

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TEA SOKLIČ (PAVLIHA)

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TEA SOKLIČ (PAVLIHA)

**DOLOČANJE KISLOSTI IN BAZIČNOSTI NEKATERIH POMOŽNIH SNOVI Z
INVERZNO PLINSKO KROMATOGRAFIJO IN MOČENJEM**

DETERMINATION OF ACIDITY AND ALKALINITY OF SOME EXCIPIENTS BY
INVERSE GAS CHROMATOGRAPHY (IGC) AND WETTING

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo, na katedri za farmacevtsko tehnologijo, pod mentorstvom prof. dr. Stanka Srčiča, mag. farm.

Zahvala

Za strokovno pomoč in usmerjanje pri izdelavi diplomske naloge se iskreno zahvaljujem svojemu mentorju prof. dr. Stanku Srčiču, mag. farm.

Prav tako se zahvaljujem prof. dr. Odonu Planinšku, mag. farm. za vse nasvete in pomoč pri izvedbi laboratorijskega dela.

Posebna zahvala pa gre mojim staršem, bratoma, možu Roku, sinu Niku ter ostali družini in prijateljem, ki so mi tekom študija brezpogojno stali ob strani ter me podpirali in spodbujali.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja prof. dr. Stanka Srčiča, mag. farm.

Ljubljana, 2016

Tea Soklič

Predsednica diplomske komisije: prof. dr. Marija Bogataj, mag. farm.

Članica diplomske komisije: asist. dr. Irena Prodan Žitnik, mag. farm.

KAZALO VSEBINE

KAZALO VSEBINE.....	I
KAZALO SLIK.....	II
KAZALO PREGLEDNIC.....	III
POVZETEK	V
KLJUČNE BESEDE	VII
SEZNAM OKRAJŠAV.....	VIII
1. UVOD.....	1
1. 1. Površinska napetost tekočin in površinska energija trdnih snovi.....	1
1. 2. Adsorpcija plinov	2
1. 3. Inverzna plinska kromatografija (IGC)	3
1. 3. 1. Merjenje površinske energije trdnih snovi z metodo IGC.....	5
1. 3. 2. Prednosti in omejitve določanja lastnosti površin z metodo IGC	9
1. 4. Stični kot in močenje kot alternativna metoda za določanje površinske energije trdnih snovi.....	11
1. 4. 1. Izračun površinske energije trdnih snovi z metodo močenja	13
1. 4. 2. Prednosti in omejitve določanja lastnosti površin z metodo sedeče kapljice..	14
2. NAMEN DELA.....	16
3. MATERIALI IN METODE	17
3. 1. Materiali	17
3. 2. Aparature	22
3. 3. Metode.....	23
3. 3. 1. Določanje kislosti in bazičnosti trdnih površin PS z IGC	23
3. 3. 2. Določanje kislosti in bazičnosti trdnih površin PS z močenjem	24
4. REZULTATI	25
4. 1. Rezultati določanja kislosti in bazičnosti trdnih površin PS z IGC.....	25

4. 2. Rezultati določanja kislosti in bazičnosti trdnih površin PS z močenjem (metoda sedeče kapljice).....	28
5. RAZPRAVA.....	31
5. 1. Vrednotenje rezultatov določanja kislosti in bazičnosti trdnih površin PS z IGC ..	31
5. 2. Vrednotenje rezultatov določanja kislosti in bazičnosti trdnih površin PS z močenjem (metoda sedeče kapljice).....	34
5. 3. Primerjava rezultatov obeh metod.....	37
6. SKLEP.....	39
7. LITERATURA.....	41

KAZALO SLIK

Slika 1: Shematski prikaz IGC aparata.....	3
Slika 2: Shematski prikaz klasične GC in IGC.	3
Slika 3: Graf $RT \ln VN$ v odvisnosti od $a\sqrt{\gamma_L^D}$ za n-alkane.....	7
Slika 4: Graf za določanje specifične komponente proste površinske energije (ΔG_{SP}^0)..	8
Slika 5: Primer grafične določitve kislega (k_a) in bazičnega (k_b) parametra proste površinske energije.....	9
Slika 6: Stični kot; prikaz ravnotežja medfaznih sil.....	11
Slika 7: Stopnje močenja.....	11
Slika 8: Kemijska struktura HPMC.....	18
Slika 9: Kemijska struktura laktoze monohidrata.....	19
Slika 10: Kemijska struktura magnezijevega stearata.....	19
Slika 11: Kemijska struktura natrijevega lavrilsulfata.....	20
Slika 12: Kemijska struktura sorbitola.....	20
Slika 13: Kemijska struktura stearinske kisline.....	21
Slika 14: Inverzni plinski kromatograf Agilent Technologies 6890N.....	23
Slika 15: Stiskalnica Specac za stiskanje praškov v ploščice.....	24
Slika 16: Merilnik stičnega kota DSA 100 Krüss.....	24

