

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

ALENKA EDUARD (FLERE)

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za farmacijo*



ALENKA EDUARD (FLERE)

**VPLIV HIDROFILNIH POLIMEROV NA RAZTAPLJANJE TEŽKO
VODOTOPNIH ZDRAVILNIH UČINKOVIN IZ FIZIKALNIH ZMESI**

**INFLUENCE OF HYDROPHILIC POLYMERS ON DISSOLUTION OF POORLY
WATER SOLUBLE ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS FROM
PHYSICAL MIXTURES**

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani, pod mentorstvom prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm..

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju, prof. dr. Odonu Planinšku, mag. farm., za strokovno pomoč, usmerjanje pri eksperimentalnem delu in nasvete pri izdelavi diplomske naloge. Prav tako se zahvaljujem vsem ostalim zaposlenim na Katedri za farmacevtsko tehnologijo, ki so mi pomagali pri izvedbi diplomske naloge.

Nenazadnje bi se rada zahvalila tudi svojim najbližjim za vso podporo in spodbudo tekom študija ter vsem, ki ste mi kakorkoli pomagali pri doseganju ciljev.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Odonu Planinška, mag. farm..

Alenka Eduard (Flere)

VSEBINA

POVZETEK	V
ABSTRACT	VI
SEZNAM OKRAJŠAV	VII
1 UVOD	1
1.1 TOPNOST IN HITROST RAZTAPLJANJA.....	1
1.2 METODE ZA POVEČANJE TOPNOSTI IN HITROSTI RAZTAPLJANJA TEŽKO VODOTOPNIH ZDRAVILNIH UČINKOVIN	4
1.3 TRDNE DISPERZIJE	5
1.4 FIZIKALNE ZMESI.....	7
1.5 IZBOLJŠANJE RAZTAPLJANJA ZDRAVILNE UČINKOVINE IZ FIZIKALNIH ZMESI.....	9
1.6 PROUČEVANJE OBLIKE (VIDEZA) DELCEV	10
1.7 TERMIČNA ANALIZA VZORCEV (DSC).....	10
1.8 VELIKOST DELCEV.....	11
1.9 POVRŠINSKA NAPETOST IN MOČENJE.....	12
2 NAMEN DELA	14
3. EKSPERIMENTALNO DELO	15
3.1 MATERIALI	15
3.2 NAPRAVE.....	21
3.3 METODE DELA	21
3.3.1 <i>Proučevanje morfoloških lastnosti delcev z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM)</i>	21
3.3.2 <i>Priprava pufrov oz. medijev za raztapljanje</i>	22
3.3.3 <i>Merjenje pH</i>	23
3.3.4 <i>Sejanje karvedilola (63 μm do 100 μm)</i>	23
3.3.5 <i>Priprava fizikalnih zmesi</i>	24
3.3.6 <i>Raztapljanje čistega naproksena in naproksena iz fizikalnih zmesi (FZ 1:1)</i>	25
3.3.7 <i>Raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi (FZ 1:1)</i>	26

3.3.8	<i>Termična analiza vzorcev z diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC)</i>	28
3.3.9	<i>Določanje velikosti delcev z lasersko difrakcijo (LD)</i>	29
3.3.10	<i>Merjenje stičnega kota</i>	29
3.3.11	<i>Merjenje površinske napetosti tekočin</i>	30
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	31
4.1	MORFOLOGIJA DELCEV	31
4.2	RAZTAPLJANJE NAPROKSENA	34
4.2.1	<i>Raztapljanje praškastih vzorcev naproksena v fosfatnem pufru s pH 6,8</i>	34
4.3	RAZTAPLJANJE KARVEDILOLA	35
4.3.1	<i>Raztapljanje praškastih vzorcev karvedilola v fosfatnem pufru s pH 6,8</i>	35
4.3.2	<i>Raztapljanje vzorcev karvedilola iz kapsul v fosfatnem pufru s pH 6,8</i>	36
4.3.3	<i>Raztapljanje vzorcev karvedilola iz kapsul v citratnem pufru s pH 6,8 z dodatkom 0,3% natrijevega lavrilsulfata</i>	37
4.3.4	<i>Raztapljanje vzorcev karvedilola iz kapsul v citratnem pufru s pH 6,8 in z dodatkom 1,0 % natrijevega lavrilsulfata</i>	38
4.3.5	<i>Raztapljanje vzorcev s presejanim karvedilolom iz kapsuli v citratnem pufru s pH 6,8 in z dodatkom 1,0 % natrijevega lavrilsulfata</i>	39
4.4	TERMIČNA ANALIZA VZORCEV	40
4.5	DOLOČANJE VELIKOSTI DELCEV Z LASERSKO DIFRAKCIJO	41
4.6	MOČENJE (MERJENJE STIČNEGA KOTA IN POVRŠINSKE NAPETOSTI TEKOČIN)	42
5	SKLEP	44
6	LITERATURA	45

KAZALO SLIK

Slika 1:	Primeri topnostih profilov za šibko kislino, bazo in amfolit (7)	3
Slika 2:	Shema različnih metod za izdelavo trdnih disperzij	6
Slika 3:	Goniometer	13
Slika 4:	Strukturna formula karvedilola ima z rdečim krogom označen kiralni center (39)	17

Slika 5: Slika prikazuje strukturno formulo monomerne enote PVP K30.....	19
Slika 6: Strukturna formula laktoze.....	19
Slika 7: Strukturna formula natrijevega lavrilsulfata.....	20
Slika 8: Vrstični elektronski mikroskop.....	22
Slika 9: Uporabljena DSC aparatura.....	28
Slika 10: Stiskalnica Barspec in prikaz merjenja stičnega kota.....	30
Slika 11: Elektronsko-mikroskopska slika naproksena (povečava 1000).....	31
Slika 12: Elektronsko-mikroskopska slika delcev nepresejanega karvedilola (povečava 250).....	31
Slika 13: Elektronsko-mikroskopska slika delcev presejanega karvedilola (povečava 200).....	31
Slika 14: Elektronsko-mikroskopska slika Tabletose 80 (povečava 200).....	31
Slika 15: Elektronsko-mikroskopska slika Neusilin US2 (povečava 200).....	32
Slika 16: Elektronsko-mikroskopska slika PVP K30 (povečava 200).....	32
Slika 17: Elektronsko-mikroskopska slika Syloid 244FP (povečava 500).....	32
Slika 18: Elektronsko-mikroskopska slika fizikalne fizikalne zmesi nepresejanega karvedilola in Tabletose 80 (povečava 200).....	32
Slika 19: Elektronsko-mikroskopska slika fizikalne zmesi nepresejanega karvedilola in PVP (povečava 200).....	32
Slika 20: Elektronsko-mikroskopska slika fizikalne zmesi nepresejanega karvedilola in Neusilin (povečava 200).....	32
Slika 21: Elektronsko-mikroskopska slika fizikalne zmesi nepresejanega karvedilola in Syloid (povečava 700).....	33
Slika 22: Raztapljanje čistega naproksena in naproksena iz fizikalni zmesi v razmerju 1:1 s pomožnimi snovmi (Tabletose 80, Syloid in PVP) v fosfatnem pufru s pH 6,8.....	34
Slika 23: Raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi s Tabletose80, Syloid 244FP, PVP in Neusilin US2 v razmerju 1:1 v obliki praška. Medij za raztapljanje fosfatni pufer s pH 6,8.....	35
Slika 24: Raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi s Tabletose80, Syloid 244FP, PVP in Neusilin US2 v razmerju 1:1 napoljenih v kapsule. Medij za raztapljanje fosfatni pufer s pH 6,8.....	36
Slika 25: Raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi s Tabletose 80, Syloid F244, PVP in Neusilin US2 v razmerju 1:1. Medij za raztapljanje citratni pufer pH 6,8 z 0,3% natrijevega lavrilsulfata.....	37
Slika 26: Raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi s Tabletose, Syloid 244FP, PVP in Neusilin US2 v razmerju 1:1. Medij za raztapljanje citratni pufer pH 6,8 z 1,0% natrijevega lavrilsulfata.....	38

Slika 27: Raztapljanje čistega presejanega karvedilola in karvediola s Tabletose 80, Syloid 244FP, PVP in Neusilin US2 v razmerju 1:1. Medij za raztapljanje citratni pufer pH 6,8 z 1,0% Natrijevega lavrilsulfata.	39
Slika 28: DSC krivulje karvedilola, PVP K30, Tabletose 80, Syloida 244 in Neusillina čiste komponente.	40
Slika 29: DSC krivulje fizikalnih zmesi karvedilola s proučevanimi pomožnimi snovmi v razmerju 1:1.	41

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Podajanje stopnje topnosti (pri temperaturi 15 do 25°C) (6)	2
Preglednica 2: Različne metode za izboljšanje raztapljanja.	5
Preglednica 3: Preglednica osnovnih podatkov za naproksen	16
Preglednica 4: Rezultati določanja velikosti delcev z lasersko difrakcijo za presejani in nepresejani karvedilol ter pomožnih snovi Tabletose 80, PVP, Neusilin in Syloid 244FP.....	42
Preglednica 5: Močenje praškov z raztopino fosfatnega pufru s pH 6,8 brez ter z raztopino citratnega pufru s pH 6,8 z dodanim natrijevim lavrilsulfatom.	43

POVZETEK

Na biološko uporabnost zdravilnih učinkovin vpliva mnogo dejavnikov. Po peroralni aplikaciji se učinkovina absorbira v sistemski obtok le v raztopljenem stanju. Velik delež zdravilnih učinkovin je v vodi težko topnih in je topnost lahko omejitveni dejavnik njihove absorpcije ter posledično neustrezne biološke uporabnosti. Najpogosteje jo presegamo s tehnološkimi pristopi. Eden izmed njih je izdelava trdnih disperzij. Literaturni podatki nakazujejo, da lahko podobne rezultate raztapljanja kot s trdnimi disperzijami dosegamo z izdelavo enako sestavljenih fizikalnih zmesi.

V magistrski nalogi smo proučevali v kolikšni meri hidrofilne pomožne snovi v fizikalnih zmesih z zdravilno učinkovino vplivajo k izboljšanju njenega raztapljanja. Uporabili smo laktozo in polivinil pirolidon, kot hidrofilni dobro topni pomožni snovi in silicijev dioksid ter magnezijev aluminijev metasilikat, kot hidrofilni porozni nevodotopni snovi. Proučevali smo raztapljanje naproksena in karvedilola. Za testiranje smo uporabili pufne raztopine brez ali z dodatkom površinsko aktivne snovi. Rezultati so v veliki večini pokazali bistveno izboljšanje raztapljanja zdravilne učinkovine iz dvokomponentnih fizikalnih zmesi z uporabljenimi pomožnimi snovmi v primerjavi z njeno čisto obliko.

Izvedli smo termično analizo vseh izdelanih zmesi ter njihovih komponent in ugotovili odsotnost interakcij, ki bi jim lahko pripisali vpliv na raztapljanje.

Izboljšanje raztapljanja smo na osnovi izvedenih ustreznih analiz pripisali izboljšanju močenja površine delcev zdravilne učinkovine ob prisotnosti površinske aktivne snovi (natrijev lavrilsulfat), ki omogoča dober stik s površino teh delcev in znižanju površinske napetosti medija za raztapljanje, ki smo mu dodali površinsko aktivno snov.

Med uporabljenimi pomožnimi snovmi je dal porozni silicijev dioksid najbolj obetavne rezultate, ki jih lahko pripišemo majhnosti delcev te pomožne snovi, ki v urejeni zmesi prekrijejo delce učinkovne.

Zato je v nadaljnjih raziskavah smiselno proučiti kako velikost delcev in razmerje komponent vpliva na izboljšanje hitrosti raztapljanja zdravilnih učinkovin, ki so v vodi težko topne. Predvidevamo, da lahko z izvajanjem poskusov v biorelevantih medijih bistveno izboljšamo napovedno moč raztapljanja *in vivo*.

Ključne besede: Težko topne zdravilne učinkovine, izboljšanje raztapljanja, fizikalne zmesi, trdne disperzije, močenje.

ABSTRACT

The bioavailability of the active substances is influenced by many factors. After oral administration, the active ingredient is absorbed into the systemic circulation only in the dissolved state. A large proportion of the active substance is not easy water soluble and this property can be a limiting factor in their absorption and, consequently, inadequate bioavailability. Most often we resolve it by the technological approaches. One of them is the production of solid dispersions. The literature data suggest that similar results of dissolving as with solid dispersions can be achieved by making the equally composed physical compounds.

In this master thesis we studied the extent as to which the hydrophilic excipient in the physical mixtures of the active ingredient influence to improve its dissolution. We used the lactose and polyvinyl pyrrolidone as the hydrophilic well soluble auxiliary substance and silicon dioxide and aluminum magnesium aluminum metasilicate, such as a hydrophilic water-insoluble porous material. We studied the dissolution of naproxen and carvedilol. For testing, we used a buffer solution simulating the conditions in the small intestine with or without the addition of surfactants. The results demonstrated a significant improvement in the dissolving of the active substance from the binary physical mixture with the applied auxiliaries, compared to its pure form.

We made thermal analysis of all produced mixtures and their components, and found out the absence of interactions to which we could attribute the impact on the dissolving.

We attributed the improvement of the dissolving on the basis of appropriate carried out analyzes to the wetting of the surface of the particles of the active substance in the presence of surfactant (sodium lauryl sulphate), which provides a good contact with the surface of said particles and to reducing the surface tension of the dissolution media, to which we added the surfactant. Among adjuvants used the porous silica gave the most promising results that can be attributed to the small particle size of the excipient, which in the settled mixture covered up particles of substance. Therefore, in the further research it would be useful to examine how the particle size and the ratio of components influence the improvement of dissolution of poorly soluble active pharmaceutical substances. It is believed that with use of biologically relevant media in vivo prediction power of these dissolution tests can be significantly improved.

Key words: hardly soluble active substance, improvement of the dissolution, the physical mixture, solid dispersion, wetting

SEZNAM OKRAJŠAV

ATC	anatomska terapevtsko kemična klasifikacija zdravil
BCS	biofarmacevtska klasifikacija zdravil (Biopharmaceutics Classification System)
BU	biološka uporabnost
BZL	benznidazol
CMC	kritična micelarna koncentracija
CYP	citokromi
COX	ciklooksigenaze
DSC	diferenčna dinamična kalorimetrija (Differential Scanning Calorimetry)
FZ	fizikalna zmes
GIT	gastrointestinalni trakt
IUPAC	mednarodna zveza za čisto in uporabno kemijo (International Union of Pure and Applied Chemistry)
IVIVC	<i>in vitro-in vivo</i> korelacija
LD	laserska difrakcija (Laser Diffraction)
NSAID	nesteroidna protivnetna zdravila
PEG	polietilenglikol
pKa	negativni logaritem konstante disociacije kisline
Ph.Eur.	Evropska farmakopeja (Pharmacopoeia Europea)
pH	negativni logaritem koncentracije oksonijevih ionov
PVP	polivinilpirolidon
R²	kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije
SEM	vrstični elektronski mikroskop (Scanning electron microscope)
SLS	natrijev lavrilsulfat (ang. Sodium dodecyl sulfate)
TD	trdne disperzije
Tg	temperatura steklastega prehoda
USP	Ameriška farmakopeja (United States Pharmacopoeia)
ZU	zdravilna učinkovina

1 UVOD

V zadnjih letih je zaradi razvoja kombinatorne kemije in rešetanja visoke zmogljivosti v farmacevtski stroki na voljo veliko število novo sintetiziranih učinkovin, med katerimi je večina v vodi težko topnih. Peroralna aplikacija učinkovine v ustrezni trdni farmacevtski obliki za namen sistemskega zdravljenja ostaja tudi danes najbolj enostavna, najcenejša in najbolj pogosta aplikacija zdravila. Pacientom je blizu zato, ker omogoča neinvazivno jemanje zdravila z le nekaj omejitvami. Po aplikaciji zdravila v usta, zapade farmacevtska oblika razpadu in pri tem se iz nje sprošča učinkovina, katera pa se mora nato v prebavilih raztopiti, da se lahko absorbira v krvni obtok. V tem primeru je zelo pomembna topnost in permeabilnost učinkovine, pogosto pa tudi obseg njenega predsistemskega metabolizma, kajti ti parametri definirajo njeno biološko uporabnost. Učinkovine, ki so težko topne v vodi pogosto ne dosegajo ustrezno visoke biološke uporabnosti in farmacevtska industrija se pri razvoju zdravil s temi učinkovinami sooča s problemom slabe topnosti in hitrosti raztapljanja. Zato proučujemo in razvijamo nove metode za izboljšanje teh farmakokinetičnih lastnosti učinkovin.

1.1 TOPNOST IN HITROST RAZTAPLJANJA

Topnost snovi pojmuje kot največjo količino topljenca, ki z danim volumnom topila pri določeni temperaturi tvori homogeno molekularno disperzijo, fazi sta tedaj v ravnotežju (1). Raztopina, ki vsebuje največjo možno količino raztopljene trdne snovi, je pri določeni temperaturi za določeno snov nasičena raztopina, njeno koncentracijo pa imenujemo nasičena koncentracija (c_s). Pri nenasičenih raztopinah je koncentracija raztopljene snovi manjša od nasičene koncentracije. Pri prenasičenih raztopinah, katere imajo več raztopljene snovi kot je njihova nasičena koncentracija, se prebitek obori. Pri višjih temperaturah se praviloma raztopi več trdne snovi, kot pri nižjih temperaturah (izjeme so le redke snovi). Topnost se nanaša na ravnotežno topnost proste kisline oz. baze učinkovine pri pH, kjer je učinkovina povsem neionizirana (1). O dobro topni učinkovini govorimo takrat, kadar se v 250ml vodnega medija raztopi največji odmerek zdravila v pH območju od 1 – 7,5 (2). O slabo topni učinkovini pa govorimo takrat kadar je le ta topna manj kot

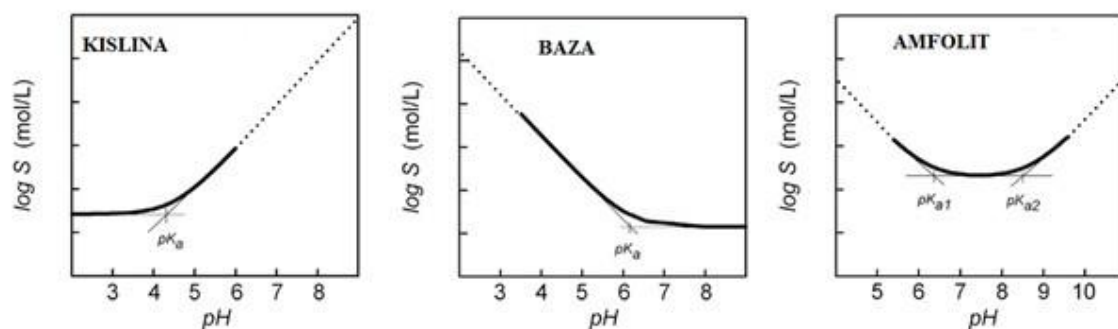
0,01g/L. Topnost lahko podamo kot absolutno topnost snovi (točna koncentracija topljenca v topilu pri znanih pogojih) ali pa jo podamo kot stopnjo topnosti (topnost podamo znotraj določenih meja), kakor jo podaja Evropska farmakopeja in USP. Po njih delimo topljence glede na topnost oz. glede na volumen topila (ml) potrebnega za raztopitev 1 g topljenca v več razredov, ki se delijo na učinkovine, ki so zelo lahko topne, lahko topne, topne, zmerno topne in težko topne ter zelo težko topne (skoraj netopne) (preglednica 1) (1, 3).

