolammesylate, *Pharmaceutical Research*, Vol 8, pp 1482-1488
- Son YJ, Kim WJ, Yoo HS (2014) Therapeutic applications of electrospun nanofibers for drug delivery systems, *Archives of Pharmaceutical Research*, Vol 37, pp 69-78
- Sriamornsak T, Thirawong N, Weerapol Y, Nunthanid J, Sungthongjeen S (2007) Swelling and erosion of pectin matrix tablets and their impact on drug release behavior, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Vol 67, pp 211-219
- Srinivasan V, Spence DW, Pandi-Perumal SR, Trakht I, Cardinali DP (2008) Therapeutic Actions of Melatonin in Cancer: Possible Mechanisms, *Integrative Cancer Therapies*, Vol. 7, No 3, pp 189-203
- Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ (1993) Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger, *Endocrine Journal*, Vol 1, pp 57-60
- Tan DX, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ (2006) One molecule, many derivatives: A never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species, *Journal of Pineal Research*, Vol 42, pp 28-42
- Terman M, Terman JS, Quitkin FM, Cooper TB, Lo ES, Gorman JM, Stewart JW, McGrath PJ (1988) Response of the melatonin cycle to phototherapy for Seasonal Affective Disorder, *Journal of Neural Transmission*, Vol 72, pp 147-165
- Toskas G, Hund RD, Laourine E, Cherif C, Smyrniotopoulos V, Roussis V (2011) Nanofibers based on polysaccharides from the green seaweed *Ulva Rigida*, *Carbohydrate Polymers*,

Vol 84, pp 1093-1102

- Touitou Y, Reinberg A, Touitou D (2017) Association between light at night, melatonin secretion, sleep deprivation, and the internal clock: Health impacts and mechanisms of circadian disruption, *Life Sciences*, Vol 173, pp 94-106
- Tukaram BN, Rajagopalan IV, Shartchandra PSI (2010) The Effects of Lactose, Microcrystalline Cellulose and Dicalcium Phosphate on Swelling and Erosion of Compressed HPMC Matrix Tablets: Texture Analyzer, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, Vol 9, No 4, pp 349-358
- Tønnesen HH, Karlsen J (2002) Alginate in Drug Delivery Systems, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, Vol 28, No 6, pp 621-630
- Verreck G, Chun I, Peeters J, Rosenblatt J, Brewster ME (2003) Preparation and characterization of nanofibers containing amorphous drug dispersions generated by electrostatic spinning, *Pharmaceutical Research*, Vol 20, pp 810–817
- Vlachou M, Siamidi A, Pareli I, Zampakola A, Konstantinidou S (2016) An account of modified release of melatonin from compression-coated, uncoated and bilayer tablets, *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 1, pp 10-14
- Vlachou M, Siamidi A, Spaneas A, Lentzos D, Ladia P, Anastasiou K, Papanastasiou I, Foscolos AS, Georgiadis MO, Karalis V, Kellici T, Mavromoustakos T (2017) *In vitro* controlled release of two new tuberculocidal adamantane aminoethers from solid pharmaceutical formulations (II), *Drug Research*, Vol 67, pp 1-8
- Wehr TA, Wirz-Justice A, Goodwin FK, Duncan W, Gillin JC (1979) Phase advance of the circadian sleep-wake cycle as an antidepressant in *Science*, American Association for the Advancement of Science, Vol 206, Issue 4419, pp 710-713

ΣΤ.2 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αντιμησιάρη ΣΓ (2012) Σημειώσεις Φαρμακευτικής Τεχνολογίας ΙΙ: Μορφές χορήγησης φαρμάκων, Εισαγωγή στη Φαρμακευτική Νανοτεχνολογία, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών
- Αυγουστάκης Κ (2012) Σημειώσεις Φαρμακευτικής Τεχνολογίας ΙΙ: Στερεές και Αέριες Φαρμακομορφές, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών
- Ρέππα Χ, Βαλσαμή Γ, Συμμυλίδου Μ, Μαχαίρας Π, Δοκουμετζίδης Α (2017) Στατιστικές Μέθοδοι και Εφαρμογές στη Φαρμακευτική, Σημειώσεις Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών Βιομηχανική Φαρμακευτική, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Βαλσαμή Γ, Συμμυλίδου Μ (2014) Σημειώσεις Εργαστηριακών Μαθημάτων και Ασκήσεων Βιοφαρμακευτικής-Φαρμακοκινητικής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εργαστήριο Βιοφαρμακευτικής-Φαρμακοκινητικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Βλάχου-Κωνσταντινίδου ΜΔ (2016-2017) Φυσική Φαρμακευτική, Σημειώσεις Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών Βιομηχανική Φαρμακευτική, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Εφεντάκης Μ (2004) Φαρμακευτική τεχνολογία των στερεών φαρμακευτικών μορφών, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Ιωαννίδου Β (2012) Διπλωματική εργασία Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης: Χρονοβιοτική Ορμόνη Μελατονίνη: Μελέτες ελεγχόμενης αποδέσμευσης από υδρόφιλες μήτρες, Αθήνα
- Καραγιαννίδου ΕΓ, Σιδερίδου ΕΔ (2010) Εφαρμογή των πολυμερών στην παραγωγή φαρμακευτικών σκευασμάτων με ελεγχόμενη απελευθέρωση της δραστικής ουσίας, Μέρος Ι, Χημικά Χρονικά, 2, σελ 21-26
- Μπαλαξή ΜΔ (2009) Διπλωματική εργασία Διδακτορικής Διατριβής: Ανάπτυξη συστήματος πολλαπλών δοσομονάδων για τριμερή αποδέσμευση φαρμάκων στο στόμαχο, το λεπτό και το παχύ έντερο, Θεσσαλονίκη