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Lastnosti nekaterih standardov, ki jih uporabljamo pri IGC.	8
Preglednica 2: Retencijski časi standardov z znanimi lastnostmi za različne vzorce PS, tlaki, pretoki nosilnega plina in mase vzorcev sprednje kolone.	25
Preglednica 3: Retencijski časi standardov z znanimi lastnostmi za različne vzorce PS, tlaki, pretoki nosilnega plina in mase vzorcev zadnje kolone.	25
Preglednica 4: Vrednosti nepolarne komponente proste površinske energije (γ_S^D) vzorcev PS ter Pearson-ovi koeficienti korelacije (sprednja in zadnja kolona).	26
Preglednica 5: Vrednosti specifične komponente standardne proste energije adsorpcije (ΔG_{SP}^0) polarnih standardov na vzorcih PS (sprednja kolona).	26
Preglednica 6: Vrednosti specifične komponente standardne proste energije adsorpcije (ΔG_{SP}^0) polarnih standardov na vzorcih PS (zadnja kolona).	27
Preglednica 7: Vrednosti kislih (k_a) in bazičnih (k_b) parametrov vzorcev PS (sprednja in zadnja kolona).	27
Preglednica 8: Povprečne vrednosti nepolarne (γ_S^D) in polarne (ΔG_{SP}^0) komponente proste površinske energije ter povprečne vrednosti kislih (k_a) in bazičnih (k_b) parametrov vzorcev PS na obeh kolonah.	28
Preglednica 9: Površinske napetosti in komponente površinske napetosti, uporabljenih tekočin, za izračun površinske energije trdne snovi po Van Oss-ovi metodi.	28
Preglednica 10: Vrednosti stičnih kotov za laktozo in Mg-stearat.	29
Preglednica 11: Vrednosti stičnih kotov za Methocel ® in Na-lavrilsulfat.	29
Preglednica 12: Vrednosti stičnih kotov za Retalac ® in sorbitol.	29
Preglednica 13: Vrednosti stičnih kotov za stearinsko kislino.	30
Preglednica 14: Povprečne vrednosti stičnih kotov za vzorce PS, merjenih z metodo sedeče kapljice in standardne deviacije.	30
Preglednica 15: Komponente proste površinske energije vzorcev PS, računane po Van Oss-ovi metodi, za kombinacijo tekočin voda/formamid/dijodometan.	30
Preglednica 16: Vrednosti nepolarne komponente proste površinske energije vzorcev PS (γ_S^D) ter podatki iz literature.	31
Preglednica 17: Vrednosti kislih (k_a) in bazičnih (k_b) parametrov vzorcev PS.	32
Preglednica 18: Vrednosti razmerja k_b/k_a za vzorce PS ter podatki o kislosti in bazičnosti PS iz literature.	33

Preglednica 19: Vrednosti kislih (k_a) in bazičnih (k_b) parametrov proste površinske energije vzorcev PS ter vrednosti specifične komponente standardne proste energije adsorpcije (ΔG_{sp}^0) THF in kloroforma.	34
Preglednica 20: Vrednosti nepolarne, Lifshitz-van der Waals-ove komponente proste površinske energije vzorcev PS (γ^{LW}).....	36
Preglednica 21: Vrednosti kislih (γ^+) in bazičnih (γ^-) prispevkov k prosti površinski energiji vzorcev PS ter podatki o kislosti in bazičnosti PS iz literature.....	36
Preglednica 22: Vrednosti nepolarne komponente proste površinske energije vzorcev PS (γ_S^D) določene z metodo IGC in vrednosti nepolarne Lifshitz-van der Waals-ove komponente proste površinske energije vzorcev PS (γ^{LW}) določene z metodo sedeče kapljice.	38

POVZETEK

Kislinsko-bazične interakcije so verjetno najbolj pogoste fizikalno-kemijske interakcije med farmacevtsko pomožno snovjo in zdravilno učinkovino, zato je poznavanje kislosti in bazičnosti tako učinkovin kot tudi pomožnih snovi bistveno za določanje kompatibilnosti z zdravilno učinkovino. Za določanje kislosti in bazičnosti tradicionalno pripravimo vodno raztopino ali suspenzijo določene snovi in izmerimo pH vodne faze. V diplomski nalogi smo uporabili dve alternativni metodi, kjer smo kislost in bazičnost trdnih površin nekaterih pomožnih snovi (hidroksipropilmetil celuloza-Methocel[®], laktoza monohidrat, magnezijev stearat, natrijev lavrilsulfat, sorbitol, stearinska kislina in Retalac[®]) določali z metodo inverzne plinske kromatografije (IGC) in merjenjem stičnega kota z metodo sedeče kapljice. Rezultate obeh metod smo primerjali med seboj in s podatki iz literature.