Preglednica 1: Podajanje stopnje topnosti (pri temperaturi 15 do 25°C) (6)

Opis	Približen volumen topila v mililitrih na gram topljenca
Zelo lahko topen	manj kot 1
Lahko topen	od 1 do 10
Topen	od 10 do 30
Zmerno topen	od 30 do 100
Težko topen	od 100 do 1000
Zelo težko topen	od 1000 do 10000
Skoraj netopen	več kot 10000

Na topnost vplivata vrsta medija in pH vrednost medija, ki ga ustvarimo v vodni raztopini z dodatkom kislin ali baz. Sprememba pH medija še posebej vpliva na topnost učinkovin, ki v vodi ionizirajo ali imajo od pH odvisno topnost in kadar je izbrani medij za raztapljanje nepufirana raztopina ali kar voda sama. Podatek o topnosti neke učinkovine pri različnih pH vrednostih medija je nujno potreben pri proučevanju razvoja novih farmacevtskih oblik, predvsem tistih, ki so namenjene za peroralno aplikacijo. Ta podatek pove kako se bo učinkovina raztopila v GIT. Ker pa se pH vrednost vzdolž lumna prebavne cevi zelo spreminja, lahko s pravilno izbranimi pomožnimi snovmi povečamo hitrost raztapljanja v vodi težko topnih zdravilnih učinkovin, ki izboljšajo njeno raztapljanje v telesu (4, 5). V ustih je slina s pH = 6-7, v praznem želodcu na tešče je pH = 1-2, želodec po obroku hrane ima pH = 5,5, v tankem črevesu, v jejunumu je pH = 6-7, v ileumu je pH = 7-7,5 in debelem črevesu, pH = 6,5-7,5. Absorbcija učinkovine pri tej aplikaciji poteka predvsem v proksimalnem delu tankega črevesja, to je v duodenumu in jejunumu. Širok razpon pH vrednosti in prisotnost hrane (hrana lahko izboljša ali poslabša topnost) sta pomembna dejavnika za napovedovanje hitrosti raztapljanja učinkovine v posameznem

delu prebavne cevi. Učinkovine, ki so šibke baze, so dobro topne v želodčnem mediju s pH = 1-2, kjer se dobro raztopijo, čeprav tam ni optimalno mesto za absorpcijo učinkovin. Zato je črevesje z višjo pH vrednostjo ugodnejše okolje za raztapljanje kislinskih učinkovin (6). Neionizirane spojine so praviloma enako dobro topne pri vseh pH vrednostih. Za učinkovine, ki pa so šibke kisline ali šibke baze ter amfoterne spojine pa veljajo posebnosti (slika 1). Šibke kisline so bolj topne v pH medijih, ki so višji od pKa vrednosti te učinkovine in slabše topne v medijih s pH vrednostjo pod pKa učinkovine, tu je večina raztopljenih molekul neioniziranih. Z višanjem pH se povečuje delež ionizirane oblike, ki je bolj polarna in zato v polarnih medijih bolj topna. Za učinkovine, ki so šibke baze velja ravno obratno. Amfoterne učinkovine (amfoliti) imajo vsaj en kisel (pKa₁) in vsaj en bazičen center (pKa₂) in so običajno slabo topne v območju med pKa vrednostima, kajti v tem območju se nahajajo bodisi v obliki iona dvojčka, bodisi v neionizirani obliki (7).



Slika 1: Primeri topnostnih profilov za šibko kislino, bazo in amfolit (7).

Hitrost raztapljanja je hitrost, s katero topljenec prehaja v raztopino, da doseže nasičeno koncentracijo. Je karakterističen podatek za obnašanje snovi v topilu. Pri majhnih koncentracijah je hitrost raztapljanja velika in se nenehno zmanjšuje do nasičenja. Opišemo jo lahko z Noyes-Whitney-ovo enačbo (enačba 1):

$$\frac{dW}{dt} = \frac{DA(C_s - C)}{L} \quad \text{Enačba: (1)}$$

Kjer je $\frac{dW}{dt}$ hitrost raztapljanja, C pomeni koncentracijo učinkovine v času t, A je površina učinkovine, ki je na razpolago za raztapljanje, D je difuzijski koeficient učinkovine, C_s topnost učinkovine v mediju za raztapljanje, L je debelina difuzijskega sloja, ki je blizu površine učinkovine (delca) (8). Na hitrost raztapljanja vplivajo številni dejavniki,

pomembni so tisti, ki se nanašajo na medij za raztapljanje, na farmacevtsko obliko, na aparaturo za preizkus raztapljanja ter fizikalno-kemijske lastnosti same učinkovine. Dejavniki, ki se nanašajo na medij za raztapljanje so naslednji: temperatura (Ph. Eur. 8thEd, poglavje 2.9.3 predpisuje temperaturo medija $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, pri višji temperaturi je topnost in hitrost raztapljanja večja), volumen medija za raztapljanje je običajno takšen, da je možno doseči *sink* pogoje (to je volumen medija, ki je vsaj 3-10x večji od volumna nasičenja), površinsko aktivne snovi (emulgatorji, močljivci in solubilizatorji povečajo raztapljanje), pH medija, viskoznost medija, ionska moč medija in raztopljeni plini v mediju (9, 10).

1.2 METODE ZA POVEČANJE TOPNOSTI IN HITROSTI RAZTAPLJANJA TEŽKO VODOTOPNIH ZDRAVILNIH UČINKOVIN

Velja, da je peroralna aplikacija zdravila, ki je sicer najbolj pogosta aplikacija, hkrati tudi problematična zato, ker se mora zdravilna učinkovina po vnosu v GIT najprej raztopiti v prebavnem traktu, da se lahko zatem absorbira v kri. Po aplikaciji je izpostavljena mnogim izgubam, med katerimi predstavlja metabolizem prvega prehoda velik delež. Pomembni parametri pri tem so njena topnost, hitrost raztapljanja ter permeabilnost. BU pomeni delež zaužite zdravilne učinkovine, ki v nespremenjeni obliki preide skozi prebavno cev v sistemski krvni obtok in je na voljo za delovanje v tarčnem tkivu glede na intravensko aplikacijo enakega odmerka. Razvoj sintezne kemije je prinesel veliko število novih zdravilnih učinkovin, ki so večinoma šibke kisline ali šibke baze in so hkrati v vodi težko topne, ter se zato slabo raztapljajo v telesnih tekočinah. S tem se pojavlja problem slabe absorpcije teh učinkovin, kar zahteva razvoj novih metod za izboljšanje hitrosti raztapljanja. Čeprav so mnoge učinkovine dobro permeabilne in zato lahko prehajajo biološke membrane, sta slaba topnost in slaba hitrost raztapljanja glavni omejitveni dejavnik absorpcije (11, 13).

Iz Noyes-Whitneyeve enačbe (podana v poglavju 1.1), je razvidno, da lahko na hitrost raztapljanja vplivamo z različnimi načini, ki so povezani s topnostjo in difuzijsko plastjo. Hitrost raztapljanja lahko izboljšamo s povečanjem topnosti zdravilne učinkovine, bodisi na kemijski ali fizikalen način. Hitrost raztapljanja lahko povečamo tudi s povečanjem površine delca učinkovine. Razvijamo tudi druge pristope specialnih formulacij, ki uspešno rešujejo problematiko slabe topnosti učinkovin. Delimo jih na fizikalne, kemijske in kombinirane metode (preglednica 2).

Preglednica 2: Različne metode za izboljšanje raztapljanja.

Kemijske metode	Fizikalne metode
<ul style="list-style-type: none"> - predzdravila - tvorba soli - kompleksacija - derivatizacija - uporaba pufrov - sprememba pH 	<ul style="list-style-type: none"> - manjšanje velikosti delcev - kompleksacija/solubilizacija s ciklodekstrini in površinsko aktivnimi snovmi (PAS) - polimorfi, psevdopolimorfi - kokristali - formulacija z lipidi in PAS

1.3 TRDNE DISPERZIJE

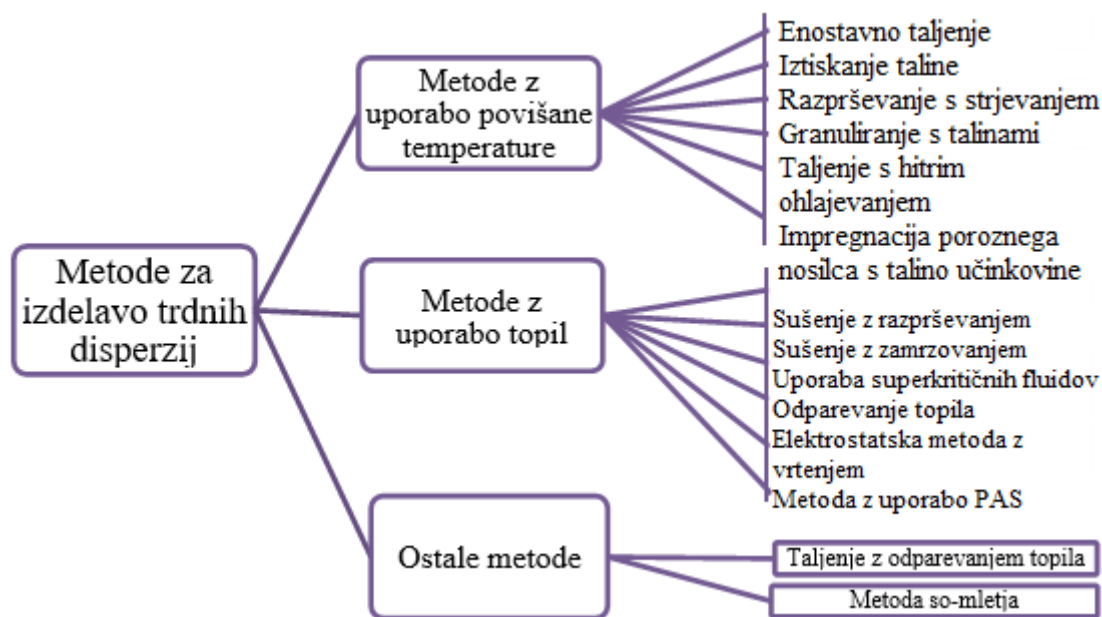
Trdne disperzije (TD) so sestavljene iz dveh snovi v trdnem agregatnem stanju pri čemer je ena ustrezno dispergirana v drugi. Agregatno stanje pomeni določeno povezavo med gradniki snovi, kjer ločimo trdno, tekoče in plinasto agregatno stanje. V trdnem agregatnem stanju so delci povezani tesno skupaj. Med njimi vladajo močne privlačne sile, struktura snovi pa je lahko:

- kristalna, ta se težje raztaplja, ker so gradniki snovi povezani med seboj v urejeno periodično strukturo (kristalno rešetko)
- amorfna, se po navadi raztaplja bolje, ker so gradniki povezani skupaj na manj urejen način.

Trdne disperzije so navadno sestavljene iz ogrodja, ki je hidrofilno in učinkovine, ki je v vodi težko topna. Stanje ogrodja je lahko kristalno ali amorfno. Ogrodje je lahko kristalno ali amorfno. Učinkovina je v tem ogrodju molekulsko dispergirana ali pa razporejena v obliki kristalnih delcev (14). Trdne disperzije lahko definiramo tudi kot zmesi v vodi težko topne zdravilne učinkovine s hidrofilnimi nosilci, kjer je profil sproščanja učinkovine odvisen od lastnosti nosilca (15). Trdne disperzije izdelujemo s številnimi metodami, katere v glavnem razdelimo v tri skupine:

- metode z uporabo povišane temperature,
- metode z uporabo topil ter
- kombinacije obeh metod.

Metode za izdelavo trdnih disperzij so shematsko prikazane na sliki 2.



Slika 2: Shema različnih metod za izdelavo trdnih disperzij

Prednosti trdnih disperzij

Izdelava trdne disperzije v kateri je specifična površina delcev, ki so dispergirani v hidrofilnem vodotopnem nosilcu povečana, je najpogosteje povezana z njenim izboljšanim raztapljanjem. Po stiku topila z delci TD se najhitreje raztopi pomožna snov, takoj za tem pa se v obliki koloidnih delcev sprosti še zdravilna učinkovina. Zaradi velike površine delcev je raztapljanje učinkovine povečana na osnovi česar pričakujemo izboljšanje njene biološke uporabnosti (14, 15). Ker lahko TD izdelamo z uporabo različnih metod in pomožnih snovi, so tudi formulacije peroralnih farmacevtskih oblik lahko zelo različne. TD lahko predstavljajo enostaven način vgradnje tekoče oblike zdravilne učinkovine, katero vgrajujemo v trdnem agregatnem stanju z impregnacijo v nevodotopne hidrofilne porozne nosilce (silicijev dioksid), pri čemer se izognemo problemom povezanih z biološko uporabnostjo zdravila (16). Poleg tega lahko s kombinacijo težko topne učinkovine in porozne nevodotopne pomožne snovi zagotovimo stabilnost amorfnega stanja. Porozne nevodotopne snovi imajo veliko specifično površino, dobro definirano strukturo por in veliko kapaciteto sorpcije zdravilne učinkovine in predstavljajo zanimivo skupino spojin za izdelavo trdnih disperzij. Delimo jih na kot hidrofobne in hidrofilne in z njimi poljubno modificiramo raztapljanje različnih učinkovin. Med najpogosteje

proučevane prištevamo: porozni silicijev dioksid (Sylisia 550 ®, Syloid 244 FP), polipropilen (Accurel®), porozni kalcijev silikat (Florite®), magnezijev aluminijev metasilikat (Neusilin), porozna keramika.

Pomanjkljivosti trdnih disperzij

Pomanjkljivosti pri izdelavi TD se kažejo v slabo definiranih, zamudnih in dragih metodah izdelave, katere so lahko slabo ponovljive in predstavljajo težave pri oblikovanju ustrezne farmacevtske oblike. Proizvajalci zdravil so pri izdelavah TD omejeni glede povečanja proizvodne serije in imajo težave glede fizikalne in kemijske nestabilnosti TD (15, 17). Omejitev izdelave TD z raztapljanjem komponent s sledečim odparevanjem topila je toksičnost organskih topil. Poleg tega obstaja malo topil, ki bi hkrati raztapljala vse komponente tredne disperzije. Pri izdelavi TD z metodo taljenja pa predstavlja uporaba visokih temperatur nevarnost razpada učinkovine in pomožne snovi (18).

1.4 FIZIKALNE ZMESI

Fizikalne zmesi so zmesi več trdnih komponent pomešanih med seboj. Lahko rečemo, da so to disperzni sistemi trdno/plin, kjer je notranja faza praškasti delec zunanja pa zrak. Delci se med seboj razlikujejo v obliki, velikosti in zato tudi v masi. Sestavljeni so iz enot (molekul), ki so povezane s kohezijskimi silami. Delec je lahko kristal, amorfna snov ali agregat. Tukaj ločimo glede na različne sile med delci v fizikalni zmesi agregate in aglomerate. Agregati so sestavljeni iz posameznih delcev povezanih med seboj s silami sintrnih mostičev, ki nastanejo zaradi molekularne difuzije med delci. Aglomerati pa so tvorbe katerih povezovalne sile med delci prav tako sodijo med sekundarne sile, vendar druge, te so van der Waalsove in elektrostatske sile. Aglomerate lahko razbijemo do osnovnih delcev lažje kot agregate, že s stresanjem ali sejanjem. Aglomerati nastajajo vzporedno z naraščanjem specifične površine substance, otežujejo mešanje praškov v fizikalni zmesi in poslabšujejo pretočne lastnosti praškov. Razbijemo jih lahko z rahlim ribanjem, sejanjem ali pa dodajanjem tekočin z nizko površinsko napetostjo (povečamo močenje), včasih pa tudi z dodatkom praškastih substanc, ki imajo še manjše delce (zelo droben silicijev dioksid). Glede na različne oblike delcev (okrogli, elipsoidni, igličasti, paličasti) so delci bolj ali manj tesno skupaj, tako je med okroglimi delci manj zraka kot

med igličastimi in paličastimi. Velikost, oblika in specifična površina delcev vplivajo na lastnosti praškov oz. fizikalnih zmesi, ki so pomembne tako za terapevtski učinek (npr.: lastnosti raztapljanja zdravilne učinkovine), kot za nadaljnjo tehnološko obdelavo učinkovine v farmacevtsko obliko. Pri pripravi fizikalnih zmesi se srečamo s pojavom tvorbe aglomeratov, pojavom električnih nabojev, adsorpcije, higroskopnosti in sposobnosti oddajanja kristalne vode. Naraščanje specifične površine delcev poveča nastajanje aglomeratov in hkrati poveča adsorpcijo plinov (vodne pare), kar poslabša pretočne lastnosti praškov, zato moramo te praške posušiti ali dodati sušilno sredstvo. Hkrati pa povečanje površine delcev izboljša topnost in poveča hitrost raztapljanja snovi. Posledica trenja med delci med mešanjem ali med njimi in steno posode je nastajanje električnih nabojev, pri istoimenskih nabojih se delci pršijo na vse strani, pri različnih pa pride nasprotno, do adhezije. Te težave odpravimo z dodajanjem snovi z nasprotnim nabojem ali brez naboja ali z dodatkom snovi z manjšimi delci. Med pripravljanjem zmesi ne pride do nikakršnih kemijskih sprememb snovi, katere predstavljajo posamezne komponente zmesi, zato lahko te snovi tudi ponovno ločimo. Z vidika farmacevtske tehnologije so pomembne predvsem fizikalne lastnosti snovi v zmesih. Te so: topnost, velikost in oblika delcev, temperatura vrelišča, sublimacija, agregatno stanje snovi, kristalizacija in druge lastnosti.

Mešanje praškov, je pomemben tehnološki proces, ki spada k osnovnim in nujnim procesom pri izdelovanju zdravil in pripravi fizikalnih zmesi, s ciljem zagotavljanja enakomerne porazdelitve sestavin, ne da bi se kemijsko ali fizikalno spremenile. Pri trdnih delcih (praških) lahko pride med mešanjem tudi do negativnih vplivov, tako da zmanjšamo stopnjo homogenosti. Kolikšen je ta vpliv, je odvisno od velikosti delcev, njihove oblike, gostote in seveda količine snovi. Idealna zmes dveh komponent je takšna, da je delec ene snovi obdan z vseh strani le z delci druge snovi in obratno, snovi so med seboj enakomerne porazdeljene. Takšna zmes skoraj ni nikoli dosegljiva, zato govorimo kar o realnih zmesih, pri večini procesov mešanja raste stopnja homogenosti le do neke optimalne vrednosti. Če podaljšamo čas mešanja še naprej, se stopnja homogenosti zmanjšuje, vendar le do določene mejne vrednosti, na katero vplivajo tako komponente, kot proces mešanja (19, 20).