Z. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Z.1 ΔΙΣΚΙΑ

Πίνακας Z1: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 1 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 2.56 | 3.21 | 3.52 | 3.10 | 0.49 | 15.82 |
| 60 | 4.51 | 6.86 | 8.11 | 6.49 | 1.83 | 28.15 |
| 90 | 18.46 | 24.71 | 23.64 | 22.27 | 3.34 | 15.02 |
| 120 | 38.12 | 48.84 | 43.34 | 43.43 | 5.36 | 12.35 |
| 150 | 51.58 | 60.55 | 63.97 | 58.70 | 6.40 | 10.90 |
| 180 | 71.61 | 61.95 | 72.85 | 68.80 | 5.97 | 8.67 |
| 240 | 86.60 | 96.95 | 90.36 | 91.30 | 5.24 | 5.74 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z2: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 2 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 15.23 | 13.23 | 14.52 | 14.33 | 1.01 | 7.08 |
| 60 | 31.90 | 31.93 | 30.09 | 31.31 | 1.05 | 3.36 |
| 90 | 39.99 | 32.00 | 42.65 | 38.21 | 5.54 | 14.50 |
| 120 | 45.43 | 38.31 | 53.44 | 45.73 | 7.57 | 16.55 |
| 150 | 69.61 | 49.10 | 70.50 | 63.07 | 12.11 | 19.20 |
| 180 | 88.83 | 65.32 | 76.54 | 76.90 | 11.76 | 15.29 |
| 240 | 84.82 | 78.64 | 80.23 | 81.23 | 3.21 | 3.95 |
| 300 | 78.75 | 80.51 | 97.32 | 85.53 | 10.25 | 11.99 |
| 360 | 87.06 | 84.97 | 100.00 | 90.67 | 8.14 | 8.98 |
| 420 | 87.15 | 89.17 | 100.00 | 92.11 | 6.91 | 7.50 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z3: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 3 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0,00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 24.70 | 30.94 | 26.66 | 27.44 | 3.19 | 11.63 |
| 60 | 39.02 | 41.71 | 39.21 | 39.98 | 1.50 | 3.76 |
| 90 | 39.11 | 54.29 | 45.54 | 46.31 | 7.62 | 16.45 |
| 120 | 65.06 | 73.14 | 67.93 | 68.71 | 4.10 | 5.96 |
| 150 | 83.93 | 93.81 | 87.70 | 88.48 | 4.99 | 5.64 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100,00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z4: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 4 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 11.32 | 14.89 | 11.95 | 12.72 | 1.90 | 14.97 |
| 60 | 23.83 | 26.52 | 24.01 | 24.79 | 1.50 | 6.05 |
| 90 | 25.67 | 33.71 | 28.53 | 29.30 | 4.08 | 13.91 |
| 120 | 31.97 | 37.35 | 33.49 | 34.27 | 2.77 | 8.09 |
| 150 | 43.63 | 52.59 | 46.94 | 47.72 | 4.53 | 9.49 |
| 180 | 63.45 | 57.90 | 66,55 | 62.64 | 4.38 | 7.00 |
| 240 | 86.65 | 85.65 | 93.87 | 88.72 | 4.48 | 5.05 |
| 300 | 99.08 | 100.00 | 100.00 | 99.69 | 0.53 | 0.54 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100,00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z5: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 5 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 29.34 | 30.41 | 30.00 | 29.92 | 0.54 | 1.80 |
| 60 | 39.92 | 36.52 | 40.00 | 38.82 | 1.99 | 5.12 |
| 90 | 66.77 | 61.74 | 60.00 | 62.84 | 3.51 | 5.59 |
| 120 | 89.21 | 84.32 | 80.00 | 84.51 | 4.61 | 5.45 |
| 150 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z6: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 6 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 18.64 | 17.45 | 18.75 | 18.28 | 0.72 | 3.94 |
| 60 | 39.25 | 40.85 | 40.32 | 40.14 | 0.82 | 2.03 |
| 90 | 58.32 | 59.84 | 59.23 | 59.13 | 0.76 | 1.29 |
| 120 | 75.84 | 73.15 | 76.31 | 75.10 | 1.71 | 2.27 |
| 150 | 82.65 | 84.22 | 85.32 | 84.06 | 1.34 | 1.60 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z7: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 7 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 25.48 | 26.12 | 23.41 | 25.00 | 0.54 | 2.16 |
| 60 | 62.79 | 62.23 | 68.47 | 64.50 | 1.99 | 3.08 |
| 90 | 79.81 | 89.12 | 80.63 | 83.19 | 3.51 | 4.22 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 4.61 | 4.61 |
| 150 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z8: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 15.32 | 14.87 | 14.65 | 14.95 | 0.34 | 2.28 |
| 60 | 39.56 | 37.96 | 35.45 | 37.66 | 2.07 | 5.49 |
| 90 | 40.01 | 45.01 | 45.34 | 43.45 | 2.99 | 6.88 |
| 120 | 55.56 | 54.07 | 52.58 | 54.07 | 1.49 | 2.76 |
| 150 | 69.34 | 65.83 | 68.74 | 67.97 | 1.88 | 2.76 |
| 180 | 87.42 | 80.54 | 85.02 | 84.33 | 3.49 | 4.14 |
| 240 | 95.32 | 92.32 | 96.21 | 94.62 | 2.04 | 2.15 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Ζ9: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 9 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 20.32 | 22.54 | 23.48 | 22.11 | 1.62 | 7.34 |
| 60 | 46.20 | 49.92 | 54.19 | 50.10 | 4.00 | 7.98 |
| 90 | 64.46 | 66.82 | 65.90 | 65.73 | 1.19 | 1.81 |
| 120 | 85.75 | 81.23 | 79.62 | 82.20 | 3.18 | 3.87 |
| 150 | 96.64 | 98.32 | 95.63 | 96.86 | 1.36 | 1.40 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Ζ10: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 10 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 15.78 | 21.13 | 24.70 | 20.54 | 4.49 | 21.85 |
| 60 | 24.74 | 29.21 | 31.00 | 28.31 | 3.23 | 11.39 |
| 90 | 29.25 | 36.40 | 33.74 | 33.13 | 3.62 | 10.92 |
| 120 | 36.45 | 42.73 | 40.95 | 40.04 | 3.24 | 8.08 |
| 150 | 48.12 | 50.85 | 49.96 | 49.64 | 1.39 | 2.80 |
| 180 | 49.66 | 55.88 | 49.71 | 51.75 | 3.58 | 6.91 |
| 240 | 64.10 | 66.21 | 66.21 | 65.51 | 1.22 | 1.86 |
| 300 | 80.60 | 74.51 | 78.61 | 77.91 | 3.11 | 3.99 |
| 360 | 101.24 | 91.03 | 72.53 | 88.27 | 14.55 | 16.49 |
| 420 | 101.35 | 95.24 | 84.94 | 93.84 | 8.29 | 8.84 |
| 480 | 107.63 | 93.29 | 87.09 | 96.00 | 10.54 | 10.97 |

Πίνακας Ζ11: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 11 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 24.70 | 28.27 | 31.45 | 28.14 | 3.38 | 12.00 |
| 60 | 33.67 | 34.57 | 46.48 | 38.24 | 7.15 | 18.70 |
| 90 | 39.99 | 39.11 | 56.86 | 45.32 | 10.00 | 22.08 |
| 120 | 48.10 | 49.00 | 68.36 | 55.16 | 11.44 | 20.75 |
| 150 | 56.24 | 57.14 | 72.76 | 62.04 | 9.29 | 14.98 |
| 180 | 58.09 | 62.38 | 74.98 | 65.15 | 8.78 | 13.47 |
| 240 | 74.76 | 70.12 | 76.00 | 73.63 | 3.10 | 4.21 |
| 300 | 84.86 | 82.94 | 74.21 | 80.67 | 5.68 | 7.04 |
| 360 | 86.90 | 85.32 | 83.21 | 85.14 | 1.85 | 2.17 |
| 420 | 90.71 | 84.56 | 91.54 | 88.94 | 3.81 | 4.29 |
| 480 | 96.90 | 90.79 | 93.14 | 93.61 | 3.08 | 3.29 |