Z metodo inverzne plinske kromatografije smo določili nepolarno komponento proste površinske energije trdne snovi (γ_S^D) in specifično komponento standardne proste energije adsorpcije (ΔG_{SP}^0). S pomočjo ΔG_{SP}^0 smo nato grafično določili kisle (k_a) in bazične (k_b) parametre proste površinske energije pomožnih snovi.

Z metodo sedeče kapljice smo določili stične kote za pomožne snovi ter s pomočjo računalniškega programa, z uporabo Van Oss-ove metode, izračunali kisle (γ^+) in bazične (γ^-) prispevke k prosti površinski energiji pomožnih snovi.

Glede na vrednosti razmerja k_b/k_a in vrednosti bazičnih (γ^-) prispevkov k prosti površinski energiji pomožnih snovi, izkazujejo vse preiskovane pomožne snovi bazičen značaj. Neposredna primerjava nepolarnih komponent proste površinske energije (γ_S^D in γ^{LW}) obeh metod se ni ujemala s postavljeno hipotezo, tj. nepolarna komponenta proste površinske energije pomožnih snovi, določena z obema metodama, naj bi razvrščala pomožne snovi v enakem vrstnem redu. Glede na dobljene rezultate zaenkrat ne moremo sklepati na to, katera izmed obeh metod je bolj ustrezna za določanje kislosti in bazičnosti trdnih površin pomožnih snovi. Vsaka izmed obeh metod ima namreč določene omejitve. Nekoliko bolj primerna naj bi bila inverzna plinska kromatografija, zaradi avtomatizacije, nadzorovanih pogojev merjenja in manjšega vpliva na rezultat. Neposredna primerjava kislosti in bazičnosti pomožnih snovi z rezultati objavljenimi v literaturi (6) ni ustrezna, saj so Govindarajan in sodelavci merili pH suspenzij pomožnih snovi, kjer govorimo o drugačni medfazni energiji in posledično o drugačnih vrednostih kislih in bazičnih parametrov kot jih dobimo v primeru trdnih praškastih površin.

ABSTRACT

Acid-base interactions are probably the most common physicochemical interactions between the excipient and active pharmaceutical ingredient. For this reason, knowledge of acidity and alkalinity of active pharmaceutical ingredients as well as excipients is essential for determining chemical compatibility with active pharmaceutical ingredient. For the determination of acidity and alkalinity traditionally an aqueous solution or suspension of the particular substance is prepared and the pH of an aqueous phase is measured. In this study two alternative methods were used, where acidity and alkalinity of solid surfaces of certain excipients (Methocel ®, lactose monohydrate, magnesium stearate, sodium lauryl sulphate, sorbitol, stearic acid and Retalac ®) was determined by inverse gas chromatography (IGC) and by contact angle measurements (sessile drop method). The results of both methods were compared with each other and to the data found in literature.

Using inverse gas chromatography the dispersive component of surface free energy (γ_S^D) and the specific component of surface free energy of adsorption (ΔG_{SP}^0) were determined. With ΔG_{SP}^0 acidic (k_a) and basic (k_b) parameters of surface free energy were graphically determined. Using sessile drop method contact angles for excipients were determined and with the help of a computer program, using Van Oss's method, acidic (γ^+) and basic (γ^-) contributions to surface free energy of excipients were calculated. Depending on the values of the ratio k_b/k_a and values of basic (γ^-) contributions to the surface free energy, all of investigated excipients exhibited basic character. A direct comparison of dispersive components of the surface free energy (γ_S^D and γ^{LW}) obtained with both methods did not correspond with the hypothesis, i.e. dispersive component of surface free energy of excipients determined by both methods should classify excipients in the same order. Depending on the results obtained so far, we cannot conclude on this, which of the two methods is more relevant for the determination of acidity and alkalinity of solid surfaces of excipients. Each of the two methods has certain limits. Slightly more suitable should be the inverse gas chromatography due to automation, controlled measurement conditions and smaller impact on the result. Direct comparison of acidity and alkalinity of excipients, with the results published in the literature (6) is not appropriate, because Govindarajan and colleagues measured the pH of suspensions of excipients, where we talk about the different interfacial energy and, consequently, about the different values of acidic and basic parameters as obtained in the case of solid powder surfaces.