1.5 IZBOLJŠANJE RAZTAPLJANJA ZDRAVILNE UČINKOVINE IZ FIZIKALNIH ZMESI

Leonardi in Salomon so v raziskavi iz leta 2013 pokazali enakovrednost priprave fizikalnih zmesi s trdnimi disperzijami z vgrajeno težko vodotopno zdravilno učinkovino v tabletah kot končni farmacevtski obliki za peroralno aplikacijo. Zdravilna učinkovina benznidazol je namenjena za antihelmintično zdravljenje proti parazitu *Trypanosoma cruzi* (21).

Cilj njihove raziskave je bil oceniti polietilenglikol PEG 6000 kot nosilec benznidazola v tabletah izdelanih z uporabo trdnih disperzij z namenom izboljšanja hitrosti raztapljanja te v vodi težko topne zdravilne učinkovine. Benznidazol spada med bazične učinkovine in je hkrati slabo permeabilen kar pomeni, da težko prehaja skozi biološke membrane. Pri raziskovanju so uporabili poleg zdravilne učinkovine in pomožne snovi v vodi dobro topnega PEG 6000 tudi laktozo in navadni ter želatinirani škrob. Poleg trdnih disperzij so izdelali tudi fizikalne zmesi z uporabo istih komponent. Zmesi med benznidazolom in PEG 6000 so pripravili v stehiometričnih razmerjih 1:1 in 1:5. V enakem razmerju so bile pripravljene tudi trdne disperzije po metodi z odparevanjem topila. Učinkovino so raztopili v etanolu in PEG 6000 v vodi, preostanek posušili in shranili v eksikatorju. Hitrost raztapljanja so izvedli v napravi z vesli kjer so kot medij za raztapljanje uporabili 0,1 molaro HCl (900ml) v njej pa so raztapljali čisto učinkovino, pripravljeno fizikalno zmes benznidazola s PEG 6000 v dveh različnih razmerjih ter praškasto obliko trdnih disperzij med učinkovino in PEG 6000 v razmerjih 1:1 in 1:5. Profil sproščanja učinkovine je pokazal, da se je učinkovina glede na čisto obliko mnogo bolje in hitreje raztapljala tako iz fizikalnih zmesi, kot tudi iz trdnih disperzij. Ta nepričakovani rezultat identičnosti raztapljanja učinkovine iz zmesi in disperzij so proučevali naprej tako, da so ob dodatku želatiniranega škroba iz teh granulotov izdelali tablete in nato poskuse ponovili v identičnem mediju in pod istimi pogoji test sproščanja učinkovine tudi iz te oblike. Zaradi močnega vpliva želatiniranega škroba, ki je izboljšal razpadnost tablet in povečal učinek PEG 6000 na učinkovino v smislu izboljšanja močenja so bili rezultati hitrosti raztapljanja učinkovine v teh primerih podobni prejšnjim. Kot posledica tega so avtorji te študije v zaključku sklenili, da benznidazol vgrajen v tablete, ki so izdelane iz fizikalnih zmesi dajejo dobro dodatno možnost izboljšanja raztapljanja težko vodotopnih učinkovin. Na ta način se lahko izognemo omejitvam, ki so povezane s farmacevtsko-tehnološkimi postopki izdelave trdnih disperzij (21).

1.6 PROUČEVANJE OBLIKE (VIDEZA) DELCEV

Oblika delcev je pogosto kritičen parameter pri razvoju in proizvodnji farmacevtskih izdelkov, saj se materiali zaradi različne oblike delcev lahko povsem drugače obnašajo med tehnološkim procesom (npr.: različna pretočnost, adhezivne karakteristike, itd.) ali med raztapljanjem zdravilne učinkovine, kar se še posebno odraža pri tistih učinkovinah, katere so v vodi težko topne in jih apliciramo peroralno (22). Poznamo okrogle delce in delce nekroglaste oblike. Ameriška farmakopeja podaja pravilno nekroglasto obliko delcev z naslednjimi izrazi: stebri, kosmiči, ploščice in letve. Delce lahko opišemo tudi po videzu robov (oglati, zaokroženi, gladki, ostri) in površine (razpokane, gladke, porozne, grobe) (23). Videz oz. obliko in tudi velikost delcev lahko določimo z različnimi tehnikami mikroskopije, kjer uporabljamo optični ali vrstični elektronski mikroskop.

Optični mikroskop uporabljamo za proučevanje delcev večjih od 1 μm . Spodnjo mejo opazovanja določa valovna dolžina svetlobe, zgornja meja pa je manj definirana. Ta mikroskop se praktično uporablja vedno vzporedno z metodo laserske difrakcije, saj nam omogoča razlikovanje med različnimi oblikami delcev ter med primarnimi delci in prisotnimi aglomerati teh delcev v vzorcu. Metoda laserske difrakcije teh razlik namreč ne zazna.

Z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM) pa določamo obliko delcev kjer opazujemo strukturo in sestavo vzorcev. Pri tej vrsti mikroskopa gre za uporabo fokusiranega elektronskega snopa kar omogoča, da opazujemo topografijo in površino vzorcev. Omogoča velik razpon povečave od 20-kratne do 500000-kratne, zanj je značilna zelo dobra ločljivost in izrazita globinska ostrina.

1.7 TERMIČNA ANALIZA VZORCEV (DSC)

Termična analiza je z leti postala nenadomestljivo orodje pri raziskavah in razvoju na področju farmacevtske tehnologije (24). Obsega več metod med katerimi je najbolj uporabna diferenčna dinamična kalorimetrija. Z njeno uporabo lahko pospešimo raziskave na področju novih materialov, razvoj in optimizacijo formulacij. Uporabna je pri proučevanju strukture in drugih lastnosti čistih komponent formulacije in interakcij med njimi. Pridobivamo lahko podatke o temperaturi steklastega prehoda (T_g), kristalizacije,

tališča, entalpije reakcij, kristalizacije, čistosti izhodnih snovi, sestavi zmesi in termolabilnosti (24). Zavedati se moramo, da sama termična analiza ne daje dovolj podatkov za študij nekega problema preiskovane zdravilne učinkovine ali snovi, zato je za razlago rezultatov potrebno uporabiti še kakšno drugo neodvisno analitsko tehniko (npr. rentgensko difrakcijo ali mikroskopijo).

1.8 VELIKOST DELCEV

Velikost delcev je v farmacevtski tehnologiji ena izmed najpomembnejših fizikalnih lastnosti prahov in pogosto predstavlja kritičen parameter v številnih fazah razvoja in proizvodnje mnogih farmacevtskih izdelkov. Velikost delcev ima lahko odločilen vpliv pri izdelavi, stabilnosti zdravilne učinkovine in farmacevtske oblike nasploh. Pomembno vpliva na hitrost raztapljanja zdravilne učinkovine in posledično določa biološko uporabnost predvsem trdnih farmacevtskih oblik (25). Ker so delci tridimenzionalnih oblik, je njihovo velikost zelo težko opisati samo z enim parametrom. Kadar so delci okroglasti so vse dimenzije v vseh prostorskih smereh identične, takrat lahko velikost delca opišemo samo z navedbo enega samega podatka, to je premera. V realnosti pa imamo opravka z nepravilnimi oblikami delcev in zanje obstaja več načinov podajanja njihove velikosti, zato moramo navesti kateri parameter smo merili in s katero analizno tehniko smo to izvajali. Za pravilen opis realnih delcev je potrebno podati vsaj tri parametre (dolžino, debelino oz. širino in višino). Kljub razvoju številnih analiznih tehnik, žal danes še nimamo na razpolago univerzalne analizne tehnike, katera bi lahko podala natančen opis velikosti delca (25, 26). Večina analiznih metod temelji na poenostavljenem modelu, ki predvideva da so merjeni delci v vzorcih kroglasti, v tem primeru je velikost delca določena s premerom krogle, ki ima enako lastnost (volumen, maso, površino) kot dejanski merjeni vzorec. Klasične analizne tehnike se med seboj razlikujejo tako v merjenih parametrih, kot tudi načinu prikaza rezultatov. Rezultati so lahko podani kot številčna, volumska oz. masna in površinska porazdelitev. V proučevanem vzorcu delci po navadi niso monodisperzni, zato je rezultate smiselno podajati v obliki povprečja in porazdelitve velikost okrog tega povprečja. To porazdelitev delcev lahko odvisno od uporabljene merilne tehnike, predstavljamo na več načinov. Uporabimo lahko številčno ali volumsko, oziroma masno porazdelitev. Pri volumski porazdelitvi delcev, ki je značilna za lasersko difrakcijo pogosto izražamo porazdelitev velikosti delcev v deležih od celotnega volumna vzorca (D_{10} pomeni

10% delcev manjših od določene vrednosti, podobno D_{50} , D_{90}). V literaturi so najpogosteje uporabljeni naslednji načini podajanja povprečne velikosti delcev: številčni povprečni premer, površinski povprečni premer in volumski povprečni premer delcev (27, 28).

Za analizo delcev na področju farmacevtske tehnologije danes najpogosteje uporabljamo lasersko difrakcijo. Primerna za merjenje širokega intervala velikosti (od 20 nm do 3500 μm) in zahteva majhne množine vzorca (zadostuje nekaj mg do g vzorca). Meritve izvajamo z dispergiranjem delcev v zraku ali tekočih medijih.

1.9 POVRŠINSKA NAPETOST IN MOČENJE

Površinska oz. medfazna napetost je sorazmerna delu, ki ga moramo vložiti za nastanek nove površine neke snovi (29). Če želimo povečati površino snovi, moramo iz njene notranjosti pripeljati nove molekule, ob tem pa opravimo delo, ki je enako povečanju energije površine (30). Podano s spodnjo enačbo (enačba 2):

$$dW = \gamma dA, \text{ oziroma } \Delta W = \gamma \Delta A \quad \text{Enačba (2)}$$

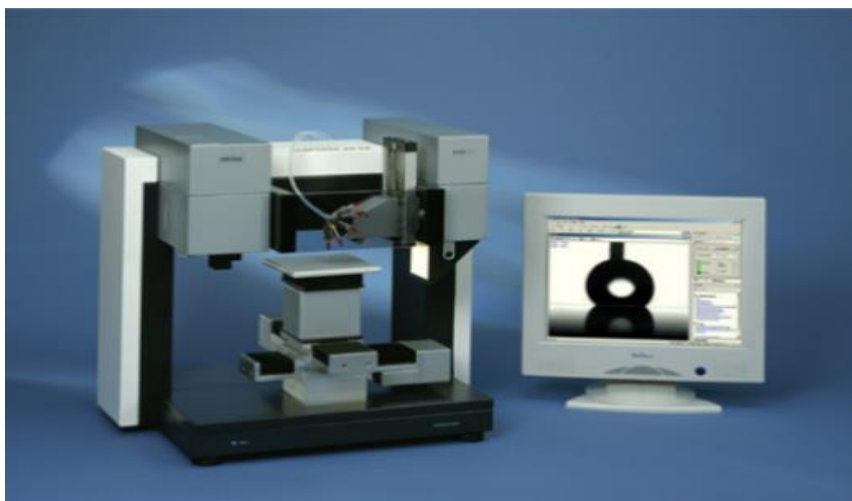
γ = medfazna napetost oz. površinska napetost

W = delo ali povečanje energije površine

A = površina

Površinsko napetost tekočin merimo z različnimi metodami: z metodo dviga tekočine v kapilari, metodo določanja volumna ali mase kapljice t.i. stalagometrična metoda, nadalje s tenziometrično metodo, manometrično metodo in Wilhelmijevo metodo s ploščico.

Močljivost je definirana, kot sposobnost tekočine, da se razprostira po površini trdne ali tekoče snovi, ki v njej ni topna oz. se z njo ne meša in ne raztaplja. Glede na različne medfaze pogosto proučujemo močljivost med trdno in tekočo fazo, kjer je merilo zanjo velikost stičnega kota. Nižji stični kot pomeni boljše močenje. Močenje trdnih površin najpogosteje vrednotimo z goniometrično metoda (slika 3), kjer stični kot merimo neposredno s pomočjo mikroskopa.



Slika 3: Goniometer

2 NAMEN DELA

V magistrski nalogi bomo proučevali vpliv različnih hidrofilnih (vodotopnih in nevodotopnih) pomožnih snovi na raztapljanje dveh modelnih zdravilnih učinkovin (naproksen in karvedilol) iz dvokomponentnih fizikalnih zmesi. Nekateri literaturni podatki nakazujejo, da lahko izboljšanje raztapljanja v vodi težko topne zdravilne učinkovine dosežemo z izdelavo fizikalne zmesi z ustrezno pomožno snovjo. Uporabili bomo dve vodotopni snovi: laktozo ter polivinilpirolidon in dve nevodotopni: silicijev dioksid ter magnezijev aluminijev meta silikat. Poskuse raztapljanja iz fizikalnih zmesi bomo izvajali z uporabo farmakopejskih metod v mediju s pH 6,8, ki simulira okolje v tankem črevesu, kjer poteka absorpcija večine peroralno apliciranih zdravilnih učinkovin.

Za razlago rezultatov vpliva pomožnih snovi na raztapljanje zdravilnih učinkovin bomo proučevali močenje praškastih fizikalnih zmesi z medijem za raztapljanje, velikost delcev ter njihovo morfologijo. Prav tako bomo z analizo termičnih lastnosti fizikalnih zmesi in njihovih komponent ugotavljali ali lahko spremenjeno raztapljanje zdravilne učinkovine pripišemo določenim interakcijam s pomožno snovjo.

3. EKSPERIMENTALNO DELO

3.1 MATERIALI

Modelne učinkovine:

- zdravilna učinkovina naproksen, (Lex, Slovenija)
- zdravilna učinkovina karvedilol, (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Nemčija)

Pomožne snovi:

- polivinilpirolidon PVP K30, (BASF, Nemčija)
- α laktoza monohidrat Tablettose 80[®], (Meggler, Nemčija)
- silicijev dioksid Syloid 244 FP EU (Grace GmbH, Nemčija)
- porozen magnezijev aluminometasilikat Neusilin[®] (Fuji Chemical Industry Co. LTD Japonska)
- natrijev lavrilsulfat (Sodium dodecyl sulfate), (Merck, Nemčija)

Kemikalije:

- kalijev hidrogenfosfat, K_2HPO_4 (Kemika, Hrvatska)
- kalijev dihidrogenfosfat, KH_2PO_4 (Merck, Nemčija)
- citronska kislina, $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$, (Acidum citricum monohydricum) (Lex d.o.o. Koper, Slovenija)
- dinatrijev hidrogenfosfat Na_2HPO_4 , Emsure[®], (Merck, Nemčija)
- n – heksan (Merck, Nemčija)
- 2 – propanol (Merck, Nemčija)
- prečiščena voda, pripravljena na UL – Fakulteti za farmacijo

Ostalo:

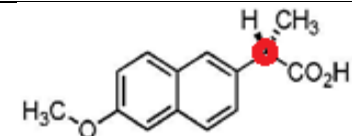
- trde želatinaste kapsule, velikosti (Capsule GmbH, Nemčija)

OPIS ZDRAVILNIH UČINKOVIN

ZDRAVILNA UČINKOVINA: NAPROKSEN

Farmakopeja opisuje naproksen kot bel kristaliničen prašek, ki je praktično netopen v vodi in dobro topen v etanolu in metanolu. Topi se v maščobah in pri višjih pH vrednostih medija. Po kemizmu je naproksen derivat propionske kisline z naslednjimi osnovnimi podatki, ki so prikazani v spodnji preglednici:

Preglednica 3: Preglednica osnovnih podatkov za naproksen

IUPAC kemijsko ime	<i>(2S) -2- (6-metoksinaftalen-2-il) propanojske kisline (31)</i>
Strukturna formula	 <p>Označen kiralni center (31, 32)</p>
Molekulska formula	C ₁₄ H ₁₄ O ₃ (33)
Molska masa	230,3g/mol (31)
Temperatura tališča	153°C (31)
pKa	4,15 (34)
log P	3,22
BCS klasifikacija	Razred II (33)

Po BCS ga uvrščamo v razred II. Njegov pKa = 4,2 (34). Topnost naproksena pri T ± 37 °C in pH = 2,04 znaša 26 mg/L in pri T ± 37 °C in pH = 6,8 je 7891 mg/L) (35). log P = 3,22, je dobro permeabilen in se zato dobro absorbira iz prebavil v kri. Največje serumske koncentracije doseže po 2 do 4 urah. Enkratni odmerki so lahko različni od 275 mg, 375 mg, 500 mg in 550 mg (zmanjšani odmerki pri otrocih) in maksimalni odmerki celo do 1650 mg na dan pri odraslih ljudeh (36). Farmakokinetične lastnosti naproksena se odražajo v tem, da se kar 99,6% učinkovine v krvi veže na plazemske proteine in doseže volumen porazdelitve 0,9 L na kg telesne mase. Biološka razpolovna doba je 12 do 15 ur. Naproksen se metabolizira v jetrih in se skoraj v celoti izloči skozi ledvice, saj se ga 60% izloči predvsem v obliki konjugatov z glukuronsko kislino, 30% v obliki presnovka 6-O-demetilnaproksena in manj kot 10% se ga izloči v obliki nespremenjene učinkovine (36).

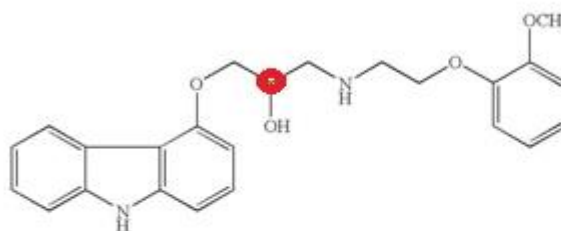
Glede na anatomsko terapevtsko klasifikacijo (ATC) uvrščamo naproksen v MO1AE razvrstitev v farmakoterapevtsko skupino klasičnih nesteroidnih protirevmatičnih učinkovin (NSAID). Naproksen deluje protivnetno, protibolečinsko in protivročinsko (antipiretično). Glavni mehanizem njegovega delovanja je ta, da zavira delovanje encima ciklooksigenaze (COX) in tako prepreči nastanek prostaglandinov. Slednji so pomembni mediatorji v vnetnem procesu, zato omogoča znižanje koncentracije prostaglandinov v telesnih tekočinah in tkivih in to pomeni protivnetno delovanje naproksena. Ker poznamo več izooblik COX encimov (COX-1, COX-2, COX-3) se inhibicija encima COX-3 v hipotalamusu kaže kot antipiretično delovanje naproksena. Kot nesteroidni antirevmatik zavira tudi agregacijo trombocitov. Ta učinkovina je namenjena za zdravljenje vnetnih, degenerativnih in presnovnih revmatičnih bolezni, dismenorei in akutnih napadih protina in migrene (37).