Πίνακας Ζ12: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία της συνταγής 12 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 10.43 | 11.32 | 12.22 | 11.32 | 0.89 | 7.87 |
| 60 | 16.70 | 17.59 | 18.49 | 17.59 | 0.89 | 5.08 |
| 90 | 23.87 | 22.09 | 23.88 | 23.28 | 1.03 | 4.42 |
| 120 | 31.95 | 36.41 | 31.96 | 33.44 | 2.57 | 7.69 |
| 150 | 37.37 | 37.38 | 38.27 | 37.67 | 0.52 | 1.37 |
| 180 | 66.02 | 70.14 | 72.19 | 69.45 | 3.14 | 4.53 |
| 240 | 82.53 | 88.71 | 88.71 | 86.65 | 3.57 | 4.12 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100,00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z13: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία δισκία του εμπορικού σκευάσματος *Circadin*[®] σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|----------|----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Δισκίο 1 | Δισκίο 2 | Δισκίο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 24.70 | 25.59 | 25.59 | 25.30 | 1.62 | 6.41 |
| 60 | 36.35 | 39.03 | 38.13 | 37.84 | 4.00 | 10.56 |
| 90 | 39.10 | 42.68 | 40.00 | 40.59 | 1.19 | 2.93 |
| 120 | 44.54 | 47.23 | 47.22 | 46.33 | 3.18 | 6.86 |
| 150 | 51.77 | 54.47 | 54.46 | 53.57 | 1.36 | 2.54 |
| 180 | 64.13 | 66.22 | 68.26 | 66.20 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 68.31 | 68.34 | 70.39 | 69.02 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 72.50 | 72.53 | 74.58 | 73.20 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 80.80 | 86.99 | 84.94 | 84.24 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 85.00 | 87.09 | 91.19 | 87.76 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z14: Στατιστική ανάλυση ANOVA για τα δισκία των συνταγών 1-12, καθώς και του εμπορικού σκευάσματος Circadin®.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (ANOVA P) έγινε με τη χρήση του λογισμικού GraphPad Prism 5.00.

| | | | | | |
|--|-------------------|----------|--------------------------------------|----------------|-----------------------|
| One-way analysis of variance | | | | | |
| P value | < 0.0001 | | | | |
| P value summary | *** | | | | |
| Are means signif. different? (P < 0.05) | Yes | | | | |
| Number of groups | 13 | | | | |
| F | 67.90 | | | | |
| R square | 0.9691 | | | | |
| | | | | | |
| ANOVA Table | SS | df | MS | | |
| Treatment (between columns) | 2968 | 12 | 247.4 | | |
| Residual (within columns) | 94.72 | 26 | 3.643 | | |
| Total | 3063 | 38 | | | |
| | | | | | |
| Tukey's Multiple Comparison Test | Mean Diff, | q | Significant? P < 0,05? | Summary | 95% CI of diff |
| 1 vs 2 | 0.7958 | 0.7222 | No | ns | -4.874 to 6.466 |
| 1 vs 3 | -12.57 | 11.41 | Yes | *** | -18.24 to -6.900 |
| 1 vs 4 | 0.01320 | 0.01198 | No | ns | -5.657 to 5.683 |
| 1 vs 5 | -15.39 | 13.97 | Yes | *** | -21.06 to -9.723 |
| 1 vs 6 | -12.93 | 11.74 | Yes | *** | -18.60 to -7.262 |
| 1 vs 7 | -18.93 | 17.18 | Yes | *** | -24.60 to -13.26 |
| 1 vs 8 | -7.126 | 6.467 | Yes | ** | -12.80 to -1.457 |
| 1 vs 9 | -15.45 | 14.02 | Yes | *** | -21.12 to -9.781 |
| 1 vs 10 | 7.716 | 7.002 | Yes | ** | 2.046 to 13.39 |
| 1 vs 11 | 2.676 | 2.428 | No | ns | -2.994 to 8.345 |
| 1 vs 12 | 1.188 | 1.078 | No | ns | -4.482 to 6.858 |
| 1 vs Circadin® | 5.527 | 5.016 | No | ns | -0.1426 to 11.20 |
| 2 vs 3 | -13.37 | 12.13 | Yes | *** | -19.04 to -7.696 |
| 2 vs 4 | -0.7826 | 0.7102 | No | ns | -6.452 to 4.887 |
| 2 vs 5 | -16.19 | 14.69 | Yes | *** | -21.86 to -10.52 |
| 2 vs 6 | -13.73 | 12.46 | Yes | *** | -19.40 to -8.058 |
| 2 vs 7 | -19.73 | 17.90 | Yes | *** | -25.40 to -14.06 |
| 2 vs 8 | -7.922 | 7.189 | Yes | ** | -13.59 to -2.252 |
| 2 vs 9 | -16.25 | 14.74 | Yes | *** | -21.92 to -10.58 |
| 2 vs 10 | 6.920 | 6.280 | Yes | ** | 1.250 to 12.59 |
| 2 vs 11 | 1.880 | 1.706 | No | ns | -3.790 to 7.550 |
| 2 vs 12 | 0.3924 | 0.3561 | No | ns | -5.277 to 6.062 |
| 2 vs Circadin® | 4.731 | 4.293 | No | ns | -0.9385 to 10.40 |
| 3 vs 4 | 12.58 | 11.42 | Yes | *** | 6.914 to 18.25 |
| 3 vs 5 | -2.822 | 2.561 | No | ns | -8.492 to 2.848 |
| 3 vs 6 | -0.3618 | 0.3283 | No | ns | -6.032 to 5.308 |
| 3 vs 7 | -6.360 | 5.771 | Yes | * | -12.03 to -0.6900 |
| 3 vs 8 | 5.444 | 4.940 | No | ns | -0.2260 to 11.11 |
| 3 vs 9 | -2.881 | 2.614 | No | ns | -8.550 to 2.789 |
| 3 vs 10 | 20.29 | 18.41 | Yes | *** | 14.62 to 25.96 |
| 3 vs 11 | 15.25 | 13.83 | Yes | *** | 9.576 to 20.92 |