KLJUČNE BESEDE

pomožne snovi

površinska energija

inverzna plinska kromatografija

stični kot

močenje

KEY WORDS

excipients

surface energy

inverse gas chromatography

contact angle

wettability

SEZNAM OKRAJŠAV

a	površina adsorbirane molekule
AN	akceptorsko število
AN*	korigirana vrednost akceptorskega števila
DN	donorsko število
DSA	Drop Shape Analysis-analiza oblike kapljice
F	pretok nosilnega plina (He)
FID	Flame Ionization Detector-plamensko ionizacijski detektor
FO	farmacevtska oblika
ΔG	sprememba Gibbs-ove proste energije
ΔG_{ad}^0	sprememba standardne Gibbs-ove proste energije adsorpcije
ΔG_{de}^0	sprememba standardne Gibbs-ove proste energije desorpcije
ΔG_{ad}^D	nepolarna komponenta Gibbs-ove proste energije adsorpcije
ΔG_{ad}^{SP}	specifična komponenta Gibbs-ove proste energije adsorpcije
ΔG_{SP}^0	specifična komponenta standardne Gibbs-ove proste energije adsorpcije
GC	Gas Chromatography-plinska kromatografija
HPMC	hidroksipropilmetil celuloza
IGC	Inverse Gas Chromatography-inverzna plinska kromatografija
j	James Martin-ov korekcijski faktor
k_a	kislinski parameter
k_d	bazični parameter
MM	molska masa
N_A	Avogadrovo število
NMR	Nuclear Magnetic Resonance-jedrska magnetna resonanca
P_{in}	tlak na vходу plina v kolono
P_{out}	tlak na izhodu kolone
PS	pomožna snov
R	plinska konstanta
R^2	Pearson-ov koeficient korelacije
T	temperatura
THF	tetrahidrofur
TCD	Thermal Conductivity Detector-detektor na osnovi toplotne prevodnosti

t_R	retencijski čas
t_0	mrtvi čas
V_N	neto retencijski volumen
W_{adh}	adhezijsko delo
ZU	zdravilna učinkovina

Grške črke:

γ_S^D	nepolarna komponenta proste površinske energije trdne snovi
γ_L^D	nepolarna komponenta proste površinske energije tekočine
γ_S^+	elektron akceptorski/proton donorski prispevek k prosti površinski energiji trdne snovi
γ_S^-	elektron donorski/proton akceptorski prispevek k prosti površinski energiji trdne snovi
γ_L^+	elektron akceptorski/proton donorski prispevek k prosti površinski energiji tekočine
γ_L^-	elektron donorski/proton akceptorski prispevek k prosti površinski energiji tekočine
γ_{LV}	prosta površinska energija tekočine na meji tekoče/zrak
γ_{SV}	prosta površinska energija trdne snovi na meji trdno/zrak
γ_{SL}	prosta medfazna energija tekočine na meji trdno/tekoče
θ	stični kot, kot močenja
γ^{LW}	Lifshitz-van der Waals-ova komponenta proste površinske energije
γ^{AB}	kislinsko-bazična komponenta proste površinske energije
γ^+	elektron akceptorski/proton donorski prispevek k prosti površinski energiji
γ^-	elektron donorski/proton akceptorski prispevek k prosti površinski energiji
γ_S^{LW}	Lifshitz-van der Waals-ova komponenta proste površinske energije trdne snovi
γ_L^{LW}	Lifshitz-van der Waals-ova komponenta proste površinske energije tekočine

1. UVOD

PS (pomožna snov) praviloma odloča o fizikalno-kemijskih lastnostih FO (farmacevtske oblike). Pogosto so PS, glede na njihov delež v FO, glavna komponenta FO, medtem ko je ZU (zdravilna učinkovina) prisotna le v majhni količini, zato je za tehnologa ključnega pomena, da pozna različne vrste in oblike PS. Pravilna izbira PS vpliva na varnost, učinkovitost in kakovost FO (1-3).

Večina PS se nahaja v trdnem stanju. Fizikalno-kemijske interakcije med PS in ZU vplivajo na stabilnost in biorazpoložljivost ter posledično tudi na terapevtsko učinkovitost in varnost FO. Kislinsko-bazične interakcije so verjetno najbolj pogoste, zato je kislost in bazičnost PS lahko bistvena za določanje kompatibilnosti PS z ZU.

Obstaja več metod za določanje kislosti in bazičnosti trdnih PS. Tradicionalno pripravimo vodno raztopino ali suspenzijo PS in izmerimo pH vodne faze. V tej diplomski nalogi smo uporabili dve alternativni metodi, tj. inverzno plinsko kromatografijo (IGC-angl. Inverse Gas Chromatography) in močenje, s katerima smo določali kislost in bazičnost trdnih površin nekaterih PS (4-6).

1. 1. POVRŠINSKA NAPETOST TEKOČIN IN POVRŠINSKA ENERGIJA TRDNIH SNOVI

Vse površine pravzaprav obstajajo kot mejne faze. Mejne faze ali medfaze so meje med dvema stanjema snovi (trdno, tekoče, plinasto) ali med dvema fazama istega stanja, ki se ne mešata. Obstaja več vrst mejnih faz: trdno/plinasto, tekoče/plinasto, trdno/tekoče, tekoče/tekoče, trdno/trdno. Za obstoj medfaze (površine) je potrebna medfazna (površinska) energija in zato so medfaze (površine) vselej povezane s prebitkom proste medfazne (površinske) energije (8, 9).