ZDRAVILNA UČINKOVINA KARVEDILOL

Osnovni podatki:

IUPAC poimenovanje: (\pm) -[3-(9H-karbazol-4-iloksi)-2-hidroksipropil][2-(metoksifenoksi) etil]amin

Strukturna formula:



Molekulska formula:	$C_{24}H_{26}N_2O_4$
Molska masa:	406,84 g/mol
Temperatura tališča:	114–115° C (38)
Topnost v vodi:	0.583 mg/L (38)

Slika 4: Strukturna formula karvedilola ima z rdečim krogom označen kiralni center (39)

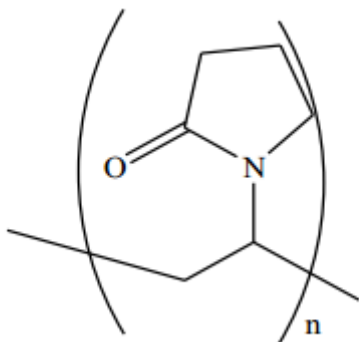
Karvedilol je šibko bazična učinkovina s $pK_a = 7,8$ in je hkrati lipofilna ($\log P = 3,97$), zato se v veliki meri porazdeljuje v ekstra celularna tkiva in doseže volumen porazdelitve 1,5

do 2 L na kg telesne mase (40). Glede na BCS klasifikacijo uvrščamo karvedilol v skupino II kamor spadajo slabo topne in dobro permeabilne učinkovine. Pri vrednostih pH med 1 in 4 je topnost karvedilola omejena s topnostjo nastale protonirane oblike oz. tvorbe "in situ" soli (41, 42). Ker ima učinkovina kiralni center obstaja v dveh oblikah enantiomer S (-) in R (+) in se zato nahaja bodisi kot posamezen stereoisomer ali kot racemat. Enantiomera imata različne učinke in presnovo. Običajni odmerek je 2 krat 12,5 mg in maksimalni odmerek 2 krat 25 mg na dan. Karvedilol se nahaja v več kristalnih oblikah (tudi kot solvat) ali kot amorfna snov, ki se med seboj razlikujejo v številnih fizikalno – kemijskih lastnostih, med drugimi v termičnih lastnostih (44, 45). Najpogosteje uporabljamo kristalno obliko II s tališčem med 113 in 115 °C (46). Lahko ga pripravimo v obliki amorfa s temperaturo steklastega prehoda med 34 in 39 °C (47, 48). Učinkovina se hitro presnavlja z jetrnimi encimi CYP2D6 in CYP2C9 že pri prvem prehodu skozi jetra (preko portalnega krvnega obtoka) zato je njegova biološka uporabnost (BU) le slabih 30%. Učinkovina se metabolizira v presnovke kjer med drugim nastajajo tudi 3 aktivni metaboliti, kateri pa so predvsem β blokatorji (npr.: 4 – hidroksifenil derivat deluje 13 krat močnejše od karvedilola). V primerjavi z njim so aktivni presnovki šibki vazodilatatorji. Učinkovina se v glavnem izloča iz telesa v obliki metabolitov v feces, le 2% se je izloči v nespremenjeni obliki z urinom (42, 49, 50, 51). Zdravilna učinkovina ima poleg učinka na arterijski tlak tudi antioksidativne in antiproliferativne lastnosti. Namenjena je za zdravljenje esencialne hipertenzije, kronične stabilne angine pectoris, kot dopolnilno zdravljenje kroničnega srčnega popuščanja in za zdravljenje po miokardnem infarktu pri tistih bolnikih, pri katerih je dokazana disfunkcija levega prekata (52).

POMOŽNE SNOVI

Polivinilpirolidon K30 (PVP)

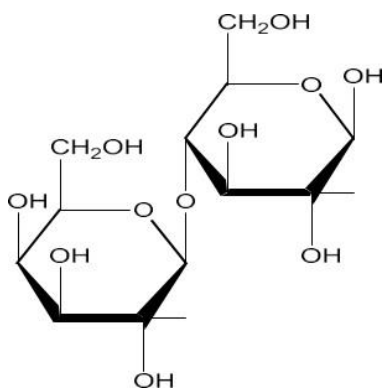
Polivinilpirolidon (BASF Nemčija) je hidrofilna v vodi dobro topna pomožna snov. Po strukturi je linearni polimer *N-vinil-2-pirolidona* (slika 5). Dolžina verige opredeljujemo z njeno vrednostjo K. Višja K vrednost je povezana z višjo stopnjo polimerizacije. Uporabljamo jo predvsem kot vezivo v tabletah, kapsulah in zrnih za direktno tabletiranje. V vodi se dobro raztaplja in ima lahko funkcijo solubilizatorja v različnih farmacevtskih oblikah (53).



Slika 5: Slika prikazuje strukturno formulo monomerne enote PVP K30

α – laktoza monohidrat Tablettose 80[®]

Je hidrofilna v vodi dobro topna pomožna snov. Je aglomerirana α -laktoza monohidrat z velikostjo delcev od 100 do 150 μm . Njena brutto kemijska formula je $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (slika 6) z molekulsko maso 360,3 g/mol. Po videzu predstavlja skoraj bel kristaliničen prašek in se pridobiva večinoma iz sirotke. Kemijsko je disaharid galaktoze in glukoze, ki sta povezani z 1-4 β glikozidno vezjo (54, 55).



Slika 6: Strukturna formula laktoze.

Nizka cena, dostopnost, primeren okus, nizka higroskopnost, odlična fizikalno-kemijska stabilnost in topnost v vodi so glavni razlogi, da laktozo pogosto uporabimo kot polnilo/vezivo v tabletah in kapsulah (56, 57). Zaradi dobre topnosti te snovi v vodi jo lahko dodajamo v formulacije za izboljšanje raztapljanja težko topnih učinkovin.

Porozni silicijev dioksid Syloid 244 FP

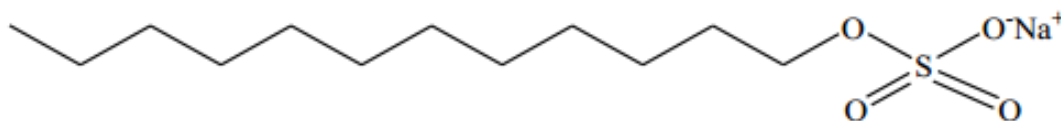
Spada med hidrofilne porozne nevodotopne snovi. Pore so neurejene. Specifična površina znaša $300 \text{ m}^2/\text{g}$. Povprečni premer por je 19 nm in velikost delcev $5,5 \text{ }\mu\text{m}$, gostota pa je $96,1 \text{ kg/m}^3$ (58, 59).

Mezoporozni silikatni nosilec Neusilin[®]

Pri delu smo uporabili porozen magnezijev aluminometasilikat Neusilin[®], ki je amorfen granulat bele barve s porozno strukturo. Granule so okrogle oblike z velikostjo od 44 do $177 \text{ }\mu\text{m}$, specifična površina je $300 \text{ m}^2/\text{g}$ in povprečna velikost por 15 nm . Ima visoko adsorpcijsko kapaciteto, ki znaša 3 ml/g in je praktično netopen v vodi. (60, 61).

Natrijev lavrilsulfat (SLS)

Natrijev lavrilsulfat anionska površinsko aktivna snov, se uporablja z brutto molekulska formulo $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4\text{Na}$ (slika 7) (62).



Slika 7: Strukturna formula natrijevega lavrilsulfata.

Je emulgator O/V, anionska površinsko aktivna snov, sredstvo za močenje, drsilo pri tabletah in kapsulah. Nahaja se v obliki belih ali kremno belih kristaliničnih delcev, ki so podobni kosmičem in imajo rahel vonj po maščobah, so grenkega okusa in imajo vrednost oznake $\text{HLB} = 40$. V vodnem mediju natrijev lavrilsulfat disocira na ione, nastali ioni pa so glavni nosilci emulgatorskih lastnosti in je učinkovit v nevtralnem in alkalnem mediju kot močljivec oz. solubilizator (kadar njegova koncentracija v raztopini preseže kritično micelarno koncentracijo-CMC), s katerim lahko izboljšamo raztapljanje v vodi težko topnih zdravilnih učinkovin (63).

3.2 NAPRAVE

Seznam uporabljenih naprav:

- analitska tehtnica AG 245 (Mettler Toledo, Švica)
- pH meter Seven Multi (Mettler Toledo, Švica)
- ultrazvočna kadička, Sonis 4, Iskra pio (Slovenija)
- naprava za raztapljanje Erweka DT6
- spektrofotometer, Agilent 8453 UV – visible spectroscopy sistem (Hewlett – Pickard Waltbronn, Nemčija)
- diferenčni dinamični kalorimeter Mettler Toledo, DSC 1 opremljen s programsko opremo STAR[®] software (Švica)
- elektronski vrstični mikroskop SEM Supra 35 VP (Carl Zeiss, Nemčija)
- sita za sejanje (velikost por 63 – 100 μm) (RETCH, Nemčija)
- vibracijski sejalnik, RETCH AS 200 basic (Nemčija)
- aparatura za merjenje velikosti delcev z lasersko difrakcijo Mastersizer 2000 (Malvern Instrumens Ltd, Velika Britanija)
- merilnik stičnega kota (goniometer) Krüss DSA 100 (Hamburg, Nemčija)
- naprava za merjenje površinske napetosti (Wilhelmijeva naprava) Krüss (Hamburg, Nemčija)

3.3 METODE DELA

3.3.1 Proučevanje morfoloških lastnosti delcev z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM)

Morfologijo delcev smo proučevali z vrstičnim elektronskim mikroskopom (angl. Scanning Electron Microscope, slika 8) Supra 35 VP Carl Zeiss iz Nemčije na Kemijskem inštitutu v Ljubljani. Proučevani vzorci so bili: zdravilne učinkovine naproksen, nepresejani karvedilol in presejani karvedilol z velikostjo delcev od 63 μm do 100 μm , pomožne snovi (Tablettose 80[®], Syloid 244, PVP K30 in Neusillin[®]) ter njihove fizikalne zmesi s karvedilolom. Vzorci smo nalepili na dvostranski ogljikov lepilni trak in jih analizirali z uporabo detektorja za sekundarne elektrone. Pogoji pri katerih smo izvajali

analizo so bili naslednji: napetost 1,01 kW, standardna velikost zaslonke in pri delovnih razdaljah (WD) med 3,2 – 4,7 mm.



Slika 8: Vrstični elektronski mikroskop

3.3.2 Priprava pufrov oz. medijev za raztapljanje

Priprava fosfatnega pufra s pH = 6,8

Na analitski tehtnici smo natehtali 43,54g K_2HPO_4 na steklenem čolničku in ga kvantitativno prenesli v 250 ml merilno bučko, ter jo napolnili s prečiščeno vodo do oznake volumna, pretresli in pustili, da se je snov raztopila. Enako smo natehtali 34,02 g KH_2PO_4 in snov prenesli v 250 ml merilno bučko ter jo napolnili s prečiščeno vodo do oznake volumna, pretresli ter pustili da se je snov raztopila. Naslednji dan smo raztopini iz obeh merilnih bučk združili v 5000 ml bučko, jo dopolnili s prečiščeno vodo do oznake volumna in tako dobili fosfatni pufer s pH = 6,8. Nato smo izmerili vrednost pH pripravljene pufra s pH metrom.

Priprava 0,1 M citronske kisline

Na analitski tehtnici smo natehtali 10,5 g citronske kisline in jo kvantitativno prenesli v 500 ml merilno bučko in jo s prečiščeno vodo napolnili do oznake volumna, pretresli in počakali, da se je snov raztopila.

Priprava 0,2 M Na₂HPO₄

Na analitski tehtnici smo natehtali 28,4 g Na₂HPO₄ in snov kvantitativno prenesli v 1000 ml merilno bučko in s prečiščeno vodo dopolnili do oznake volumna. Pretresli in počakali smo, da se je snov raztopila.

Priprava citratno – fosfatnega pufra s pH = 6,8

Predhodno pripravljene raztopine smo nadalje uporabili za pripravo pufra tako, da smo z merilnim valjem odmerili 409 ml 0,2 M Na₂HPO₄ in to odmerjeno raztopino prelili v 1000 ml merilno bučko. Nato smo z merilnim valjem odmerili še 91 ml 0,1 M citronske kisline, ter jo dodali k prej odmerjeni raztopini 0,2 M Na₂HPO₄ v skupno 1000 ml merilno bučko, katero smo nazadnje s prečiščeno vodo dopolnili do oznake volumna. Pripravljenemu pufru smo izmerili pH s pH metrom.

Priprava citratno – fosfatnega pufra s pH = 6,8 in 0,3% ter 1% koncentracijo SLS močljivca (solubilizatorja)

Tako smo volumnu 1000 ml citratno – fosfatnega pufra s pH = 6,8 dodali 3 g SLS močljivca in dobili 0,3% koncentracijo SLS v tem pufru. Podobno smo volumnu 1000 ml citratno-fosfatnega pufra s pH = 6,8 dodali 10 g SLS močljivca in dobili 1% koncentracijo SLS v tem pufru.

3.3.3 Merjenje pH

Merjenje pH pufrov in puferskih raztopin z dodanim SLS močljivcem je potekalo z metodo merjenja elektrokemijskega potenciala, oziroma s pH metrom, Seven – Multi s stekleno elektrodo. Merjenje smo izvajali pri sobni temperaturi 25 ± 2 °C.

3.3.4 Sejanje karvedilola (63 µm do 100 µm)

Na sejalni napravi Retsch-AS 200 smo izvedli sejanje karvedilola. Uporabili smo sita z velikostjo odprtin 63 µm do 100 µm. Približno 10 g praškastega vzorca zdravilne učinkovine smo stresli na sito z največjimi odprtinami. Sledila je namestitev vpenjalnega pokrova na vrh sejalnega stolpa in pričvrstitev le tega na sejalnik z dvema stranskima

vijakoma. Sejanje smo izvajali 15 min s stresanjem, z amplitudo 50. Po končanem stresanju smo dobili presejan vzorec s pričakovano velikostjo delcev med 63 μm in 100 μm .

3.3.5 Priprava fizikalnih zmesi

Priprava fizikalnih zmesi (FZ) zdravilnih učinkovin s pomožnimi snovmi v stehiometriškem razmerju 1:1 z enostavnim pomešanjem dveh komponent.

Priprava FZ 1:1 zdravilne učinkovine naproksena s pomožnimi snovmi: Tablettose 80®, Syloid 244 in PVP K30

Na analitski tehtnici smo v stekleni čolniček natehtali 1100 mg zdravilne učinkovine naproksena in jo kvantitativno prenesli v prazen, čist in suh 100g plastični lonček Lipis. Prav tako smo natehtali še 1100 mg pomožne snovi, Tablettose 80®, katero smo prav tako natančno prenesli v lonček h prej natehtanemu naproksenu. Lonček smo dobro zaprli in ustrezno označili vsebino v njem. Natehtane količine smo mešali z ročnim stresanjem napolnjenega lončka z obema komponentama 10 min. Tako smo pripravili fizikalno zmes v masnem razmerju 1:1. Postopek smo ponovili še dvakrat z isto zdravilno učinkovino naproksena in dveh različnih pomožnih snovi, Syloid 244 in PVP K30 enakih 1100 mg zateht. Tako smo pripravili ustrezne fizikalne zmesi pripravljene za nadaljnje delo, katere smo proučevali glede hitrosti raztapljanja zdravilne učinkovine iz fizikalne zmesi, postopek in meritve smo izvajali v dveh primerjalnih vzorcih v napravi za raztapljanje z vesli, kjer je en vzorec predstavljal 1000 mg fizikalne zmesi, od tega 500 mg naproksena kot je možen enkratni terapevtski odmerek za to učinkovino in 500 mg pomožne snovi.

Priprava FZ 1:1 zdravilne učinkovine nepresejanega karvedilola s pomožnimi snovmi Tablettose 80®, Syloid 244, PVP K30 in Neusillin®

Na analitski tehtnici smo v čist čolniček natehtali 550 mg zdravilne učinkovine, nepresejanega karvedilola, ter ga prenesli v 100 g plastični Lipis lonček. Nato smo ponovno natehtali še 550 mg pomožne snovi Tablettose 80®, ter jo dodali v lonček k

natehtani zdravilni učinkovini. Lonček smo dobro zaprli in ga ustrezno označili. Nato smo natehtane količine v lončku mešali z ročnim stresanjem lončka 10 min. Tako smo pripravili fizikalno zmes v masnem razmerju 1:1. Enak postopek smo ponovili še 3x z isto zdravilno učinkovino v zatehti 550 mg in vedno drugačno pomožno snovjo, Syloid 244, PVP K30 in Neusillin® enakih 550 mg zatehtanih količin pomožne snovi. Tako smo pripravili ustrezne fizikalne zmesi FZ 1:1 nepresejanega karvedilola v štirih različnih sestavah. Te zmesi smo uporabili za proučevanje hitrosti raztapljanja zdravilne učinkovine iz fizikalne zmesi. Posamezni vzorec za preizkušanje je vseboval 50 mg zmesi, od tega je bilo 25 mg zdravilne učinkovine, kot je lahko enkratni terapevtski odmerek za karvedilol in 25 mg ustrezne pomožne snovi.

Priprava FZ 1:1 zdravilne učinkovine presejanega karvedilola s pomožnimi snovmi Tablettose 80®, Syloid 244, PVP K30 in Neusillin®

Kot je opisana priprava FZ 1:1 zdravilne učinkovine nepresejanega karvedilola s temi istimi pomožnimi snovmi smo enako pripravili FZ 1:1 zdravilne učinkovine presejanega karvedilola v enakih zatehtanih količinah po 550 mg zdravilne učinkovine in dodajali po 550 mg natehtanih pomožnih snovi. Tako smo dobili 4 različne fizikalne zmesi v stehiometričnem razmerju 1:1 z zdravilno učinkovino.

3.3.6 Raztapljanje čistega naproksena in naproksena iz fizikalnih zmesi (FZ 1:1)

Umeritveno premico za naproksen smo izdelali tako, da smo v stekleni čolniček natančno natehtali tri različne presežne količine naproksena v zatehtah 25,1 mg, 50,0 mg in 100,1 mg. Vsako posamezno zatehto smo prenesli v tri 100 ml merilne bučke, ter jih dopolnili s fosfatnim pufrom pH = 6,8 do oznake (priprava pufra vpisana v poglavju 3.3.2) Nato smo eno uro s stresanjem na ultrazvočni kadički raztapljali učinkovino v tem topilu. Pozneje smo vzeli vzorce in jih ustrezno redčili (5x, 10x, 25x, 50x) ter spektrofotometrično določali vsebnost karvedilola v teh vzorcih pri $\lambda = 264\text{nm}$ $T = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Za primerjalni vzorec smo uporabili fosfatni pufer v katerem smo raztapljali učinkovino. Iz rezultatov smo izračunali enačbo umeritvene premice. Enačba za naproksen je $y = 7,1304x$, kjer je kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije znašal $R^2 = 0,9982$.