| | | | | | |
|------------------------|----------|---------|------------|-----|-------------------|
| 3 vs 12 | 13.76 | 12.49 | Yes | *** | 8.089 to 19.43 |
| 3 vs Circadin® | 18.10 | 16.42 | Yes | *** | 12.43 to 23.77 |
| 4 vs 5 | -15.41 | 13.98 | Yes | *** | -21.08 to -9.736 |
| 4 vs 6 | -12.95 | 11.75 | Yes | *** | -18.61 to -7.275 |
| 4 vs 7 | -18.94 | 17.19 | Yes | *** | -24.61 to -13.27 |
| 4 vs 8 | -7.140 | 6.479 | Yes | ** | -12.81 to -1.470 |
| 4 vs 9 | -15.46 | 14.03 | Yes | *** | -21.13 to -9.794 |
| 4 vs 10 | 7.703 | 6.990 | Yes | ** | 2.033 to 13.37 |
| 4 vs 11 | 2.663 | 2.416 | No | ns | -3.007 to 8.332 |
| 4 vs 12 | 1.175 | 1.066 | No | ns | -4.495 to 6.845 |
| 4 vs Circadin® | 5.514 | 5.004 | No | ns | -0.1558 to 11.18 |
| 5 vs 6 | 2.460 | 2.233 | No | ns | -3.209 to 8.130 |
| 5 vs 7 | -3.538 | 3.210 | No | ns | -9.207 to 2.132 |
| 5 vs 8 | 8.266 | 7.501 | Yes | *** | 2.596 to 13.94 |
| 5 vs 9 | -0.05833 | 0.05294 | No | ns | -5.728 to 5.611 |
| 5 vs 10 | 23.11 | 20.97 | Yes | *** | 17.44 to 28.78 |
| 5 vs 11 | 18.07 | 16.40 | Yes | *** | 12.40 to 23.74 |
| 5 vs 12 | 16.58 | 15.05 | Yes | *** | 10.91 to 22.25 |
| 5 vs Circadin® | 20.92 | 18.98 | Yes | *** | 15.25 to 26.59 |
| 6 vs 7 | -5.998 | 5.443 | Yes | * | -11.67 to -0.3282 |
| 6 vs 8 | 5.806 | 5.268 | Yes | * | 0.1358 to 11.48 |
| 6 vs 9 | -2.519 | 2.286 | No | ns | -8.188 to 3.151 |
| 6 vs 10 | 20.65 | 18.74 | Yes | *** | 14.98 to 26.32 |
| 6 vs 11 | 15.61 | 14.16 | Yes | *** | 9.938 to 21.28 |
| 6 vs 12 | 14.12 | 12.81 | Yes | *** | 8.450 to 19.79 |
| 6 vs Circadin® | 18.46 | 16.75 | Yes | *** | 12.79 to 24.13 |
| 7 vs 8 | 11.80 | 10.71 | Yes | *** | 6.134 to 17.47 |
| 7 vs 9 | 3.479 | 3.157 | No | ns | -2.191 to 9.149 |
| 7 vs 10 | 26.65 | 24.18 | Yes | *** | 20.98 to 32.32 |
| 7 vs 11 | 21.61 | 19.61 | Yes | *** | 15.94 to 27.28 |
| 7 vs 12 | 20.12 | 18.26 | Yes | *** | 14.45 to 25.79 |
| 7 vs Circadin® | 24.46 | 22.19 | Yes | *** | 18.79 to 30.13 |
| 8 vs 9 | -8.324 | 7.554 | Yes | *** | -13.99 to -2.655 |
| 8 vs 10 | 14.84 | 13.47 | Yes | *** | 9.173 to 20.51 |
| 8 vs 11 | 9.802 | 8.895 | Yes | *** | 4.132 to 15.47 |
| 8 vs 12 | 8.315 | 7.545 | Yes | *** | 2.645 to 13.98 |
| 8 vs Circadin® | 12.65 | 11.48 | Yes | *** | 6.984 to 18.32 |
| 9 vs 10 | 23.17 | 21.02 | Yes | *** | 17.50 to 28.84 |
| 9 vs 11 | 18.13 | 16.45 | Yes | *** | 12.46 to 23.80 |
| 9 vs 12 | 16.64 | 15.10 | Yes | *** | 10.97 to 22.31 |
| 9 vs Circadin® | 20.98 | 19.04 | Yes | *** | 15.31 to 26.65 |
| 10 vs 11 | -5.040 | 4.574 | No | ns | -10.71 to 0.6295 |
| 10 vs 12 | -6.528 | 5.924 | Yes | * | -12.20 to -0.8580 |
| 10 vs Circadin® | -2.189 | 1.986 | No | ns | -7.859 to 3.481 |
| 11 vs 12 | -1.488 | 1.350 | No | ns | -7.157 to 4.182 |
| 11 vs Circadin® | 2.851 | 2.587 | No | ns | -2.818 to 8.521 |
| 12 vs Circadin® | 4.339 | 3.937 | No | ns | -1.331 to 10.01 |

Πίνακας Ζ15: Τιμές του συντελεστή διαφοράς f_1 και του συντελεστή ομοιότητας f_2 για τις συγκρίσεις ανάμεσα στα δισκία των συνταγών 1-12 και του Circadin®.

| Συνταγές | f_1 | f_2 |
|----------------|--------|-------|
| 1 vs 2 | 21.90 | 45.64 |
| 1 vs 3 | 50.54 | 29.89 |
| 1 vs 4 | 21.27 | 50.94 |
| 1 vs 5 | 57.61 | 23.63 |
| 1 vs 6 | 46.17 | 27.92 |
| 1 vs 7 | 72.39 | 16.68 |
| 1 vs 8 | 25.93 | 39.95 |
| 1 vs 9 | 57.73 | 23.15 |
| 1 vs 10 | 36.49 | 40.29 |
| 1 vs 11 | 31.61 | 37.00 |
| 1 vs 12 | 20.28 | 50.50 |
| 1 vs Circadin® | 30.92 | 38.27 |
| 2 vs 3 | 28.89 | 40.11 |
| 2 vs 4 | 21.85 | 50.57 |
| 2 vs 5 | 39.05 | 30.02 |
| 2 vs 6 | 28.45 | 36.73 |
| 2 vs 7 | 52.48 | 22.68 |
| 2 vs 8 | 11.65 | 57.42 |
| 2 vs 9 | 39.23 | 30.40 |
| 2 vs 10 | 22.32 | 45.84 |
| 2 vs 11 | 13.94 | 53.43 |
| 2 vs 12 | 29.42 | 44.65 |
| 2 vs Circadin® | 15.83 | 54.45 |
| 3 vs 4 | 82.05 | 30.58 |
| 3 vs 5 | 15.03 | 48.82 |
| 3 vs 6 | 11.90 | 57.01 |
| 3 vs 7 | 34.88 | 30.73 |
| 3 vs 8 | 24.22 | 46.74 |
| 3 vs 9 | 17.90 | 47.34 |
| 3 vs 10 | 57.81 | 33.70 |
| 3 vs 11 | 18.97 | 45.68 |
| 3 vs 12 | 119.71 | 26.72 |
| 3 vs Circadin® | 33.04 | 38.27 |
| 4 vs 5 | 52.92 | 23.51 |
| 4 vs 6 | 43.87 | 27.53 |
| 4 vs 7 | 62.93 | 18.67 |
| 4 vs 8 | 24.40 | 41.91 |
| 4 vs 9 | 53.06 | 23.68 |
| 4 vs 10 | 19.72 | 50.13 |
| 4 vs 11 | 26.57 | 42.76 |
| 4 vs 12 | 12.31 | 62.61 |
| 4 vs Circadin® | 23.05 | 47.10 |
| 5 vs 6 | 15.18 | 51.99 |
| 5 vs 7 | 24.36 | 39.27 |
| 5 vs 8 | 44.93 | 34.25 |
| 5 vs 9 | 8.65 | 61.00 |
| 5 vs 10 | 84.12 | 25.75 |
| 5 vs 11 | 38.08 | 34.00 |
| 5 vs 12 | *>100% | 20.77 |
| 5 vs Circadin® | 55.22 | 29.04 |
| 6 vs 7 | 29.35 | 35.84 |
| 6 vs 8 | 24.57 | 43.99 |