Trdna snov je po definiciji toga in odporna na mehansko obremenitev. Oblika trdnih snovi je odvisna od njene zgodovine (kristalizacija in drugi tehnološki procesi) in ni odvisna od površinske energije. Posledično imajo grobe površine na različnih območjih trdne površine različne vrednosti površinske energije (robovi kristalov imajo višjo površinsko energijo kot ravne površine).

Za tekočine sta površinska napetost in površinska energija numerično enaki, za trdne snovi pa ni nujno tako. Površinska napetost je delo, ki je potrebno, da nastane površina, medtem ko je površinska energija delo, ki je potrebno, da se površina poveča za eno enoto (N/m).

Proces povečanja površine vključuje dve stopnji. Ena je cepitev vezi med molekulami in druga preureditev molekul s položaja v notranjosti snovi, v nov položaj na površini. Pri tekočinah, kjer se molekule prosto gibljejo, ti dve stopnji potečeta hkrati, zato je površinska napetost enaka površinski energiji. Pri trdnih snoveh pa, zaradi močno zmanjšane mobilnosti, molekule tudi po cepitvi vezi ne morejo takoj tvoriti površine z ravnotežno površinsko energijo, zato površinska napetost trdnih snovi ni nujno enaka površinski energiji (7-10).

Za mejne faze tekoče/plin in tekoče/tekoče je določanje medfazne (površinske) napetosti relativno lahka naloga. Za mejne faze, ki vsebujejo trdne površine pa zaradi heterogenosti trdnih snovi postane določanje oziroma ocenjevanje površinske energije zelo težko. Zaradi različnih območij z različnimi vrednostmi površinske energije lahko trdnim snovem določimo le povprečno vrednost površinske energije.

Za določanje površinske energije trdnih snovi je bilo v literaturi uporabljenih več različnih metod. Mi smo uporabili dve, adsorpcijsko (adsorpcija plinov na mejne površine) in merjenje stičnega kota na trdni površini stisnjene snovi (8-10).

1. 2. ADSORPCIJA PLINOV

Ko govorimo o mejni fazi trdno/plinasto je pomembno razumevanje procesa adsorpcije. Adsorpcija je proces, pri katerem se ena ali več snovi veže na površino trdne snovi. Snov, ki se adsorbira se imenuje adsorbat. Snov na kateri pride do adsorpcije, pa se imenuje adsorbent.

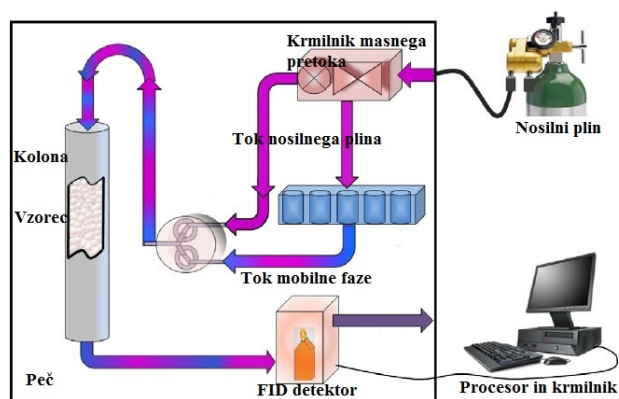
Adsorpcija je lahko posledica fizikalnih (fizisorpcija) ali kemijskih vezi (kemisorpcija) med adsorbatom in adsorbentom. Za fizisorpcijo so značilne nespecifične, šibke Van der Waalsove vezi, za kemisorpcijo pa specifične, močne kovalentne vezi. Fizisorpcija je tako lahko reverzibilna, kemisorpcija pa le redko. Najpogostejši proces je fizisorpcija.

Večina trdnih snovi ima pogosto visoko površinsko energijo in zato težijo k njenemu zmanjšanju. Adsorpcija je eden glavnih procesov, ki zmanjša neravnovesje privlačnih sil na površini trdnih snovi in tako zmanjša površinsko energijo teh snovi (8, 9, 11).

Stopnja adsorpcije plina na trdno snov je odvisna od kemijskih lastnosti adsorbenta in adsorbata, temperature in delnega tlaka adsorbiranega plina (12). Za določanje stopnje adsorpcije plina na trdno površino so v uporabi naslednje metode: gravimetrične, kalorimetrične in kromatografske (IGC) (10). Metoda IGC je podrobneje predstavljena v naslednjem poglavju.