Raztapljanje čistega naproksena in naproksena iz fizikalnih zmesi, katere smo pripravili tako, kot je opisano v poglavju 3.3.5. smo izvajali na napravi za raztapljanje Erweka DT6 z vesli. S preizkusom smo vrednotili vedno dva primerjalna vzorca zaradi boljših rezultatov in ponovljivosti. Raztapljali smo vzorce čistega naproksena v zatehti 500 mg in ustreznih njegovih fizikalnih zmesi (FZ 1:1) v zatehtah 100 mg (od tega 500 mg naproksena in 500 mg pomožne snovi). Za raztapljanje smo uporabili 900 ml fosfatnega pufra s pH= 6,8 pri temperaturi medija za raztapljanje $T= 37,5^{\circ}\text{C}$ in frekvenci mešala za mešanje 50 obratov na minuto. Vzorce smo vzorčili v časovnih terminih: 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 130 in 1440 minut. Vzorce smo vzorčili z 10 ml plastično brizgo ter jih filtrirali skozi filter z velikostjo por $0,45\ \mu\text{m}$. Nato smo jih redčili v 5-kratnem razmerju. Volumen odvzetega vzorca je znašal vedno 10ml in medija nismo nadomeščali ampak smo ta volumen odvzetega vzorca računsko upoštevali pri izdelavi profila sproščanja. Koncentracijo učinkovine v tako pripravljenih vzorcih smo določili UV-spektrofotometrično z merjenjem absorbance (A) pri valovni dolžini $\lambda = 264\text{nm}$ in tako s pomočjo umeritvene krivulje in vrednosti absorbanc določili koncentracijo učinkovine v preiskovanem vzorcu. Rezultate smo prikazali v grafični obliki s profilom sproščanja, ki prikazuje hitrost sproščanja učinkovine pri danih pogojih.

3.3.7 Raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi (FZ 1:1)

Umeritveno premico za karvedilol smo izdelali tako, da smo učinkovino zatehtali v natančni količini 11,6 mg in jo prenesli v 500 ml merilno bučko, katero smo dopolnili s fosfatnim pufrom pH = 6,8 do oznake ter jo zaprli. Bučko smo nato stresali eno uro pri $T = 37^{\circ}\text{C}$ na ultrazvočni kadički, da se je snov raztopila, pozneje smo vzorčili supernatant in ga ustrezno redčili (5x, 10x, 25x, 50x) in vzorce analizirali z UV- spektrofotometrom pri $\lambda= 331\text{nm}$. Iz dobljenih rezultatov smo izračunali enačbo premice za karvedilol, $y= 22,457x$ kjer je znašal kvadrat Pearsonovega koeficienta korelacije $R^2 = 0,9982$. Tako izdelano umeritveno premico smo nadalje uporabljali pri vseh meritvah vzorcev z učinkovino karvedilol.

Raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi, katere smo pripravili tako, kot je opisano v poglavju 3.3.5 smo izvajali na napravi za raztapljanje Erweka DT6 z

vesli. S preizkusom smo vrednotili vedno dva primerjalna vzorca zaradi boljših rezultatov in ponovljivosti. Raztapljali smo vzorce čistega karvedilola v zatehti 25 mg in ustreznih njegovih fizikalnih zmesi (FZ 1:1) v zatehtah 50 mg (od tega 25 mg karvedilola in 25 mg pomožne snovi). Za raztapljanje smo uporabili 900 ml fosfatnega pufra s $\text{pH} = 6,8$ pri temperaturi medija za raztapljanje $T = 37,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ in frekvenci mešala za mešanje 50 obratov na minuto. Vzorce smo vzorčili v časovnih terminih: 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 130 in 1440 minut. Vzorce smo vzorčili z 10 ml plastično brizgo ter jih filtrirali skozi filter z velikostjo por $0,45\text{ }\mu\text{m}$. Vzorcev ni bilo potrebno redčiti. Volumen odvzetega vzorca je znašal vedno 10 ml in medija nismo nadomeščali ampak smo ta volumen odvzetega vzorca računsko upoštevali pri izdelavi profila sproščanja. Koncentracijo učinkovine v tako pripravljenih vzorcih smo določili UV- spektrofotometrično z merjenjem absorbanca (A) pri valovni dolžini $\lambda = 331\text{nm}$ in tako s pomočjo umeritvene krivulje in vrednosti absorbanca določili koncentracijo učinkovine v preiskovanem vzorcu. Rezultate smo prikazali v grafični obliki s profilom sproščanja, ki prikazuje hitrost sproščanja učinkovine pri danih pogojih.

Raztapljanje vzorcev karvedilola iz kapsul v citratnem pufri s $\text{pH} = 6,8$ z dodatkom 0,3% natrijevega lavrilsulfata

Raztapljanje smo izvedli z aparaturo za raztapljanje Erweka DT6 z nameščenima košaricama pod enakimi pogoji kot raztapljanje vzorcev karvedilola iz kapsul v fosfatnem pufri s $\text{pH} = 6,8$ le da je bil v tem primeru uporabljen drugačen medij za raztapljanje in sicer citratni pufer s $\text{pH} = 6,8$ (priprava tega pufra je podana v poglavju 3.3.2) kateremu smo dodali močljivec, natrijev lavril sulfat v njegovi 0,3% koncentraciji v tem pufri. Namen dodatka močljivca v medij za raztapljanje je bil znižati površinsko napetost mediju in povečati močenje med delci karvedilola in topilom kot medijem za raztapljanje. UV- spektrofotometrične meritve vzorcev smo merili pri enaki valovni dolžini $\lambda = 331\text{nm}$, tako fosfatnega pufra kot tudi v tem primeru uporabe citratnega pufra, saj po predhodnem preizkusu nismo ugotovili večjih razlik v vrednost rezultatov absorbanca med njima pri primerjalnih vzorcih.

Raztapljanje vzorcev karvedilola iz kapsul v citratnem puftru s pH=6,8 z dodatkom 1% natrijevega lavrilsulfata

Celoten postopek preizkušanja hitrosti raztapljanja karvedilola v tem primeru smo izvajali na enak način in pod istimi pogoji kot v prej opisanem raztapljanju vzorcev karvedilola iz kapsul v citratnem puftru s pH = 6,8 z dodatkom 0,3% natrijevega lavril sulfata, z razliko, da smo pri tem raztapljanju imeli v mediju večjo koncentracijo močljivca.

3.3.8 Termična analiza vzorec z diferenčno dinamično kalorimetrijo (DSC)

Termično analizo vzorcev čistega nepresejanega karvedilola, čistih pomožnih snovi (Tabletose 80[®], Syloid 244, PVP K30 in Neusillin[®]) in njihovih fizikalnih zmesi (FZ 1:1) pripravljenih tako, kot je to opisano v poglavju 3.3.5 smo izvedli z diferenčnim dinamičnim kalorimetrom Mettler – Toledo DSC 1 (slika 9), opremljen s programsko opremo STARe Software 9.30. iz Švice. V aluminijaste lončke volumna 40 μ l smo natehtali 3-5 mg vzorca in ga hermetično zaprli s pomočjo stiskalnice za zapiranje DSC lončkov. Vzorce smo segrevali od -10 do 131 $^{\circ}$ C s hitrostjo 5 K/min. Meritve so bile izvedene v dušikovi atmosferi s pretokom dušika 40,0 ml/min. Kalorimeter je bil kalibriran z indijem. Računalniški program je predstavil rezultate termične analize v obliki krivulj.



Slika 9: Uporabljena DSC aparatura

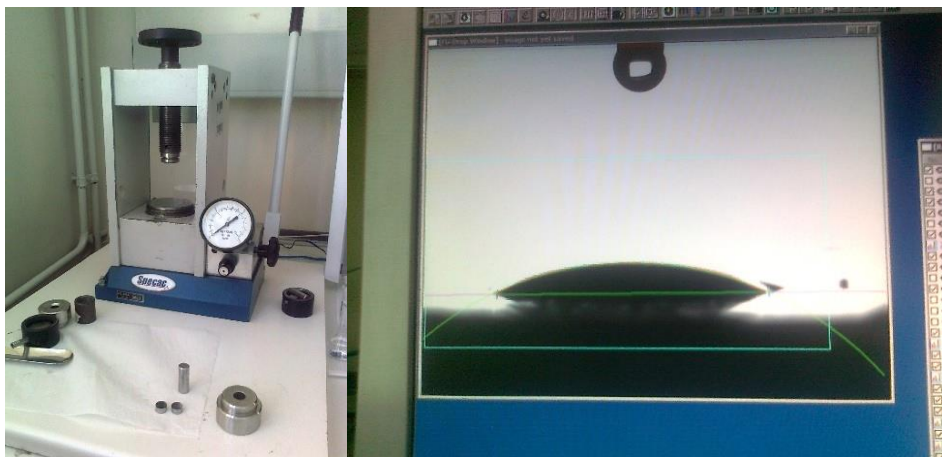
3.3.9 Določanje velikosti delcev z lasersko difrakcijo (LD)

Analizo porazdelitve velikosti delcev smo izvajali na aparaturi za merjenje z lasersko difrakcijo Mastersizer S, proizvajalca Malvern iz Anglije. Vzorci, ki smo jim merili velikost delcev so bile naslednje trdne snovi: nepresejani karvedilol, presejani karvedilol z velikostjo delcev od 63 μm do 100 μm in 4 različne pomožne snovi (Tablettose 80®, Syloid 244, PVP K30 in Neusillin®). Vsak vzorec smo dispergirali v ustreznem topilu, v katerem se snov ne raztaplja, ne spreminja velikosti delcev in se je hkrati optimalno dispergirala. Zato smo kot disperzni medij v treh primerih uporabili heksan v katerega smo dispergirali karvedilol, oziroma PVP K30, uporabili smo tudi 2-propanol, vanj smo dispergirali Tablettose 80®. Nazadnje smo uporabili kot disperzni medij še vodo, vanj smo dispergirali Syloid 244 in Neusillin®. Meritve smo izvajali pri temperaturi 25°C in valovni dolžini svetlobe $\lambda = 633 \text{ nm}$. Nato je aparat izmeril velikost delcev kjer smo za vsak vzorec izvedli tri ponovitve meritev ter računalniško izračunali povprečje dobljenih rezultatov. Rezultati so podani kot volumski povprečni premer delcev. Ti rezultati so predstavljali polmer, katerega bi imela krogla z enakim volumnom kot analizni delec.

3.3.10 Merjenje stičnega kota

Testni tekočini za proučevanje močljivosti proučevanih vzorcev sta bili fosfatni pufer s pH = 6,8 (priprava je opisana v poglavju 3.3.2) in citratno – fosfatni pufer s pH = 6,8 z dodanim SLS v 1% koncentraciji (priprava tega pufra je opisana v poglavju 3.4.3). Ta dva medija smo uporabljali pri proučevanju hitrosti raztapljanja zdravilnih učinkovin. S stiskalnico Barspec (slika 10) smo stisnili približno 200 mg mase posameznega vzorca s silo ene tone ($t = 60 \text{ s}$) v tableto, na kateri smo z metodo sedeče kapljice določili stični kot. Vzorčno tableto smo postavili na mizico naprave za merjenje stičnega kota Drop Shape Analysis sistem DSA 100 pod mikroskop. Nato smo nanjo s pomočjo mikrobirete kanili kapljico testne tekočine našega medija v volumnu 1 μl ob pogojih $T = 25^\circ\text{C}$ in relativni vlažnosti zraka 68 %. Kapljico na površini tablete smo slikali z vgrajeno kamero v aparaturi, ob tem smo pazili, da je bila kapljica na sliki ustrezno osvetljena in izostrena, da jo je lahko računalniški program »Drop Shape Analyzer« prepoznal glede njene velikosti in

izračunal velikost kota (slika 9). Rezultati so podani kot povprečje najmanj petih meritev v 3x ponovitvi merjenja posameznega vzorca. Rezultate smo podali v tabeli.



Slika 10: Stiskalnica Barspec in prikaz merjenja stičnega kota

3.3.11 Merjenje površinske napetosti tekočin

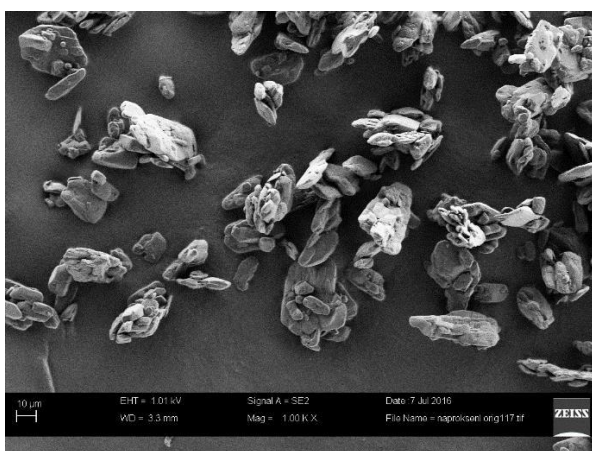
Za merjenje napetosti vodnih raztopin smo uporabili tenziometer Krüss iz Nemčije (slika 13). Aparat deluje na osnovi Wilhelmijeve metode s ploščico, ta metoda je bila razvita že leta 1863 in temelji na merjenju sile pri vleku telesa iz tekočine oz. pri potisku v njo. Za merjenje smo uporabili navpično postavljeno ploščico iz platine, ki je imela obliko pravokotnika z znanimi dimenzijami. V našem primeru smo uporabili dva različna vzorca tekočin, najprej smo izmerili površinsko napetost fosfatnemu pufri s $\text{pH} = 6,8$ in nato še citratnemu pufri s $\text{pH} = 6,8$ z dodanim močljivcem SLS (1% koncentracija). Analizirana pufra smo uporabljali kot medije za raztapljanje proučevanih praškov oziroma fizikalnih zmesi. V stekleno čašo smo nalili testno tekočino in jo termostatirali pri temperaturi $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nato smo z napravo avtomatsko izmerili površinsko napetost. Za vsak vzorec smo izvedli tri meritve ter izračunali povprečno vrednost.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

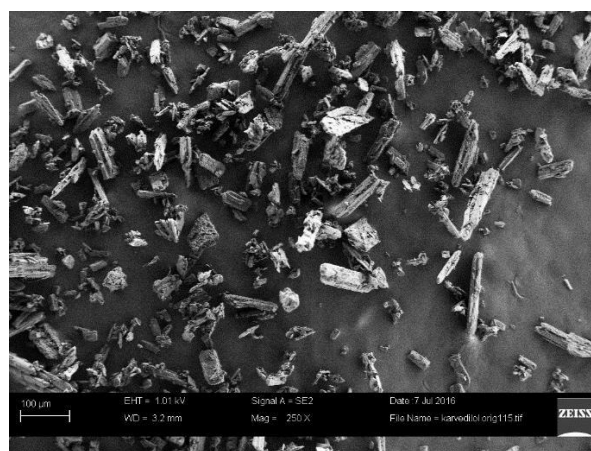
4.1 MORFOLOGIJA DELCEV

MORFOLOGIJA DELCEV ČISTIH UČINKOVIN IN FIZIKALNIH ZMESI S POMOŽNIMI SNOVMI

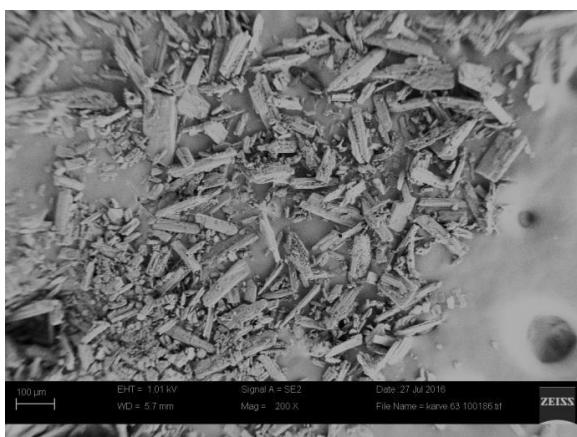
Z elektronskim mikroskopom smo ocenili morfologijo in velikost delcev proučevanih učinkovin, pomožnih zmesi in urejenost delcev v fizikalnih zmesih karvedilola s pomožnimi snovmi. Rezultati so predstavljeni na slikah od 11 do 21.



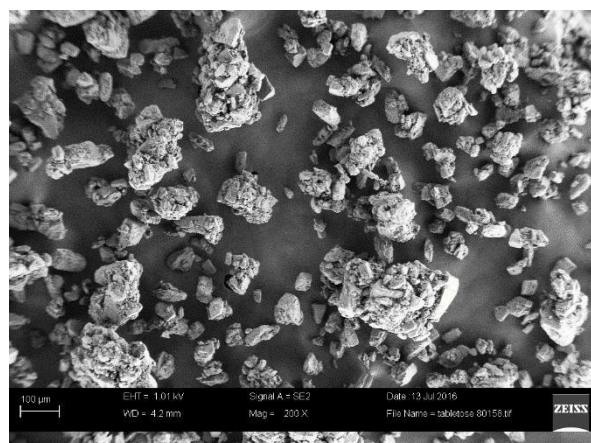
Slika 11: Elektronsko-mikroskopska slika naproksena (povečava 1000)



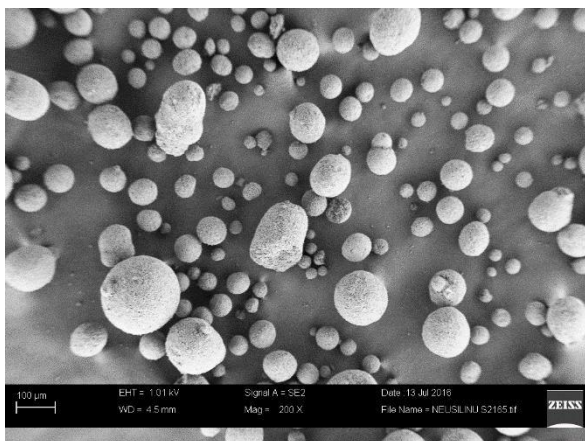
Slika 12: Elektronsko-mikroskopska slika delcev nepresejanega karvedilola (povečava 250)



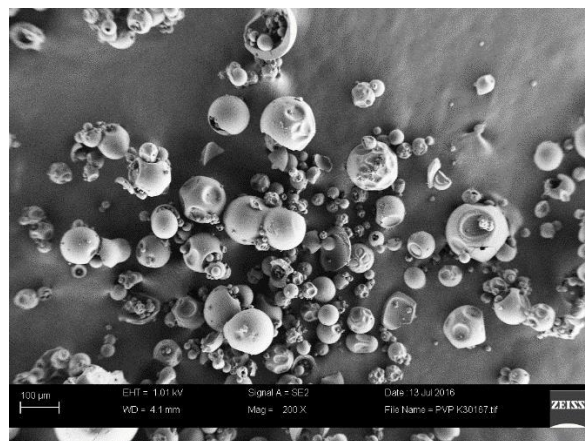
Slika 13: Elektronsko-mikroskopska slika delcev presejanega karvedilola (povečava 200)