| | | |
|------------------------|--------|-------|
| 6 vs 9 | 12.71 | 55.02 |
| 6 vs 10 | 70.64 | 27.48 |
| 6 vs 11 | 34.82 | 36.64 |
| 6 vs 12 | 95.44 | 25.52 |
| 6 vs Circadin® | 44.81 | 33.15 |
| 7 vs 8 | 81.64 | 26.11 |
| 7 vs 9 | 23.87 | 44.34 |
| 7 vs 10 | *>100% | 20.69 |
| 7 vs 11 | 67.18 | 27.03 |
| 7 vs 12 | 218.44 | 17.04 |
| 7 vs Circadin® | 82.11 | 24.14 |
| 8 vs 9 | 31.20 | 35.25 |
| 8 vs 10 | 41.29 | 36.90 |
| 8 vs 11 | 17.09 | 47.25 |
| 8 vs 12 | 42.10 | 37.81 |
| 8 vs Circadin® | 23.39 | 44.13 |
| 9 vs 10 | 84.66 | 25.84 |
| 9 vs 11 | 43.76 | 34.32 |
| 9 vs 12 | *>100% | 20.76 |
| 9 vs Circadin® | 58.81 | 29.51 |
| 10 vs 11 | 18.18 | 48.24 |
| 10 vs 12 | 31.21 | 45.13 |
| 10 vs Circadin® | 13.26 | 56.17 |
| 11 vs 12 | 43.99 | 37.82 |
| 11 vs Circadin® | 9.32 | 64.49 |
| 12 vs Circadin® | 29.87 | 42.12 |

*μετά από οπτική παρατήρηση των καμπυλών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο των σχημάτων Γ1 και Γ3 προκύπτει ότι είναι διαφορετικές, κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε και από τις τιμές του δείκτη διαφοράς f_1 .

Z.2 ΚΑΨΑΚΙΑ ΩΣ ΦΟΡΕΙΣ ΝΑΝΟΪΚΩΝ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΜΕΛΑΤΟΝΙΝΗΣ

Z.2.1 Πίνακες αποτελεσμάτων της αποδέσμευσης της μελατονίνης από καψάκια σκληρής ζελατίνης σε pH 1.2.

Πίνακας Z16: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CA1 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 70.74 | 70.74 | 70.74 | 70.74 | 0.00 | 0.00 |
| 60 | 76.83 | 76.83 | 86.74 | 80.13 | 5.72 | 7.14 |
| 90 | 94.82 | 100.00 | 100.00 | 98.27 | 2.99 | 3.04 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z17: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CA2 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 95.32 | 94.56 | 93.41 | 94.43 | 0.96 | 1.02 |
| 60 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 90 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z18: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής PVI σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 60 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 90 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z19: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής HP1 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 62.63 | 68.89 | 65.76 | 4.42 | 6.73 |
| 60 | 77.69 | 77.95 | 77.82 | 0.18 | 0.23 |
| 90 | 88.84 | 82.96 | 85.90 | 4.16 | 4.84 |
| 120 | 90.45 | 91.03 | 90.74 | 0.41 | 0.45 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z20: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής HP2 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 88.58 | 82.63 | 85.61 | 4.20 | 4.91 |
| 60 | 100.00 | 96.67 | 98.33 | 2.35 | 2.39 |
| 90 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z21: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPVI σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 56.87 | 66.78 | 68.76 | 64.14 | 6.37 | 9.93 |
| 60 | 84.73 | 78.80 | 74.84 | 79.46 | 4.97 | 6.26 |
| 90 | 98.77 | 92.83 | 92.92 | 94.84 | 3.40 | 3.59 |
| 120 | 100.00 | 98.96 | 94.98 | 97.98 | 2.65 | 2.71 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z22: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV2 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 45.35 | 40.32 | 42.84 | 42.84 | 2.52 | 5.87 |
| 60 | 67.14 | 59.35 | 63.24 | 63.24 | 3.90 | 6.16 |
| 90 | 78.90 | 70.12 | 74.51 | 74.51 | 4.39 | 5.90 |
| 120 | 93.15 | 99.31 | 96.23 | 96.23 | 3.08 | 3.20 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z23: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV3 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 85.63 | 75.67 | 80.65 | 7.05 | 8.74 |
| 60 | 95.72 | 85.72 | 90.72 | 7.08 | 7.80 |
| 90 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z24: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV4 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 92.54 | 100.00 | 96.27 | 5.27 | 5.48 |
| 60 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 90 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z25: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV5 σε pH 1.2 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 84.61 | 96.50 | 90.56 | 8.41 | 9.28 |
| 60 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 5.20 | 5.20 |
| 90 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z26: Φαρμακοκινητικές παράμετροι των καψακίων σκληρής ζελατίνης σε pH 1.2.

| Συνταγές | MDT | t 20% | t50% | t 90% |
|-----------------|------------|--------------|-------------|--------------|
| CA1 | 30.26 | 7 | 18 | 70 |
| CA2 | 61.67 | 5 | 10 | 30 |
| PV1 | 63.72 | 6 | 10 | 48 |
| HP1 | 37.55 | 8 | 19 | 115 |
| HP2 | 34.82 | 8 | 10 | 55 |
| CAPV1 | 33.77 | 9 | 20 | 75 |
| CAPV2 | 51.39 | 14 | 50 | 110 |
| CAPV3 | 38.59 | 5 | 10 | 63 |
| CAPV4 | 61.12 | 5 | 10 | 30 |
| CAPV5 | 62.83 | 5 | 10 | 50 |

Πίνακας Ζ27: Τιμές του συντελεστή διαφοράς f_1 και του συντελεστή ομοιότητας f_2 για τις συγκρίσεις ανάμεσα στις συνταγές CA1, CA2, PV1, HP1, HP2, CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5 των καψακίων σκληρής ζελατίνης σε pH 1.2.