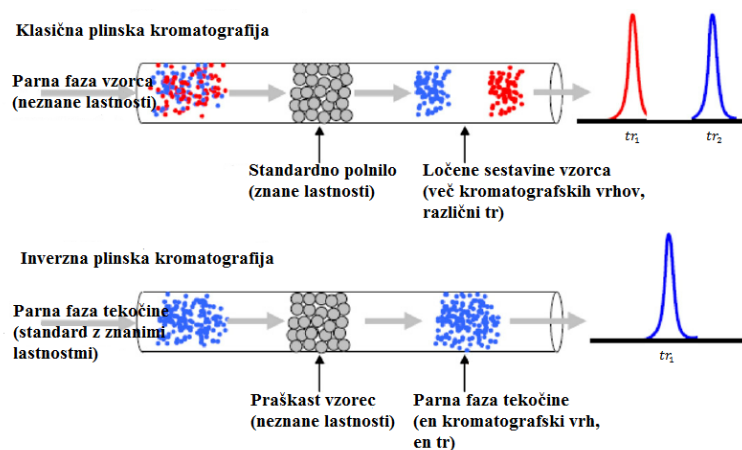
1. 3. INVERZNA PLINSKA KROMATOGRAFIJA (IGC)

IGC je vsestranska, občutljiva, enostavna in relativno hitra metoda za določanje fizikalno-kemijskih lastnosti snovi. Zaradi uspešnega določanja površinskih lastnosti trdnih snovi je IGC postala priljubljena kmalu po njenem odkritju. Pomembna lastnost, ki je privedla k uporabnosti IGC je njena podobnost s predhodno poznano klasično plinsko kromatografijo (GC-angl. Gas Chromatography). Podobno kot GC tudi IGC sestavljajo peč, kolona, krmilnik masnega pretoka in računalnik, kot procesor in krmilnik (slika 1) (13, 15).



Slika 1: Shematski prikaz IGC aparata.

Glavna značilnost, ki razlikuje IGC od GC je vloga mobilne in stacionarne faze. V nasprotju z GC, kjer je parna faza preiskovane snovi injicirana v kolono z znano stacionarno fazo, se preiskovana snov pri IGC kot stacionarna faza nahaja v koloni (slika 2) (13, 14).



Slika 2: Shematski prikaz klasične GC in IGC.

Stacionarna faza je lahko kristaliničen ali amorfni prašek ali viskozna tekočina. Ena največjih prednosti te metode je, da lahko uporabimo vzorec brez posebne predhodne priprave (16). Posledično lahko zelo hitro in učinkovito določimo lastnosti trdnih snovi. Za analizo stacionarne faze injiciramo nizke koncentracije parnih faz tekočin z znanimi lastnostmi (standard) z inertnim nosilnim plinom (mobilna faza) skozi stacionarno fazo. Smer pretoka nosilnega plina je prikazana na sliki 1. Kot nosilni plin se najpogosteje uporabljajo helij, argon in dušik. Fizikalno-kemijske lastnosti stacionarne faze lahko nato določimo na podlagi retencijskih časov standardov (13, 15).

Za izbiro detektorja sta pomembna dejavnika selektivnost in občutljivost. Detektor na osnovi toplotne prevodnosti (TCD-angl. Thermal Conductivity Detector) deluje na osnovi razlik v toplotni prevodnosti med različnimi komponentami zmesi in ima tako sposobnost zaznavanja različnih snovi. Plamensko ionizacijski detektor (FID-angl. Flame Ionization Detector) pa meri koncentracijo ionov, ki nastanejo pri gorenju organskih spojin v plamenu vodika (13).

Retencijski časi in oblika kromatografskega vrha standardov so odvisni od interakcij s preiskovano snovjo, ter medsebojnih interakcij med standardi (14, 17). Meritve najpogosteje izvajamo pri neskončnem razredčenju standarda-angl. infinite dilution, kar se je izkazalo za zelo uporabno pri določanju površinske energije. Neskončno razredčenje dosežemo z večkratnim spiranjem igle s standardom pred injiciranjem v kolono. V kolono tako injiciramo 1 μ L zraka, ki vsebuje zelo nizko koncentracijo parne faze standarda. Ker je količina standarda omejena predvidevamo, da pride do interakcij samo z visoko energetskimi mesti na površini, interakcije z nizko energetskimi mesti pa so zanemarljive. V idealnih pogojih tako ne prihaja do medsebojnih interakcij med molekulami plinaste faze in pričakujemo simetričen kromatografski vrh, s pomočjo katerega lahko izmerimo retencijski čas, ki je uporaben za določanje nepolarne in polarne komponente površinske energije, koeficienta aktivnosti, energije adsorpcije in površinske heterogenosti, površinske aktivnosti in entropije adsorpcije (13, 18).

1. 3. 1. MERJENJE POVRŠINSKE ENERGIJE TRDNIH SNOVI Z METODO IGC

Osnovni podatek, ki ga pridobimo z metodo IGC je retencijski čas, ki je definiran kot čas, ki je potreben, da se standard izloči iz kolone (18). Kot smo že omenili, retencijski čas določimo iz simetričnih vrhov, ki nastanejo kot rezultat interakcij med standardom in preiskovanim vzorcem. Z analizo obsega teh interakcij lahko izračunamo številne lastnosti snovi.