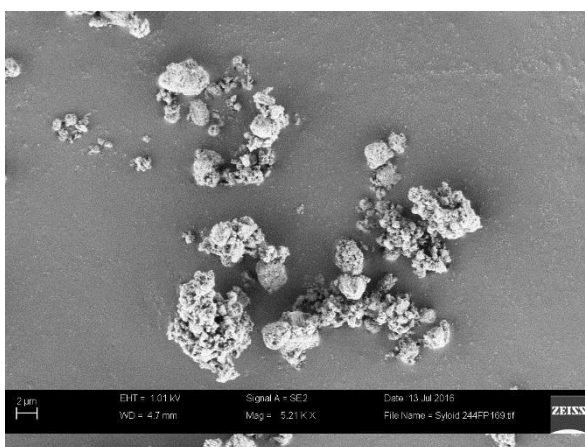
Slika 14: Elektronsko-mikroskopska slika Tabletose 80 (povečava 200)



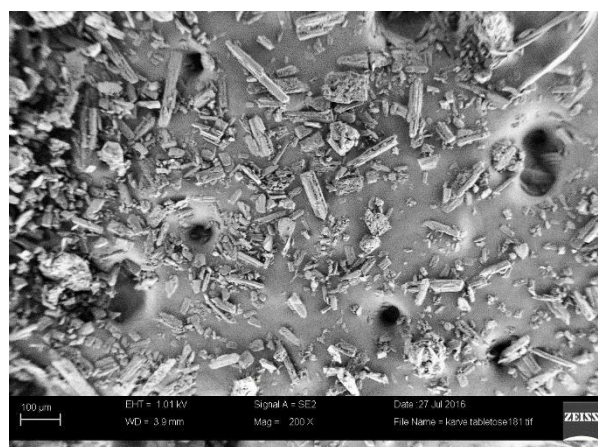
Slika 15: Elektronsko-mikroskopska slika Neusilin US2 (povečava 200)



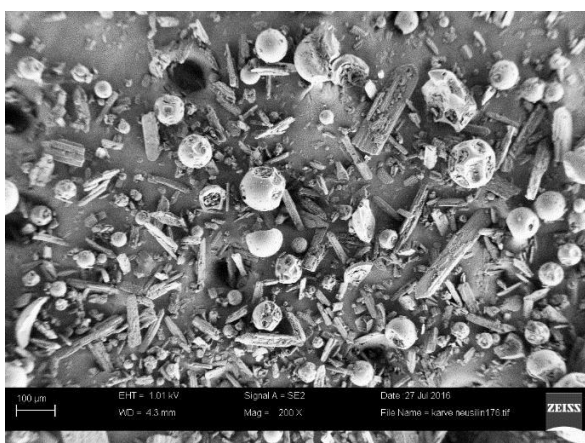
Slika 16: Elektronsko-mikroskopska slika PVP K30 (povečava 200)



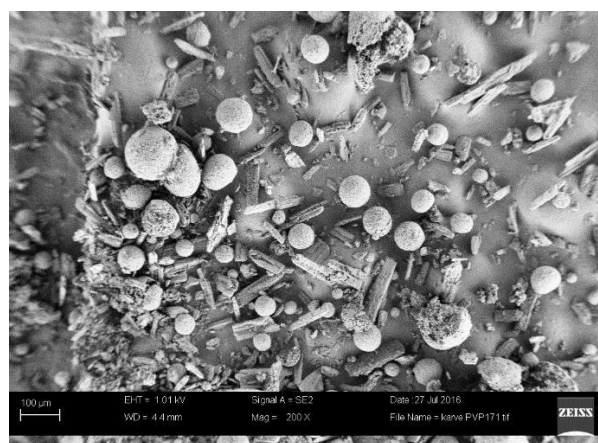
Slika 17: Elektronsko-mikroskopska slika Syloid 244FP (povečava 500)



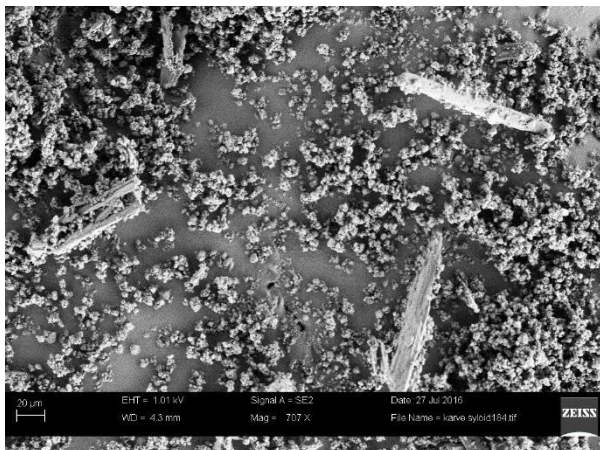
Slika 18: Elektronsko-mikroskopska slika fizikalne fizikalne zmesi nepresejanega karvedilola in Tabletose 80 (povečava 200)



Slika 19: Elektronsko-mikroskopska slika fizikalne zmesi nepresejanega karvedilola in PVP (povečava 200)



Slika 20: Elektronsko-mikroskopska slika fizikalne zmesi nepresejanega karvedilola in Neusilin (povečava 200)



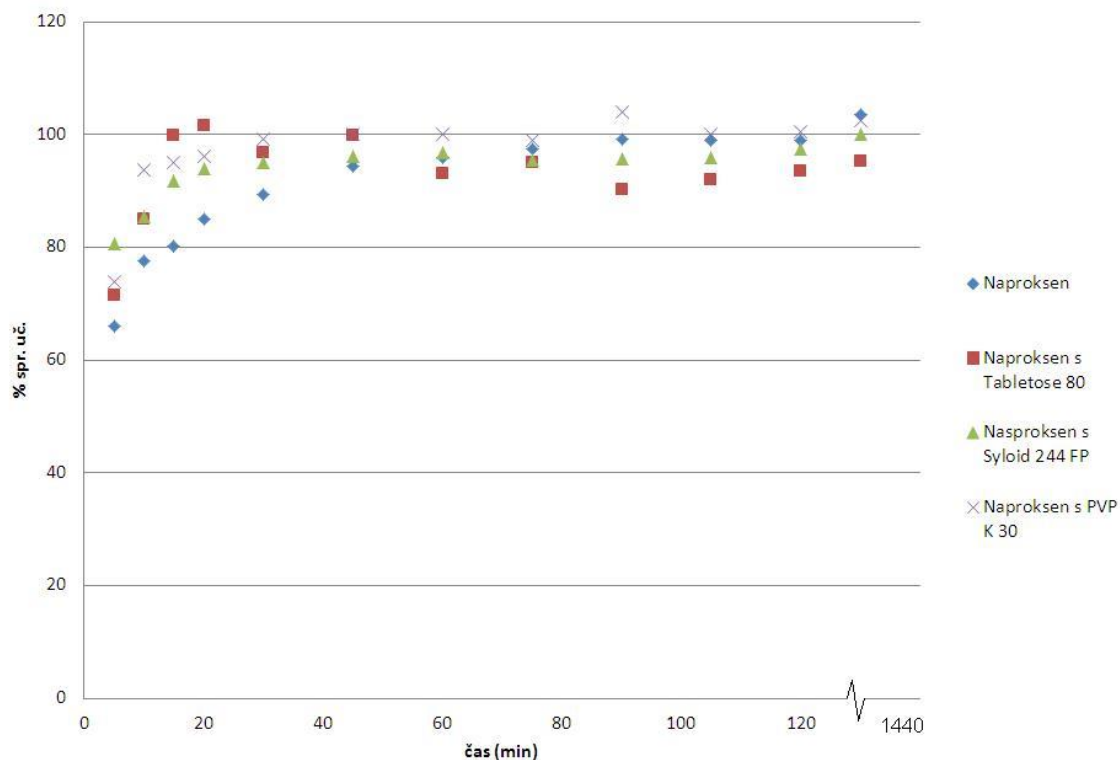
Slika 21: Elektronsko-mikroskopska slika fizikalne zmesi nepresejanega karvedilola in Syloid (povečava 700)

Slika 11 prikazuje delce naproksena, ki so dokaj zaobljeni večinoma agregirani majhni delci veliki do nekaj deset mikrometrov. Delci nepresejanega karvedilola (slika 12) imajo ostre robove in široko porazdelitev velikosti delcev. Velik delež je večjih od 100 mikrometrov. Na sliki 13 kjer so prikazani presejani delci karvedilola je delež velikih delcev bistveno manjši kot pri nepresejanem vzorcu. Velik delež delcev ima velikost 10 mikrometrov ali manj. Sklepamo, da se je velik delež majhnih delcev adheriral na sito z odprtino 63 μm . Delci laktoze (Tabletose 80) so aglomerirani kristali velikosti do nekaj sto mikrometrov, kroglaste oblike zaradi česar ima ta pomožna snov dobre pretočne lastnosti in jo uporabljamo za direktno tabletiranje. PVP (Slika 16) vsebuje paličaste in okrogle delce. Delci Neusilin-a (slika 15) so prav tako veliki do nekaj sto mikrometrov in so okrogle oblike. Delci Syloid-a so najmanjši od vseh v magistrski nalogi uporabljenih delcev in so veliki nekaj mikrometrov.

Slike fizikalnih zmesi nepresejanega karvedilola s pomožnimi snovmi v primeru laktoze (slike 18, 19, 20), PVP in Neusilina ne kažejo interakcij med komponentama. Delci so v zmesih enakomerno porazdeljeni. V primeru zmesi karvedilola in Syloid 244FP se delci pomožne snovi, ki so bistveno manjši porazdelijo po delcih zdravilne učinkovine. Zaradi njihove hidrofилnosti bi lahko imela takšna ureditev delcev bistveni vpliv na močenje učinkovine in njeno izboljšano raztapljanje.

4.2 RAZTAPLJANJE NAPROKSENA

4.2.1 Raztapljanje praškastih vzorcev naproksena v fosfatnem pufru s pH 6,8

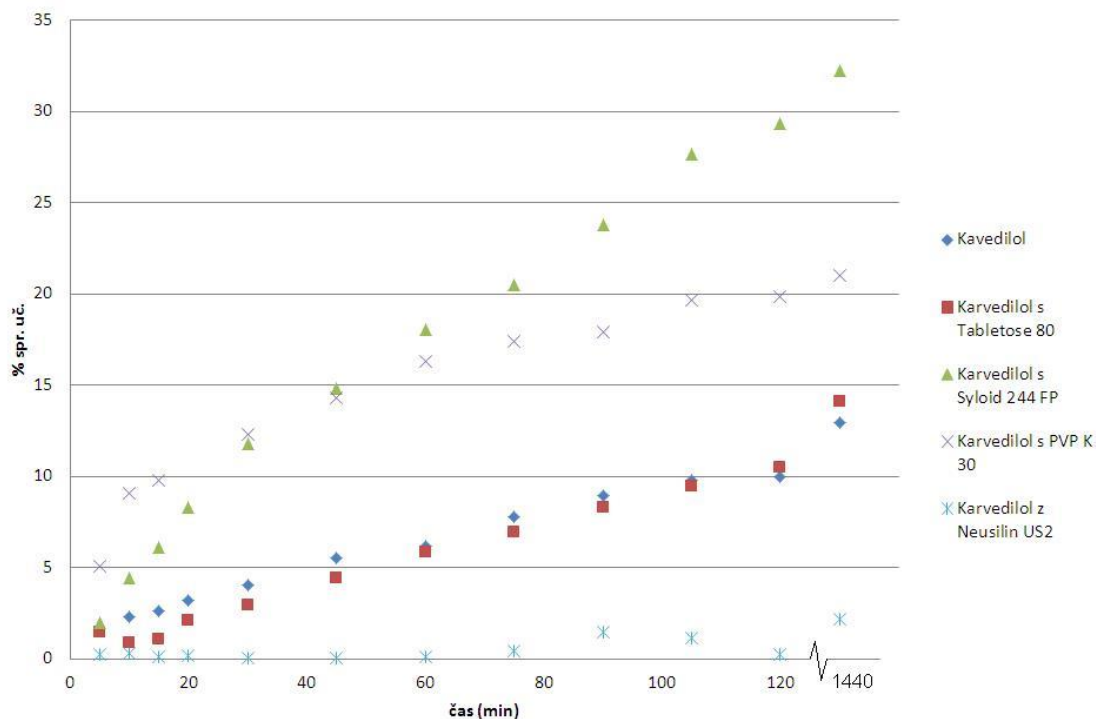


Slika 22: Raztapljanje čistega naproksena in naproksena iz fizikalni zmesi v razmerju 1:1 s pomožnimi snovmi (Tabletose 80, Syloid in PVP) v fosfatnem pufru s pH 6,8.

Na sliki 22 je predstavljeno raztapljanje čistega naproksena in iz njegovih fizikalnih zmesi s tremi pomožnimi snovmi, kjer se prav tako dobro raztaplja. Test raztapljanja je pokazal, da se popolnoma raztopi že v 45 minutah. Podoben rezultat so dale tudi fizikalne zmesi (vsa učinkovina se raztopi v času 30 minut). Ugotovili smo, da Tabletose 80, Syloid 244FP in PVP pozitivno vplivajo na raztapljanje naproksena iz fizikalnih zmesi, vendar je razlika glede na čisto učinkovino majhna. V nadaljevanju smo se odločili, da bomo podrobneje raziskali raztapljanje v vodi težko topne učinkovine karvedilol.

4.3 RAZTAPLJANJE KARVEDILOLA

4.3.1 Raztapljanje praškastih vzorcev karvedilola v fosfatnem pufru s pH 6,8

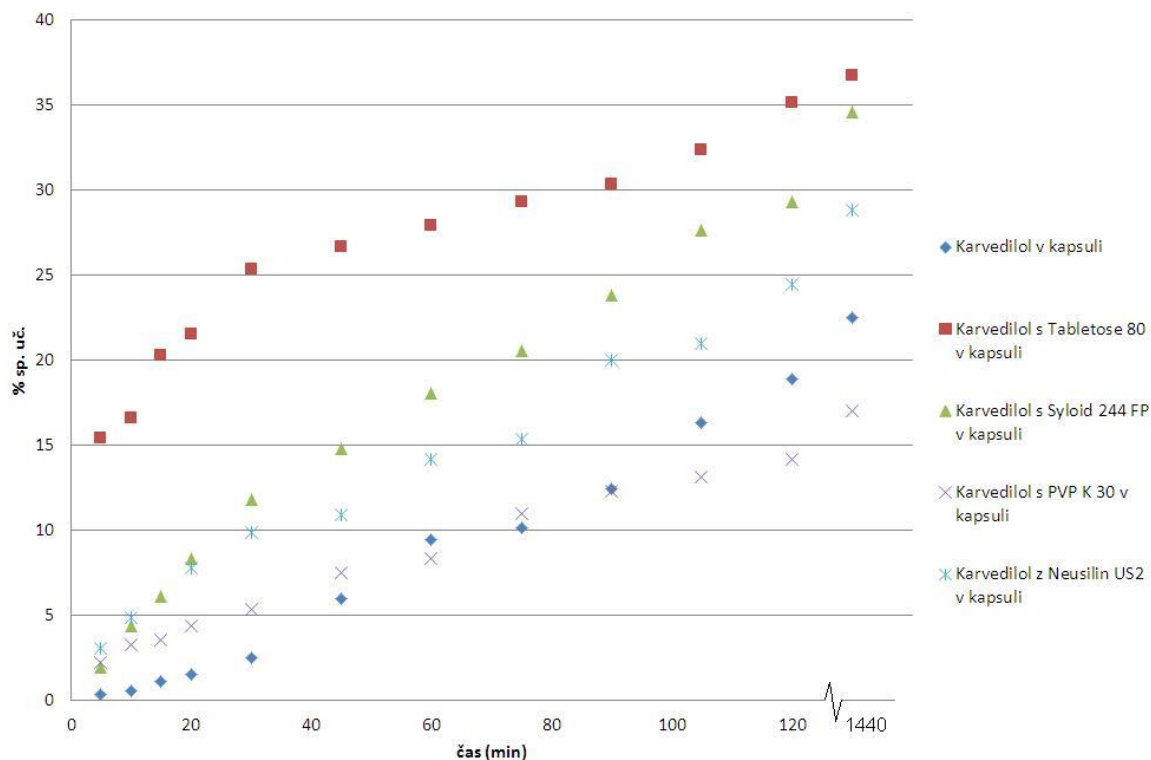


Slika 23: Raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi s Tabletose80, Syloid 244FP, PVP in Neusilin US2 v razmerju 1:1 v obliki praška. Medij za raztapljanje fosfatni pufer s pH 6,8.

Slika 23 prikazuje raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi s štirimi uporabljenimi pomožnimi snovmi v fosfatnem pufru s pH 6,8. Po 24 urah se raztopi do 33% odmerka, ki smo ga stresli v medij. Pri teh poskusih smo praške neposredno stresli v medij za raztapljanje ob uporabi metode z vesli. Tabletose 80 in PVP sta hidrofilni pomožni snovi, ki se v vodi hitro raztopita. Medtem, ko Tabletose 80 ni imela vpliva je PVP bistveno izboljšal raztapljanje karvedilola. Pri uporabi hidrofilnih pomožnih snovi, ki se v vodi ne raztopita, je Syloid 244FP izboljšal raztapljanje karvedilola, Neusilin US2 pa ga je bistveno upočasil. Razlogov za ugotovljene rezultate je lahko več. Bistveno je predvsem močenje, ki omogoča ustrezen stik površine delcev s topilom in pronicanje topila v njihove pore. Poleg tega je pomembna specifična površina delcev, ki je v povezavi močljivostjo in poroznostjo v boljšem ali slabšem stiku s topilom. Te parametre smo v

nadaljevanju tudi proučevali in poskušali najti razlago za vplive posameznih pomožnih snovi na raztapljanje karvedilola.

4.3.2 Raztapljanje vzorcev karvedilola iz kapsul v fosfatnem pufru s pH 6,8

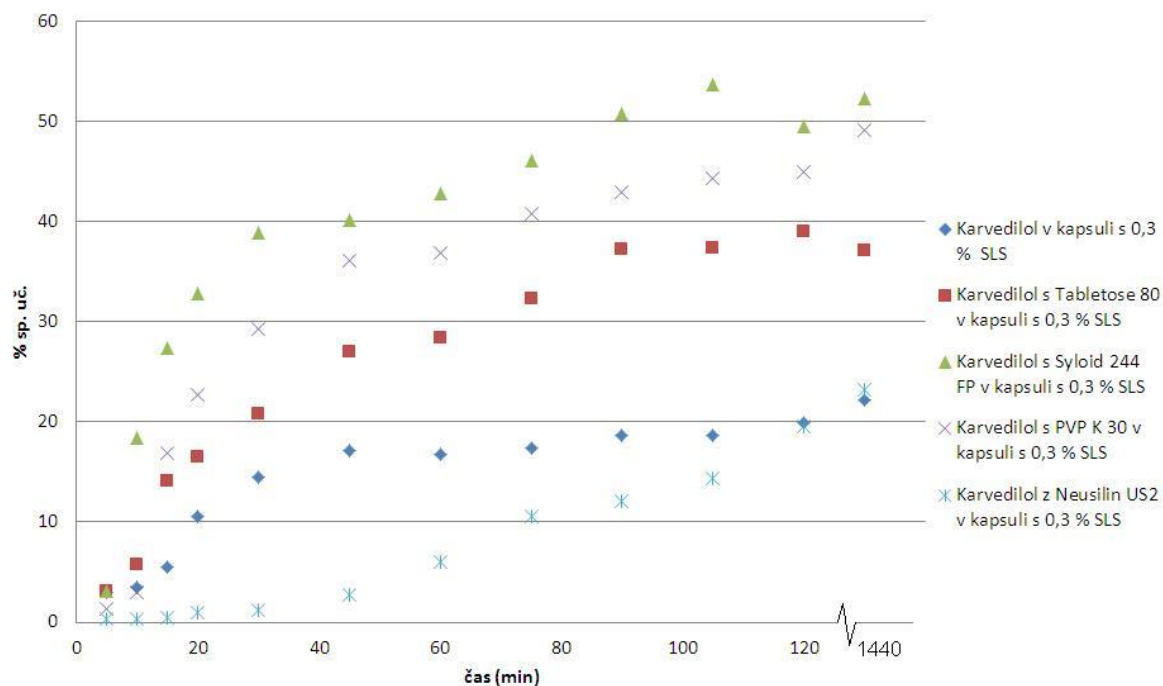


Slika 24: Raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi s Tabletose80, Syloid 244FP, PVP in Neusilin US2 v razmerju 1:1 napolnjenih v kapsule. Medij za raztapljanje fosfatni pufer s pH 6,8.