| Συγκρίσεις | f_1 | f_2 |
|----------------|--------|-------|
| CA1 vs CA2 | 25.08 | 38.76 |
| CA1 vs PV1 | 19.23 | 46.13 |
| CA1 vs HP1 | 2.17 | 58.24 |
| CA1 vs HP2 | 17.36 | 48.82 |
| CA1 vs CAPV1 | 2.77 | 70.62 |
| CA1 vs CAPV2 | 15.45 | 34.73 |
| CA1 vs CAPV3 | 5.78 | 53.70 |
| CA1 vs CAPV4 | 26.52 | 37.14 |
| CA1 vs CAPV5 | 21.88 | 42.62 |
| CA2 vs PV1 | 7.81 | 65.31 |
| CA2 vs HP1 | 43.59 | 34.63 |
| CA2 vs HP2 | 10.31 | 59.97 |
| CA2 vs CAPV1 | 47.23 | 33.44 |
| CA2 vs CAPV2 | *>100% | 21.89 |
| CA2 vs CAPV3 | 17.08 | 50.45 |
| CA2 vs CAPV4 | 1.91 | 89.24 |
| CA2 vs CAPV5 | 4.27 | 76.78 |
| PV1 vs HP1 | 33.19 | 40.53 |
| PV1 vs HP2 | 2.31 | 88.21 |
| PV1 vs CAPV1 | 36.56 | 38.98 |
| PV1 vs CAPV2 | *>100% | 24.97 |
| PV1 vs CAPV3 | 8.60 | 65.03 |
| PV1 vs CAPV4 | 9.02 | 60.31 |
| PV1 vs CAPV5 | 3.28 | 81.65 |
| HP1 vs HP2 | 23.18 | 42.59 |
| HP1 vs CAPV1 | 0.68 | 66.28 |
| HP1 vs CAPV2 | 12.70 | 41.54 |
| HP1 vs CAPV3 | 8.69 | 47.12 |
| HP1 vs CAPV4 | 31.69 | 33.28 |
| HP1 vs CAPV5 | 27.38 | 37.77 |
| HP2 vs CAPV1 | 33.47 | 40.89 |
| HP2 vs CAPV2 | 99.85 | 25.96 |
| HP2 vs CAPV3 | 6.14 | 71.93 |
| HP2 vs CAPV4 | 11.08 | 55.94 |
| HP2 vs CAPV5 | 5.47 | 71.93 |
| CAPV1 vs CAPV2 | 11.80 | 38.69 |
| CAPV1 vs CAPV3 | 9.64 | 46.81 |
| CAPV1 vs CAPV4 | 33.38 | 32.16 |
| CAPV1 vs CAPV5 | 29.18 | 36.40 |
| CAPV2 vs CAPV3 | 22.07 | 28.43 |
| CAPV2 vs CAPV4 | 55.51 | 21.13 |
| CAPV2 vs CAPV5 | 52.70 | 23.58 |
| CAPV3 vs CAPV4 | 16.22 | 47.75 |
| CAPV3 vs CAPV5 | 10.94 | 57.51 |
| CAPV4 vs CAPV5 | 6.31 | 69.04 |

*μετά από οπτική παρατήρηση των καμπυλών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο του σχήματος Γ6 προκύπτει ότι είναι διαφορετικές, κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε και από τις τιμές του δείκτη διαφοράς f_1 .

Z.2.2 Πίνακες αποτελεσμάτων της αποδέσμευσης της μελατονίνης από καψάκια σκληρής ζελατίνης σε pH 6.8.

Πίνακας Z28: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CA1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 32.88 | 41.09 | 35.12 | 36.36 | 4.24 | 11.67 |
| 60 | 51.17 | 55.56 | 49.47 | 52.07 | 3.14 | 6.04 |
| 90 | 61.53 | 68.01 | 60.28 | 63.28 | 4.15 | 6.56 |
| 120 | 67.81 | 78.44 | 65.76 | 70.67 | 6.80 | 9.63 |
| 180 | 72.32 | 82.72 | 84.70 | 79.92 | 6.65 | 8.32 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z29: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CA2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 48.29 | 47.26 | 47.77 | 47.77 | 0.51 | 1.08 |
| 60 | 65.86 | 72.02 | 68.94 | 68.94 | 3.08 | 4.47 |
| 90 | 73.20 | 86.57 | 79.88 | 79.88 | 6.68 | 8.37 |
| 120 | 81.58 | 93.95 | 87.76 | 87.76 | 6.18 | 7.05 |
| 180 | 88.95 | 100.00 | 94.64 | 94.53 | 5.52 | 5.84 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z30: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής PVI σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 60 | 90.00 | 92.00 | 0.00 | 60.67 | 5.20 | 8.57 |
| 90 | 100.00 | 98.00 | 88.38 | 95.46 | 6.21 | 6.51 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z31: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής HP1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 55.00 | 53.42 | 54.21 | 1.12 | 2.07 |
| 60 | 72.00 | 76.14 | 74.07 | 2.93 | 3.95 |
| 90 | 80.00 | 80.42 | 80.21 | 0.29 | 0.37 |
| 120 | 85.00 | 86.76 | 85.88 | 1.24 | 1.45 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z32: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής HP2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 57.53 | 69.85 | 63.69 | 8.71 | 13.68 |
| 60 | 94.37 | 90.46 | 92.42 | 2.77 | 3.00 |
| 90 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z33: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPVI σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 4.23 | 3.28 | 3.76 | 3.76 | 0.48 | 12.65 |
| 60 | 20.12 | 17.35 | 18.74 | 18.74 | 1.39 | 7.39 |
| 90 | 33.21 | 38.45 | 36.85 | 36.17 | 2.69 | 7.42 |
| 120 | 42.54 | 48.68 | 45.61 | 45.61 | 3.07 | 6.73 |
| 180 | 53.64 | 58.63 | 56.14 | 56.14 | 2.50 | 4.44 |
| 240 | 62.75 | 68.34 | 66.32 | 65.80 | 2.83 | 4.30 |
| 300 | 75.36 | 80.45 | 77.91 | 77.91 | 2.55 | 3.27 |
| 360 | 83.09 | 90.21 | 86.65 | 86.65 | 3.56 | 4.11 |
| 420 | 89.23 | 96.87 | 90.23 | 92.11 | 4.15 | 4.51 |
| 480 | 93.72 | 100.00 | 96.86 | 96.86 | 3.14 | 3.24 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z34: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 15.22 | 28.56 | 20.86 | 21.55 | 6.70 | 31.08 |
| 60 | 38.95 | 37.80 | 49.44 | 42.06 | 6.41 | 15.24 |
| 90 | 59.41 | 52.26 | 47.77 | 53.14 | 5.87 | 11.05 |
| 120 | 61.85 | 69.74 | 61.06 | 64.21 | 4.80 | 7.48 |
| 180 | 63.66 | 72.87 | 72.05 | 69.53 | 5.10 | 7.34 |
| 240 | 84.42 | 82.61 | 80.41 | 82.48 | 2.01 | 2.44 |
| 300 | 100.00 | 93.06 | 92.89 | 95.32 | 4.05 | 4.25 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z35: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV3 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 84.25 | 77.53 | 80.89 | 4.75 | 5.88 |
| 60 | 96.76 | 88.47 | 92.62 | 5.86 | 6.33 |
| 90 | 100.00 | 98.95 | 99.47 | 0.75 | 0.75 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z36: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV4 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 90.41 | 88.51 | 89.46 | 1.35 | 1.51 |
| 60 | 92.67 | 98.35 | 95.51 | 4.02 | 4.21 |
| 90 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z37: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο καψάκια σκληρής ζελατίνης της συνταγής CAPV5 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 81.92 | 81.57 | 81.74 | 0.25 | 0.30 |
| 60 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 90 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 120 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z38: Φαρμακοκινητικές παράμετροι των καψακίων σκληρής ζελατίνης σε pH 6.8.

| Συνταγές | MDT | t 20% | t50% | t 90% |
|-----------------|------------|--------------|-------------|--------------|
| CA1 | 63.89 | 18 | 70 | 220 |
| CA2 | 47.86 | 15 | 35 | 170 |
| PV1 | 54.52 | 17 | 38 | 78 |
| HP1 | 44.57 | 14 | 30 | 150 |
| HP2 | 43.17 | 13 | 28 | 58 |
| CAPV1 | 95.56 | 68 | 183 | 408 |
| CAPV2 | 75.34 | 30 | 93 | 280 |
| CAPV3 | 23.11 | 7 | 14 | 75 |
| CAPV4 | 34.51 | 5 | 13 | 50 |
| CAPV5 | 65.48 | 7 | 14 | 50 |