Površine trdnih snovi so opisane z nepolarnimi in polarnimi (specifičnimi) lastnostmi. Nepolarne lastnosti pridobimo z izračunom nepolarnih komponent površinske energije. Polarne lastnosti pa določimo s parametri, ki merijo nagnjenost površine, da je kot elektron akceptor ali kot elektron donor. Vsota nepolarnih in polarnih komponent pa predstavlja celotno površinsko energijo trdne snovi (14, 15).

Nepolarna komponenta površinske energije

Schultz in sodelavci so predstavili eno najpogosteje uporabljenih metod za določanje neparne komponente površinske energije (15). Njihovi izračuni temeljijo na merjenju retencijskih časov standardov pri neskončnem razredčenju, kjer ne pričakujemo medsebojnih reakcij. Neto retencijski volumen (V_N) izračunamo iz enačbe:

$$V_N = jF(t_R - t_0) \quad [2]$$

kjer je j James-Martin-ov korekcijski faktor ob upoštevanju stisljivosti plina, F pretok nosilnega plina, t_R retencijski čas standarda in t_0 mrtvi čas, ki je potreben, da standard po injiciranju pride v interakcijo s preiskovanim vzorcem (določimo ga s prehodom inertnega plina, kot je metan, skozi preiskovan vzorec) (15).

James Martin-ov korekcijski faktor izračunamo iz enačbe 3. Pri tem upoštevamo, da je tlak na vходу plina v kolono (P_{in}) poznan, za tlak na izhodu kolone (P_{out}) pa predpostavimo, da je enak atmosferskemu (10).

$$j = \frac{3 \left(\frac{P_{in}}{P_{out}} \right)^2 - 1}{2 \left(\frac{P_{in}}{P_{out}} \right)^3 - 1} \quad [3]$$

Z merjenjem pri neskončnem razredčenju standarda lahko izračunamo spremembo Gibbs-ove energije (ΔG), ki je določena z V_N (13, 19):

$$\Delta G_{ad}^0 = \Delta G_{de}^0 = RT \ln V_N + C \quad [4]$$

kjer sta ΔG_{ad}^0 in ΔG_{de}^0 spremembi standardne Gibbs-ove proste energije adsorpcije in desorpcije, R plinska konstanta ($8,314 \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$), T absolutna temperatura (K) in C konstanta povezana s standardnim stanjem.

ΔG_{ad}^0 je vsota nepolarnih in specifičnih komponent proste energije adsorpcije:

$$\Delta G_{ad}^0 = \Delta G_{ad}^D + \Delta G_{ad}^{SP} \quad [5]$$

Če kot standarde uporabimo n-alkane, ne pride do specifičnih interakcij s preiskovanimi vzorci, zato je $\Delta G_{ad}^0 = \Delta G_{ad}^D$ in njuni vrednosti sta odvisni od števila ogljikovih atomov v molekuli alkana. Prosta energija adsorpcije je definirana kot:

$$-\Delta G_{ad}^0 = N_A a W_{adh} \quad [6]$$

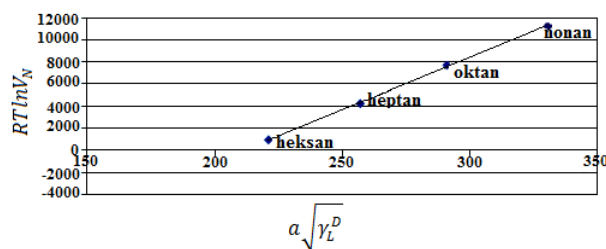
kjer je N_A Avogadrovo število (mol^{-1}), a površina adsorbirane molekule (m^2) in W_{adh} adhezijsko delo (mJm^{-2}). Za izračun nepolarne komponente proste površinske energije trdnih snovi uporabimo Fowkes-ovo enačbo (20):

$$W_{adh} = 2\sqrt{\gamma_S^D \gamma_L^D} \quad [7]$$

kjer sta γ_S^D in γ_L^D nepolarni komponenti proste površinske energije trdne snovi in standarda. Kombinacija enačb 4, 6 in 7 nam da enačbo 8, ki nam omogoča izračun nepolarne komponente proste površinske energije trdne snovi:

$$RT \ln V_N = 2N_A a \sqrt{\gamma_S^D \gamma_L^D} + C \quad [8]$$

Nepolarno komponento proste površinske energije trdne snovi lahko določimo iz grafa $RT \ln V_N$ v odvisnosti od $a\sqrt{\gamma_L^D}$ (slika 3) (21). Za n-alkane dobimo premico. Iz njenega naklona ($2N_A a \sqrt{\gamma_S^D}$) lahko nato izračunamo γ_S^D (10).