Slaba ponovljivost rezultatov in plavanje delcev na površini medija za raztapljanje sta nas vodila v spremembo priprave vzorcev za preskušanje raztapljanja učinkovine. V nadaljevanju smo praškaste vzorce vedno natehtali v želatinske kapsule. Prav tako smo metodo z vesli zamenjali z metodo s košaricami. S tem smo dosegli potopitev kapsul in boljše omočenje delcev. Rezultati raztapljanja čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi s štirimi pomožnimi snovmi so prikazani na sliki 24. Najboljši vpliv na raztapljanje učinkovine je imela laktoza, najslabšega pa PVP. Pozitiven vpliv na raztapljanje sta imela tudi Syloid 244FP in Neusilin US2. Rezultati so najverjetneje povezani s hitro raztopitvijo laktoze v fosfatnem pufru in z dobrim omočenjem

nevodotopnih poroznih pomožnih snovi. Po 24 urah se v fosfatnem pufru raztopi največ 35% odmerka.

4.3.3 Raztapljanje vzorcev karvedilola iz kapsul v citratnem pufru s pH 6,8 z dodatkom 0,3% natrijevega lavrilsulfata

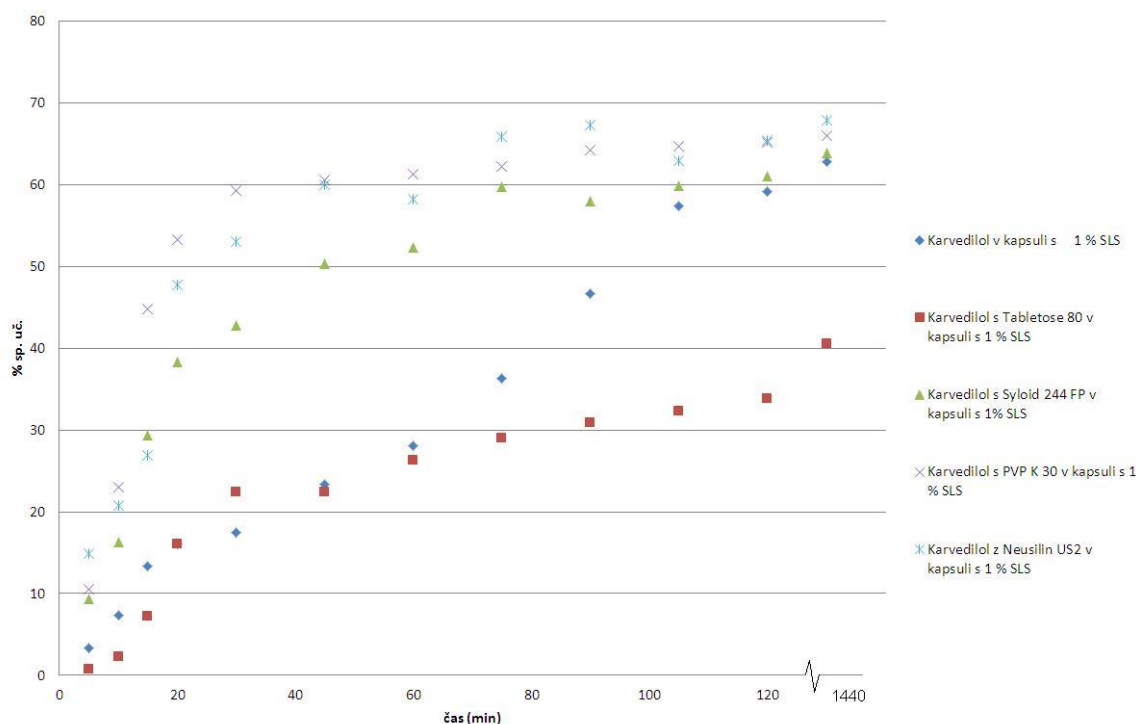


Slika 25: Raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi s Tabletose 80, Syloid F244, PVP in Neusilin US2 v razmerju 1:1. Medij za raztapljanje citratni pufer pH 6,8 z 0,3% natrijevega lavrilsulfata.

Teste raztapljanja smo v nadaljevanju izvajali v pufernih raztopinah z dodano površinsko aktivno snovjo. Najprej smo uporabili natrijev lavrilsulfat pod kritično micelsko koncentracijo (0,3 % raztopina). Fosfatni pufer smo morali v tem primeru zaradi nekompatibilnosti z natrijevim lavrilsulfatom zamenjati s citratnim pufram. Površinsko aktivna snov zniža površinsko napetost vodne raztopine pufra in izboljša močenje delcev. Rezultati kažejo, da je raztapljanje čistega karvedilola boljše v primerjavi, ko mediju dodamo površinsko aktivno snovjo (sliki 24 in 25), čeprav je končna koncentracija v obeh primerih zelo podobna (22 % odmerka). Tudi v tem primeru je imel Neusilin negativen vpliv na raztapljanje, ostale pomožne snovi pa pozitivnega. Najboljši vpliv na raztapljanje

sta imela Syloid F244 in PVP, laktoza pa identičnega kot pri pufru brez dodane površinsko aktivne snovi. Pri uporabljenih pogojih se je raztopilo več kot 50% odmerka, kar je bistveno več kot v mediju brez dodane površinsko aktivne snovi.

4.3.4 Raztapljanje vzorcev karvedilola iz kapsul v citratnem pufru s pH 6,8 in z dodatkom 1,0 % natrijevega lavrilsulfata

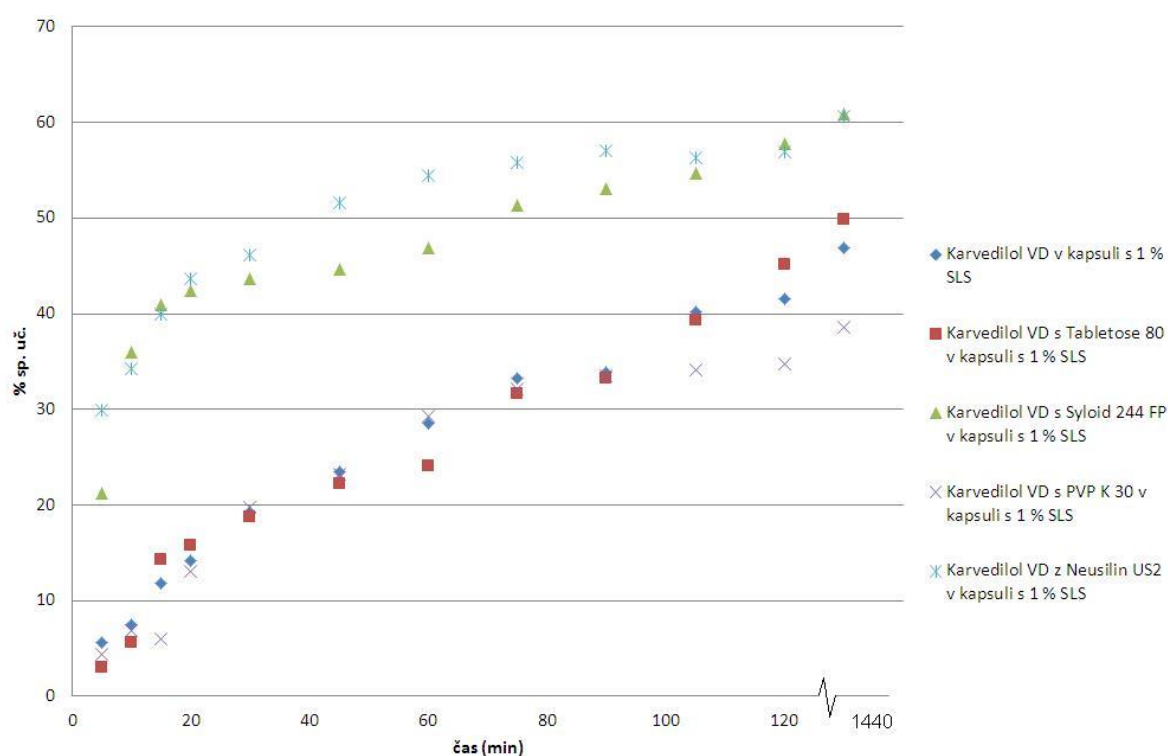


Slika 26: Raztapljanje čistega karvedilola in karvedilola iz fizikalnih zmesi s Tabletose, Syloid 244FP, PVP in Neusilin US2 v razmerju 1:1. Medij za raztapljanje citratni pufer pH 6,8 z 1,0% natrijevega lavrilsulfata.

Raztapljanje karvedilola smo proučevali tudi pri višji koncentraciji natrijevega lavril sulfata (slika 26). To je koncentracija nad kritično micelsko koncentracijo, ki omogoča vgradnjo učinkovine v micle. Prav tako nizka površinska napetost medija za raztapljanje omogoča maksimalno omočenost delcev. Na osnovi rezultatov raztapljanja laktoze, ki so podobni kot v mediju brez in z nizko koncentracijo površinsko aktivne snovi predpostavljamo, da je vgradnja učinkovine v micle majhna. Tokrat je imel poleg ostalih pomožnih snovi pozitiven učinek na raztapljanje karvedilola tudi Neusilin US2. Sam

karvedilol in fizikalne zmesi so dale razen v primeru Tabletose 80 podoben končni delež raztopljenega odmerka (blizu 70%). Dodatek pomožne snovi je v primeru PVP, Syloid 244FP in Neusilin US2 bistveno pospešil raztapljanje učinkovine v prvih 90 minutah. Rezultati potrjujejo smiselnost uporabe ustrezne pomožne snovi (natrijevega lavrilsulfata) v formulaciji za izboljšanje raztapljanja težko topne učinkovine.

4.3.5 Raztapljanje vzorcev s presejanim karvedilolom iz kapsuli v citratnem pufru s pH 6,8 in z dodatkom 1,0 % natrijevega lavrilsulfata

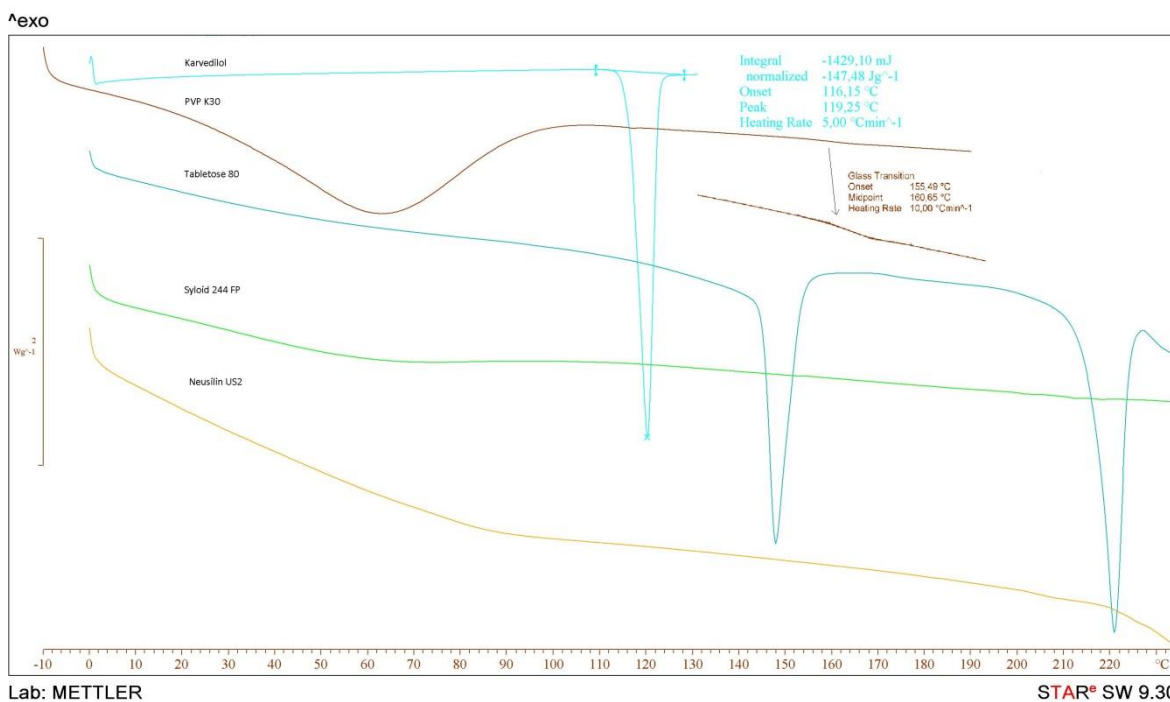


Slika 27: Raztapljanje čistega presejanega karvedilola in karvediola s Tabletose 80, Syloid 244FP, PVP in Neusilin US2 v razmerju 1:1. Medij za raztapljanje citratni pufer pH 6,8 z 1,0% Natrijevega lavrilsulfata.

S sejanjem delcev skozi sita 63 in 100 μm smo želeli poenotiti velikost in odstraniti večje delce in tako dobiti vzorec z večjo specifično površino. Rezultati raztapljanja karvedilola se s tem korakom niso izboljšali (slika 27). Končne koncentracije so nižje kot pri uporabi nepresejanih delcev. Verjetno smo pri sejanju odstranili tudi velik delež majhnih delcev z veliko specifično površino, ki ob dobrem močenju medija bistveno prispeva k raztapljanju.

4.4 TERMIČNA ANALIZA VZORCEV

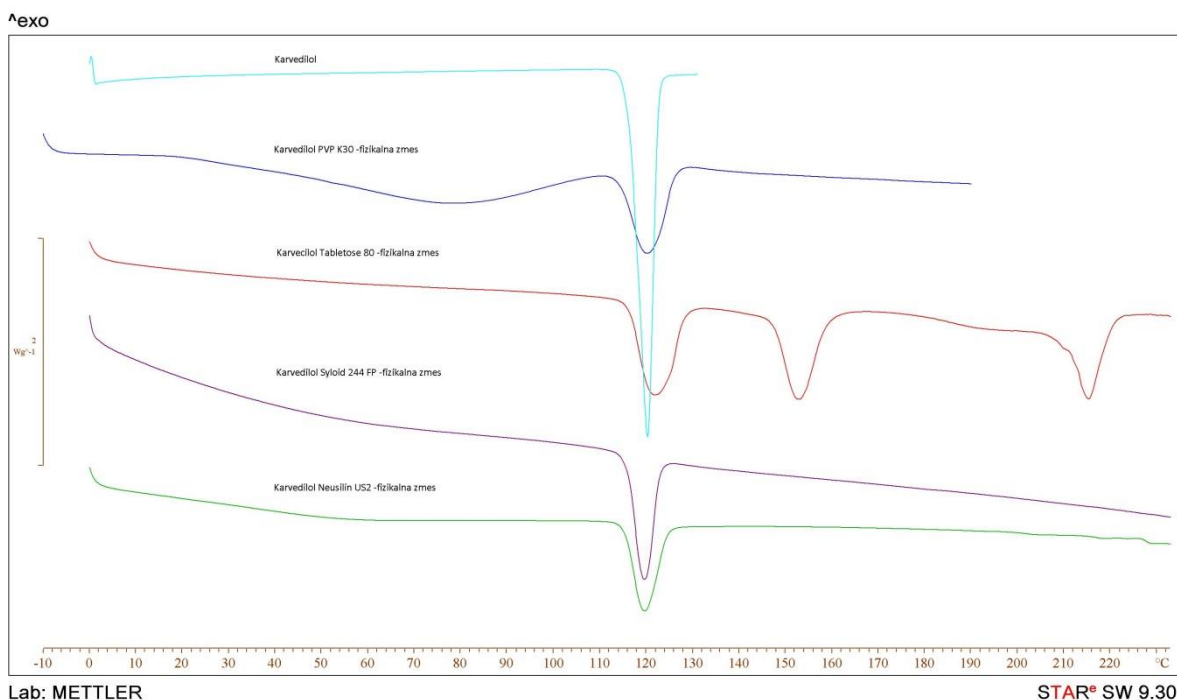
TERMIČNA ANALIZA ČISTE KOMPONENTE KARVEDILOLA IN POMOŽNE SNOVI TER IZ NJIH PRIPRAVLJENIH FIZIKALNIH ZMESI



Slika 28: DSC krivulje karvedilola, PVP K30, Tabletose 80, Syloida 244 in Neusillina čiste komponente.

S termično analizo smo želeli ugotoviti ali karvedilol z uporabljenimi pomožnimi snovmi tvori interakcije, ki bi jim lahko pripisali vpliv na raztapljanje te učinkovine iz fizikalnih zmesi (npr. nastanek eutektične zmesi). Rezultati čistih komponent so prikazani na sliki 28. Tališče karvedilola je 116 °C. Pri polivinilpirolidu najprej zaznamo širok endotermen vrh, ki predstavlja odparevanje vode iz vlažnega vzorca. Pri temperaturi 160 °C zaznamo temperaturo steklastega prehoda. Pri laktozi zaznamo odparevanje kristalno vezane vode pri približno 140 °C in njeno taljenje pri 220 °C.

Pri Syloid 244FP in Neusilin US2 v območju izvajanja termične analize ne zaznamo sprememb. Ti anorganski spojini imata tališče nad 1000 °C.



Slika 29: DSC krivulje fizikalnih zmesi karvedilola s proučevanimi pomožnimi snovmi v razmerju 1:1.

Rezultati termične analize fizikalnih zmesi karvedilola s proučevanimi snovmi so podani na sliki 29. Tališče karvedilola je v vseh zmesih glede na čisto učinkovino nespremenjeno, kar kaže na odsotnost kakršnihkoli interakcij.