Πίνακας Ζ39: Τιμές του συντελεστή διαφοράς f_1 και του συντελεστή ομοιότητας f_2 για τις συγκρίσεις ανάμεσα στις συνταγές CA1, CA2, PV1, HP1, HP2, CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5 των καψακίων σκληρής ζελατίνης σε pH 6.8.

| Συγκρίσεις | f_1 | f_2 |
|----------------|--------|-------|
| CA1 vs CA2 | 4.01 | 42.61 |
| CA1 vs PV1 | 1.00 | 31.88 |
| CA1 vs HP1 | 6.06 | 39.42 |
| CA1 vs HP2 | 17.51 | 27.52 |
| CA1 vs CAPV1 | 14.41 | 28.06 |
| CA1 vs CAPV2 | 4.45 | 47.44 |
| CA1 vs CAPV3 | 25.66 | 22.93 |
| CA1 vs CAPV4 | 59.35 | 21.26 |
| CA1 vs CAPV5 | 24.97 | 20.94 |
| CA2 vs PV1 | 4.23 | 45.41 |
| CA2 vs HP1 | 2.19 | 70.41 |
| CA2 vs HP2 | 10.20 | 39.25 |
| CA2 vs CAPV1 | 42.22 | 19.69 |
| CA2 vs CAPV2 | 14.49 | 31.75 |
| CA2 vs CAPV3 | 19.08 | 31.43 |
| CA2 vs CAPV4 | 46.60 | 26.51 |
| CA2 vs CAPV5 | 18.69 | 28.76 |
| PV1 vs HP1 | 7.51 | 44.35 |
| PV1 vs HP2 | 16.11 | 39.40 |
| PV1 vs CAPV1 | 59.32 | 16.18 |
| PV1 vs CAPV2 | 14.56 | 25.25 |
| PV1 vs CAPV3 | 24.40 | 29.61 |
| PV1 vs CAPV4 | *>100% | 10.73 |
| PV1 vs CAPV5 | 23.77 | 27.98 |
| HP1 vs HP2 | 6.08 | 46.10 |
| HP1 vs CAPV1 | 48.39 | 18.41 |
| HP1 vs CAPV2 | 18.05 | 29.52 |
| HP1 vs CAPV3 | 15.38 | 36.31 |
| HP1 vs CAPV4 | 39.40 | 30.15 |
| HP1 vs CAPV5 | 15.15 | 33.02 |
| HP2 vs CAPV1 | *>100% | 13.04 |
| HP2 vs CAPV2 | 66.26 | 21.05 |
| HP2 vs CAPV3 | 9.91 | 50.05 |
| HP2 vs CAPV4 | 28.80 | 36.94 |
| HP2 vs CAPV5 | 9.93 | 47.26 |
| CAPV1 vs CAPV2 | 4.15 | 38.71 |
| CAPV1 vs CAPV3 | 44.45 | 10.49 |
| CAPV1 vs CAPV4 | 95.80 | 10.87 |
| CAPV1 vs CAPV5 | 42.91 | 9.34 |
| CAPV2 vs CAPV3 | 34.20 | 17.33 |
| CAPV2 vs CAPV4 | 75.92 | 15.92 |
| CAPV2 vs CAPV5 | 33.12 | 15.83 |
| CAPV3 vs CAPV4 | 9.58 | 60.58 |
| CAPV3 vs CAPV5 | 0.47 | 67.80 |
| CAPV4 vs CAPV5 | 9.44 | 62.79 |

*μετά από οπτική παρατήρηση των καμπυλών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο του σχήματος Γ6 προκύπτει ότι είναι διαφορετικές, κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε και από τις τιμές του δείκτη διαφοράς f_1 .

Z.2.3 Πίνακες αποτελεσμάτων της αποδέσμευσης της μελατονίνης από εντεροδιαλυτά καψάκια σε pH 6.8.

Πίνακας Z40: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CA1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 120 | 6.01 | 6.04 | 7.03 | 6.36 | 0.58 | 9.15 |
| 180 | 24.91 | 22.29 | 26.03 | 24.41 | 1.92 | 7.86 |
| 240 | 54.56 | 58.48 | 50.45 | 54.50 | 4.02 | 7.37 |
| 300 | 64.90 | 63.95 | 66.96 | 65.27 | 1.54 | 2.36 |
| 360 | 71.23 | 77.68 | 73.48 | 74.13 | 3.27 | 4.41 |
| 420 | 88.74 | 82.19 | 88.26 | 86.40 | 3.65 | 4.23 |
| 480 | 90.34 | 90.35 | 92.27 | 90.99 | 1.11 | 1.22 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z41: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CA2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 120 | 15.32 | 18.65 | 16.99 | 2.35 | 13.86 |
| 180 | 51.23 | 57.68 | 54.45 | 4.56 | 8.37 |
| 240 | 68.74 | 72.19 | 70.46 | 2.44 | 3.46 |
| 300 | 80.34 | 80.35 | 80.35 | 0.01 | 0.01 |
| 360 | 90.00 | 90.00 | 90.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 95.00 | 95.00 | 95.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z42: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής
PVI σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 90 | 90.39 | 92.45 | 88.38 | 90.41 | 2.03 | 2.25 |
| 120 | 100.00 | 98.82 | 100.00 | 99.61 | 0.68 | 0.69 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z43: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής
HP1 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 90 | 10.45 | 15.36 | 12.91 | 3.47 | 26.90 |
| 120 | 23.12 | 22.45 | 22.79 | 0.47 | 2.08 |
| 180 | 65.73 | 62.30 | 64.01 | 2.42 | 3.79 |
| 240 | 68.18 | 78.54 | 73.36 | 7.33 | 9.99 |
| 300 | 83.26 | 85.95 | 84.61 | 1.90 | 2.25 |
| 360 | 92.45 | 90.98 | 91.72 | 1.04 | 1.13 |
| 420 | 98.04 | 98.78 | 98.41 | 0.52 | 0.53 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z44: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα τρία εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής HP2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 120 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 180 | 70.72 | 72.36 | 71.54 | 1.16 | 1.62 |
| 240 | 85.55 | 87.91 | 86.73 | 1.67 | 1.92 |
| 300 | 92.00 | 92.00 | 92.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z45: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CAPVI σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 120 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 180 | 15.36 | 17.98 | 20.56 | 17.97 | 2.60 | 14.47 |
| 240 | 28.65 | 30.45 | 32.45 | 30.52 | 1.90 | 6.23 |
| 300 | 40.84 | 43.41 | 50.32 | 44.85 | 4.91 | 10.94 |
| 360 | 46.79 | 47.34 | 62.12 | 52.08 | 8.70 | 16.70 |
| 420 | 61.79 | 67.42 | 74.56 | 67.92 | 6.40 | 9.43 |
| 480 | 73.98 | 68.05 | 80.32 | 74.12 | 6.14 | 8.28 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z46: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CAPV2 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | Καψάκιο 3 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 120 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 180 | 28.65 | 32.56 | 34.65 | 31.95 | 3.05 | 9.53 |
| 240 | 41.10 | 45.10 | 51.10 | 45.77 | 5.03 | 11.00 |
| 300 | 65.47 | 53.47 | 61.47 | 60.13 | 6.11 | 10.16 |
| 360 | 71.25 | 75.25 | 79.25 | 75.25 | 4.00 | 5.32 |
| 420 | 79.61 | 89.61 | 91.61 | 86.95 | 6.43 | 7.39 |
| 480 | 92.60 | 92.60 | 100.00 | 95.07 | 4.27 | 4.50 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z47: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CAPV3 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 90 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 120 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 180 | 60.00 | 51.41 | 55.70 | 6.08 | 10.91 |
| 240 | 80.00 | 72.07 | 76.03 | 5.61 | 7.38 |
| 300 | 90.00 | 86.61 | 88.31 | 2.40 | 2.71 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z48: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CAPV4 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 60 | 4.14 | 4.13 | 4.13 | 0.01 | 0.16 |
| 90 | 10.31 | 14.41 | 12.36 | 2.90 | 23.46 |
| 120 | 94.72 | 90.63 | 92.68 | 2.89 | 3.11 |
| 180 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z49: Η % αποδέσμευση της μελατονίνης από τα δύο εντεροδιαλυτά καψάκια της συνταγής CAPV5 σε pH 6.8 σε συνάρτηση με το χρόνο.