4.5 DOLOČANJE VELIKOSTI DELCEV Z LASERSKO DIFRAKCIJO

Eden od pomembnih parametrov, ki vplivajo na raztapljanje v vodi težko topnih učinkovin je velikost delcev in z njo povezana specifična površina. Velikost delcev smo določali z lasersko difrakcijo z izdelavo suspenzij delcev v ustreznem netopilu. Rezultati so podani v preglednici 4. Analizirali smo izhodne in presejane delce karvedilola. Presejani delci so približno dvakrat manjši. Med pomožnimi snovmi ima največje delce laktoza, najmanjše delce pa Syloid. Slednji ima tudi najvišjo specifično površino. Rezultat za nizko specifično površino Neusilin US2 je nerealen. Gre za površino velikih okroglih delcev brez por. Vzorec presejanega karvedilola ima po teh meritvah najmanjše delce in največjo specifično površino iz česar bi pričakovali, da se bo hitreje raztapljal od nepresejanega vzorca. Vzrok

za nepričakovane rezultate je lahko aglomeracija majhnih delcev v mediju za raztapljanje in s tem zmanjšanje aktivne površine, ki je v stiku s topilom.

Preglednica 4: Rezultati določanja velikosti delcev z lasersko difrakcijo za presejani in nepresejani karvedilol ter pomožnih snovi Tabletose 80, PVP, Neusilin in Syloid 244FP. Pomen oznak v preglednici: $D[x, y]$ in $D(x, y)$ pomeni velikost delca (povprečni premer delca), SSA pomeni specifično površino delca.

Vzorec in disperzni medij	$D[4,3]$	$D(0,1)$	$D(0,5)$	$D(0,9)$	SSA
Nepresejani karvedilol (heksan)	97,4	11,8	55,2	253,0	1,37
Presejani karvedilol (heksan)	48,2	3,8	31,7	116,0	1,90
Tabletose 80 (2-propanol)	24,6	120,0	228,0	402,2	2,00
PVP K30 (heksan)	11,4	32,0	89,9	153,3	0,07
Neusilin US2 (voda)	15,7	66,0	115,0	265	0,26
Syloid 244FP (voda)	1,2	1,5	3,2	21,3	1,63

4.6 MOČENJE (MERJENJE STIČNEGA KOTA IN POVRŠINSKE NAPETOSTI TEKOČIN)

Poleg specifične površine na raztapljanje vpliva močenje delcev. Ob slabem močenju povečana specifična površina ne more bistveno prispevati k izboljšanju raztapljanja. V diplomski nalogi smo proučevali močenje praškov z medijema, ki smo ju uporabljali v testih raztapljanja (fosfatni pufer s pH 6,8 ter citratni pufer s pH 6,8 in dodano površinsko aktivno snovjo. Rezultati so podani v Preglednici 5. Močenje karvedilola s fosfatnim pufrom je relativno slabo. Kljub temu, da je stični kot manjši od 90° , smo kasneje tudi vizualno opazili plavanje delcev v tem mediju. Močenje karvedilola se z raztopino, ki ji je dodana površinsko aktivna snov, pričakovano izboljša. Podobno velja za fizikalne zmesi učinkovine s pomožnimi snovmi. Najboljše rezultate daje Syloid 244FP na osnovi česar bi pričakovali najboljše raztapljanje karvedilola v kombinaciji s to pomožno snovjo. Rezultati raztapljanja to domnevo tudi potrjujejo. Elektronsko mikroskopske slike fizikalne zmesi karvedilola s Syloid F244 potrjujejo to razlago, saj kažejo, da se delci pomožne snovi porazdelijo po zdravilni učinkovini kar ob njihovem dobrem močenju pripomore k

boljšemu raztapljanju. Kljub temu, da Neusilin US2 ne tvori urejene zmesi s karvedilolom, je njegov vpliv na raztapljanje karvedilola podoben kot pri Syloid 244FP. Površina delcev te pomožne snovi je sicer relativno majhna, vendar njihova velika poroznost in dobro močenje por bistveno prispevata k omočenju delcev učinkovine, kar prispeva k izboljššanemu raztapljanju. Dodatek površinsko aktivne snovi v medij za raztapljanje bistveno izboljša močenje tudi v primeru Tabletose 80 in PVP vendar se raztapljanje karvedilola v tem primeru večinoma ne izboljša v tolikšni meri kot pri uporabi poroznih pomožnih snovi.

Preglednica 5: Močenje praškov z raztopino fosfatnega pufru s pH 6,8 brez ter z raztopino citratnega pufru s pH 6,8 z dodanim natrijevim lavrilsulfatom.

Vzorec	Fosfatni pufer pH 6,8 $\gamma=71,5$ mN/m	Citratno-fosfatni pufer pH 6,8 z dodanim natrijevim lavril sulfatom (1,0 %) $\gamma=31,9$ mN/m
Vzorec	Stični kot	Stični kot
Naproxen	47,3 ± 5,2	-
Karvedilol	62,2 ± 6,6	48,7 ± 4,62
Tabletose 80	10,2 ± 3,3	25,0 ± 3,75
PVP K30	48,0 ± 3,0	45,2 ± 4,64
Neusilin US2	35,6 ± 5,2	27,5 ± 5,34
Syloid 244FP	0	17,2 ± 1,49
Karvedilol+ Tabletose 80	67,7 ± 5,3	38,6 ± 1,91
Karvedilol+ PVP K30	56,6 ± 4,5	43,0 ± 1,65
Karvedilol+ Neusilin US2	59,5 ± 2,2	31,8 ± 1,26
Karvedilol+ Syloid 244FP	46,9 ± 3,3	24,4 ± 2,14

5 SKLEP

Proučevali smo vpliv štirih hidrofilnih pomožnih snovi (laktoza, polivinilpirolidon, SiO₂ in aluminijev magnezijev metasilikat) na raztapljanje dveh zdravilnih učinkovin (naproksen in karvedilol) iz fizikalnih zmesi. Preizkuse raztapljanja smo izvajali v pufrnih raztopinah s pH 6,8 brez ali z dodatkom površinsko aktivne snovi. Ugotovili smo, da se proučevani zdravilni učinkovini iz fizikalnih zmesi raztapljata bolje kot v čisti obliki. Prav tako smo ugotovili, da so rezultati testov raztapljanja bolj ponovljivi kadar jih izvajamo s polnjenjem fizikalnih zmesi v kapsule in manj ponovljivi z njihovim neposrednim stresanjem v medij za raztapljanje.

Medtem, ko rezultati termične analize niso pokazali interakcij med komponentami v fizikalnih zmesih in niso dali razlage za izboljšanje raztapljanja učinkovin, smo to poiskali z meritvami močenja in površinske napetosti topil.

Ugotovili smo, da je za izboljšano raztapljanje pomembno predvsem dobro omočenje delcev zdravilne učinkovine, ki ga dosežemo z dodatkom hidrofilne pomožne snovi. Rezultati raziskave nakazujejo, da je rezultat raztapljanja boljši takrat kadar je pomožna snov, ki jo uporabimo v fizikalni zmesi z učinkovino v obliki manjših delcev, ki lahko prekrijejo delce učinkovine. Poleg tega na rezultate raztapljanja bistveno vpliva sestava medija za raztapljanje, saj dodatek površinsko aktivne snovi zniža njegovo površinsko napetost in izboljša močenje. Na osnovi tega lahko trdimo, da je za proučevanje razlik v raztapljanju učinkovin iz trdnih disperzij in fizikalnih zmesi z enako sestavo, potrebno uporabljati biorelevantne medije, kateri oponašajo okolje v prebavnem traktu.

Pričakovali smo, da se bo učinkovina z večjo specifično površino delcev iz fizikalnih zmesi ob izboljššanemu močenju bolje raztapljala v primerjavi z učinkovino z manjšo specifično površino, vendar rezultati niso dali enoznačnega odgovora.

Zaradi enostavnosti izdelave fizikalnih zmesi v primerjavi z ostalimi pristopi izboljševanja v vodi težko topnih zdravilnih učinkovin je smiselno izvajati nove raziskave, ki bodo pokazale katere pomožne snovi in katere njihove lastnosti so najpomembnejše za doseganje čim boljših rezultatov.

6 LITERATURA

1. Baka E, Comer JEA, Takacs-Novak K. Study of equilibrium solubility measurement by saturation shake flask method using hydrochlorothiazide as model compound. *Journal of Pharmaceutical and Biochemical Analysis* 2008; 46: 335–341.
2. Jochem A., Manfred K.. High throughput solubility measurement in drug discovery and development *Advanced Drug Delivery Reviews* 2007; 59: 546-567.
3. *European Pharmacopoeia 8.0*, 8th ed., Council of Europe, Strasbourg 2013; 5.
4. Navodila za vaje pri predmetu Industrijska farmacija, Biofarmacija s farmakokinetiko. [http://www.ffa.unilj.si/fileadmin/homedirs/11/Predmeti/Biofarmacija_s_farmakokinetiko IF_/Vaje/ Topnost_hitrost_raztapljanja.pdf](http://www.ffa.unilj.si/fileadmin/homedirs/11/Predmeti/Biofarmacija_s_farmakokinetiko_IF_/Vaje/Topnost_hitrost_raztapljanja.pdf). Dostop: 1.8.2016.
5. Lipinski CA, F. Lombardo, BW Dominy, PJ Feeney. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings 1997; 23: 1-25.
6. Baumgartner S. Vpliv gibanja prebavnega trakta na potovanje farmacevtskih oblik in absorpcija učinkovine. *Farmacevtski vestnik* 2003; 54: 573-581.
7. Avdeef A. Solubility of sparingly-soluble ionizable drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2007; 59: 568–590.
8. Blagden N, De Matas M, Gavan PT et al. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. *Adv. Drug Deliver Rev* 2007; 59: 617-630.
9. Kincl M. Hitrost sproščanja diklofenak natrijeve soli iz tablet z lipofilnim ogrodnim sistemom. Doktorsko delo. Ljubljana 2003; 38-42.
10. Monografija (1087) Intrinsic dissolution iz USP.
11. Planinšek O, Kovačič B, Vrečer F: Carvedilol dissolution improvement by preparation of solid dispersions with porous silica. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011; 406: 41-48.
12. Planinšek O, Kovačič B, Vrečer F. Karvedilol izboljšanje raztapljanja s pripravo trdnih disperzij z poroznega silicijevega dioksida. *Int J Pharm*. 15.3.2011; 406 (1-2): 41-48.
13. Kovačič B, Vrečer F, Planinšek O. Trdne disperzije karvedilol z porozen kremen. *Chem Pharm Bull (Tokio)* 2011; 59 (4): 427-433.

14. Leuner C, Dressman D. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersion. *Eur J Pharm Biopharm* 2000; 50: 47–60.
15. Dannenfelser RM, He H, Joshi Y et al. Development of Clinical Dosage Forms for a Poorly Water Soluble Drug I: Application of Polyethylene Glicol-Polysorbate 80 Solid Dispersion Carrier System. *J Pharm Sci* 2004; 93: 1165–1175.
16. Seth NS. Formulation and Evaluation of Solid Dispersion of Olanzapine. *Int J Pharm Sci Reas* 2011; 2(3): 691–697.
17. Serajuddin ATM. Solid dispersions of Poorly Water-Soluble Drugs: Early Promises, Subsequent Problems, and Recent Breakthroughs. *J Pharm Sci* 1999; 88: 1058–1066.
18. Zajc N, Obreza A, Bele M, Srčič S. Physical Properties and Dissolution Behaviour of nifedipine/mannitol solid dispersion prepared by holt melt method. *Int J Pharm* 2005; 291: 51–58.
19. Zapiski iz predmeta farmacevtska tehnologija I. študijsko leto 2013/2014.
20. Vaje iz farmacevtske tehnologije 1 (navodil) študijsko leto 2013/2014.
21. Leonardi D, Salomon CJ. Unexpected Performance of Physical Mixtures over Solid Dispersions on the Dissolution Behavior of Benznidazole from Tablets. *Journal of pharmaceutical sciences*; marec 2013; vol. 102, no. 3: 1016-1023.
22. Crompton C. Particle Shape An Important Parameter in Phammaceutical Manufacturing, *Pharmaceutical Manufacturing and Packing Sourcer Spring 05 issue*. Samedan Ltd; 2005.
23. Harry G. Brittain: Particle-Size Distribution, Part I, Representations of Particle Shape, Size, and Distribution. *Pharmaceutical Technology*; december 2001: 38-45.
24. Planinšek O, Zajc N, Srčič S. Uporaba difernčne dinamične kalorimetrije v farmaciji. *Farmaceutski Vestnik* 2001; 52: 173-185.
25. Horiba Scientific. A guidebook to particle size analysis. https://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Documents/PSA/PSA_Guidebook.pdf. Dostop: 3.8.2016.
26. Brittain HG. Particle-Size Distribution, Part I, Representations of Particle Shape, Size, and Distribution. *Pharmaceutical Technology*; december 2001: 38-45.
27. Shegokar R, Müller RH: Nanocrystals. Industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives. *International Journal of Pharmaceutics* 2010; 399: 127-139.

28. Chen H, Khemtong C, Yang X, Chang X, Gao J. Nanonization strategies for poorly water-soluble drugs. *Drug Discovery Today* 2011; 16: 354-360.
29. Planinšek O, Srčič S. Površine in medfaze, površinske in medfazne napetosti. http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/FT/Fizikalna_farmacija/Povr%C5%A1inska_energija_2009.pdf
Dostop: 5.9.2016.
30. Planinšek O, Srčič S. Vaje iz fizikalne kemije, navodila za vaje pri predmetu fizikalna kemija. Fakulteta za farmacijo 2006.
31. European Pharmacopoeia 8th Edition, Naproxen.
32. Beetge E, Plessis J, Mu DG, Goosen C, Rensburg FJV. The influence of the physicochemical characteristics and pharmacokinetic properties of selected NSAID's on their transdermal absorption. *Int. J. Pharm.* 2000; 193: 261-264.
33. Informacije NC za B, Medicina USNL o, Pike 8600 Rockville, Bethesda, MD20894, ZDA. Naproxen C₁₄H₁₄O₃ - PubChem.
34. Brittain GH. Analytical profile of drug substances and Excepiens. Academic Press Limited 1992; 21: 345-373.
35. Sharma J, Singla AK, Dhawan S. Zinc-naproxen complex: synthesis, physicochemical and biological evaluation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2011; 43: 260-269.
36. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Naprosyin: [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/9CA0B289737A2549C12579C2003F51C9/\\$File/a-017129.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/9CA0B289737A2549C12579C2003F51C9/$File/a-017129.pdf). Dostop: september 2016.
37. Williams DA, Foye WO, Lemke TL. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. Lippincott Williams & Wilkins; 2002.
38. DrugBank. Carvedilol. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01136>. Dostop: 10.9.2016.
39. Carvedilol. European Pharmacopoeia, 7th Ed.
40. Carvedilol. European Pharmacopoeia 8th Ed: oznaka: ON80-2BD- DF6-9CE. Strani 1781-1782.
41. Brook CS, Chen W, Dell'Orco PC, Katrincic LM, Louvet AM, Oh CK, Spoons PG, Werner C. Carvedilol phosphate salts, which include novel crystalline forms of carvedilol dihydrogen phosphate (i.e., dihydrogen phosphate salt of 1-(carbazol-4-yloxy-3-[[2-(o-methoxyphenoxy) ethyl]amino]-2-propanol) and/or carvedilol hydrogen phosphate, etc.), and/or solvates, compositions containing compounds. United States Patent, Patent number 7893100 B2, date of patent Jun 25, 2007.

42. Carvedilol. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/carvedilol#section=Top>.
Dostop: avgust 2016.
43. Carvedilol phosphate salts and/or solvates thereof, corresponding compositions and/or methods of treatment. <https://www.google.com/patents/US7268156>.
Dostop: 10.9.2016.
44. Brook SC, Chen W, Dell'Oreo PC, Katrincic LM, Louvet AM, Oh CK, Spoons PG, Werner C. Carvedilol phosphate salts and/or solvates thereof, corresponding compositions, and/or methods of treatment. Unites States Patent, 7,893,100 B2, Feb. 22, 2007.
45. Hildesheim J, Finogueev S, Dolitzky B, Ben-Valid S. Carvedilol. Unites States Patent, 6,699,997 B2, Mar. 2, 2004.
46. Chen W, Gallop M, Oh CK. Carvedilol polymorph. WIPO Patent Application, Patent number WO2003005970 A2, date of patent Jul 15, 2002.
47. Pokharkar VB, Mandpe LP, Padamwar MN, Ambike AA, Mahadik KR, Paradkar A. Development, characterization and stabilization of amorphous form of a low Tg drug. Powder Technol 2006; 167: 20-25.
48. Zhao Q, Wang T, Wang J, Zheng L, Jiang T, Cheng G, Wang S. Template-directed hydrothermal synthesis of hydroxyapatite as a drug delivery system for the poorly water-soluble drug carvedilol. Appl Surf Sci 2011; 257: 10126-10133.
49. Coryol SmPC. [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search/\\$searchForm?SearchView](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search/$searchForm?SearchView).
Dostop: 3.8.2016.
50. McTavish D, Campoli-Richards D, Eugene M. Carvedilol A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Efficacy. Drugs 45 1993; 2: 232-258.
51. Biccard BM, Sear JW, Foëx P. Are lipophilic beta-blockers preferable for peri-operative cardioprotection?. South Afr J Anaesth Analg 2006; 141-146.
52. CBZ.
[http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/AE5CE4CC4BAE7926C12579C2003F4BE5/\\$File/s-014441.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/AE5CE4CC4BAE7926C12579C2003F4BE5/$File/s-014441.pdf). Dostop: 5.9.2016.
53. Bevc B. Slovenska farmacevtska terminologija na področju pomožnih snovi. Diplomska naloga. Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani 2010.
54. Aldeborn G, Nyström C. Pharmaceutical powder compaction technology. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1996. str. iii-v; 419-500.

55. Jivraj M, Martini LG, Thompson CM. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. *Pharmaceutical Science Technology Today*, 2000; 3, 2, str. 58-63.
56. Gohel MC, Jogani PD. A review of co-processed directly compressible excipients. *Journal of Pharmaceutical Science* 2005; 8, 1, str. 76-93.
57. Ilić I, Kasa P Jr, Dreu R, Pintye-Hódi K, Srcic S. The compressibility and compactibility of different types of lactose. *Drug development and Industrial Pharmacy* 2009; 35, 10, str. 1271-1280.
58. Jesinowski T, Pokora M., Sobaszkiewicz K., Pernak J. Preparation and characterization of functionalized precipitated silica Syloid 244 using ionic liquids as modifiers. *Surf. Interface Anal.*; 2004: 1491-1496.
59. Syloid FP Silicia Tech Note. <http://www.bioprocessonline.com/doc/syloid-fp-silica-excipients-0001>. Dostop: 5.8.2016.
60. Neusilin. <http://www.neusilin.com>. Dostop: 3.9.2016.
61. Bahl D, Bogner RH. Amorphization of Indomethacin by Co-grinding with Neusilin US2: Amorphization Kinetics, Physical Stability and Mechanism. *Pharm Res* 2006; 23: 2317-2325.
62. Bevc B. Slovenska farmacevtska terminologija na področju pomožnih snovi. *Diplomska naloga, Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani*, 2010.
63. Pomožne snovi. http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteka/Knjiznica/e-knjige/Pomozne_snovi.pdf. Dostop: 5.9.2016.