| t (min) | Αποδέσμευση % | | Μέσος όρος | Σχετική απόκλιση (STDEV) | Σχετική τυπική απόκλιση (RSD) |
|---------|---------------|-----------|------------|--------------------------|-------------------------------|
| | Καψάκιο 1 | Καψάκιο 2 | | | |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 30 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 60 | 0.00 | 2.05 | 1.03 | 1.45 | 141.42 |
| 90 | 0.00 | 3.17 | 1.58 | 2.24 | 141.42 |
| 120 | 32.64 | 26.95 | 29.79 | 4.02 | 13.50 |
| 180 | 78.74 | 84.46 | 81.60 | 4.05 | 4.96 |
| 240 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 300 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 360 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 420 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 480 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |
| 720 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 0.00 | 0.00 |

Πίνακας Z50: Φαρμακοκινητικές παράμετροι των εντεροδιαλυτών καψακίων σε pH 6.8.

| Συνταγές | MDT | t 20% | t50% | t 90% |
|-----------------|------------|--------------|-------------|--------------|
| CA1 | 119.05 | 175 | 230 | 478 |
| CA2 | 117.45 | 130 | 178 | 400 |
| PV1 | 106.17 | 118 | 165 | 370 |
| HP1 | 112.71 | 140 | 165 | 300 |
| HP2 | 120.00 | 200 | 380 | 660 |
| CAPV1 | 120.00 | 170 | 280 | 440 |
| CAPV2 | 120.00 | 145 | 178 | 320 |
| CAPV3 | 120.00 | 90 | 108 | 135 |
| CAPV4 | 101.15 | 110 | 140 | 210 |
| CAPV5 | 114.75 | 90 | 122 | 170 |

Πίνακας Ζ51: Τιμές του συντελεστή διαφοράς f_1 και του συντελεστή ομοιότητας f_2 για τις συγκρίσεις ανάμεσα στις συνταγές CA1, CA2, PV1, HP1, HP2, CAPV1, CAPV2, CAPV3, CAPV4 και CAPV5 των εντεροδιαλυτών καψακίων σε pH 6.8.

| Συγκρίσεις | f_1 | f_2 |
|----------------|--------|-------|
| CA1 vs CA2 | 28.05 | 42.73 |
| CA1 vs PV1 | 82.00 | 21.98 |
| CA1 vs HP1 | 35.70 | 36.74 |
| CA1 vs HP2 | 54.16 | 33.14 |
| CA1 vs CAPV1 | 75.87 | 50.57 |
| CA1 vs CAPV2 | 9.81 | 66.87 |
| CA1 vs CAPV3 | 37.34 | 39.93 |
| CA1 vs CAPV4 | 94.18 | 20.42 |
| CA1 vs CAPV5 | 60.16 | 26.86 |
| CA2 vs PV1 | 58.22 | 30.94 |
| CA2 vs HP1 | 10.63 | 60.89 |
| CA2 vs HP2 | 31.80 | 47.87 |
| CA2 vs CAPV1 | *>100% | 29.54 |
| CA2 vs CAPV2 | 46.52 | 41.12 |
| CA2 vs CAPV3 | 14.44 | 57.73 |
| CA2 vs CAPV4 | 84.44 | 23.20 |
| CA2 vs CAPV5 | 33.69 | 39.84 |
| PV1 vs HP1 | 71.49 | 36.59 |
| PV1 vs HP2 | *>100% | 30.52 |
| PV1 vs CAPV1 | *>100% | 19.98 |
| PV1 vs CAPV2 | *>100% | 22.68 |
| PV1 vs CAPV3 | *>100% | 27.51 |
| PV1 vs CAPV4 | 44.19 | 35.67 |
| PV1 vs CAPV5 | 49.98 | 44.44 |
| HP1 vs HP2 | 35.75 | 46.94 |
| HP1 vs CAPV1 | *>100% | 26.55 |
| HP1 vs CAPV2 | 63.95 | 35.72 |
| HP1 vs CAPV3 | 22.89 | 50.23 |
| HP1 vs CAPV4 | 68.30 | 25.20 |
| HP1 vs CAPV5 | 29.71 | 44.11 |
| HP2 vs CAPV1 | *>100% | 26.61 |
| HP2 vs CAPV2 | *>100% | 33.32 |
| HP2 vs CAPV3 | 20.14 | 56.86 |
| HP2 vs CAPV4 | 100.00 | 18.91 |
| HP2 vs CAPV5 | 26.04 | 44.37 |
| CAPV1 vs CAPV2 | 28.90 | 45.10 |
| CAPV1 vs CAPV3 | 57.58 | 29.28 |
| CAPV1 vs CAPV4 | 100.00 | 18.91 |
| CAPV1 vs CAPV5 | 77.34 | 21.37 |
| CAPV2 vs CAPV3 | 37.35 | 36.62 |
| CAPV2 vs CAPV4 | 100.00 | 18.91 |
| CAPV2 vs CAPV5 | 63.68 | 26.14 |
| CAPV3 vs CAPV4 | 100.00 | 18.91 |
| CAPV3 vs CAPV5 | 38.44 | 37.85 |
| CAPV4 vs CAPV5 | *>100% | 27.19 |

*μετά από οπτική παρατήρηση των καμπυλών της % αποδέσμευσης της μελατονίνης σε συνάρτηση με το χρόνο του σχήματος Γ6 προκύπτει ότι είναι διαφορετικές, κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε και από τις τιμές του δείκτη διαφοράς f_1 .