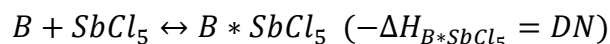


Slika 3: Graf $RT \ln V_N$ v odvisnosti od $a\sqrt{\gamma_L^D}$ za n-alkane.

Specifična (polarna) komponenta površinske energije

Specifično komponento površinske energije določimo z uporabo polarnih standardov z znanimi kislinsko-bazičnimi lastnostmi.

Gutmann-ova teorija opredeljuje polarne interakcije kot kislinsko-bazične interakcije. Vsak standard lahko opredelimo z donorskim (DN) in akceptorskim (AN) številom, ki označujeta elektron donorske (bazične) in elektron akceptorske (kisle) lastnosti standarda. DN je enako spremembi entalpije reakcije elektron donorja B z referenčno elektron akceptorsko spojino $SbCl_5$ v 10^{-3} M raztopini 1, 2-dikloroetana:



AN pa predstavlja relativno spremembo kemijskega premika $^{15}_3P$ v trietil fosfin oksidu $((C_2H_5)_3PO)$ v spektru jedrske magnetne resonance (NMR-angl. Nuclear Magnetic Resonance), ko trietil fosfin oksid reagira z akceptorskim topilom A. Za ničelno vrednost je izbran kemijski premik, ki ga povzroči heksan in za vrednost 100 premik, ki ga povzroči $SbCl_5$ v razredčeni raztopini 1, 2-dikloroetana. Riddle in Fowkes sta ugotovila, da k vrednosti AN prispevajo tudi nepolarne interakcije, ki prav tako povzročijo kemijski premik v $(C_2H_5)_3PO$ v NMR spektru. Predlagala sta uvedbo novega parametra AN^* (korigirana vrednost AN), ki označuje samo polarne interakcije. Ugotovila sta, da se vrednosti AN^* dobro ujemajo z entalpijo tvorbe produktov med $(C_2H_5)_3PO$ in elektron akceptorjem A:

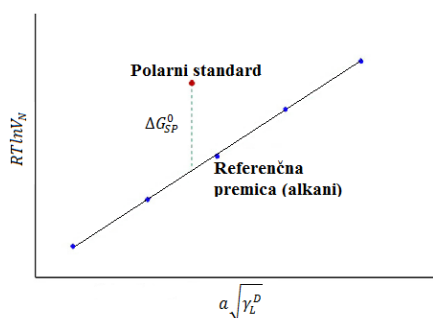
$$AN^* = -\Delta H [A \leftarrow (C_2H_5)_3PO] = 0,288 (AN - AN^*)$$

Vrednosti DN, AN in AN^* za nekatere tekočine so navedene v preglednici 1 (10, 28).

Preglednica 1: Lastnosti nekaterih standardov, ki jih uporabljamo pri IGC (10, 19).

	a (Å ²)	γ_L^D ($\frac{mJ}{m^2}$)	DN	AN	AN*
C₆H₁₄	51,5	18,4	0	0	0
C₇H₁₆	57,0	20,3	0	0	0
C₈H₁₈	62,8	21,3	0	0	0
C₉H₂₀	68,9	22,7	0	0	0
THF	45,0	22,5	20,0	8,0	0,5
etilacetat	48,0	19,6	17,1	9,3	1,5
aceton	42,5	16,5	17,0	12,5	2,5
kloroform	44,0	25,9	0	23,1	5,4

Točke polarnih standardov na grafu $RT \ln V_N$ v odvisnosti od $a\sqrt{\gamma_L^D}$ ne ležijo na referenčni premici, ki ustreza n-alkanom. Pri določeni vrednosti $a\sqrt{\gamma_L^D}$ predstavlja navpična razdalja med referenčno premico in točko polarnega standarda specifičen del spremembe standardne Gibbs-ove proste energije adsorpcije ΔG_{SP}^0 (slika 4) (10, 13).

Slika 4: Graf za določanje specifične komponente proste površinske energije (ΔG_{SP}^0).

Specifične kislinsko-bazične interakcije med trdno površino in polarnim standardom opisuje naslednja enačba:

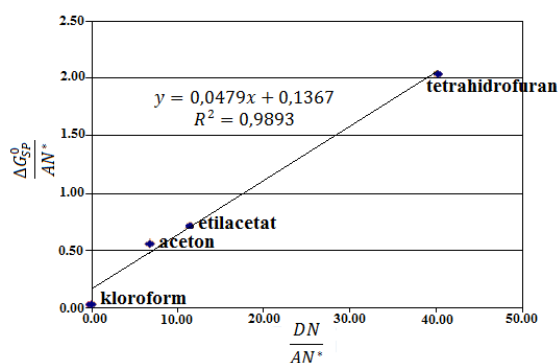
$$-\Delta G_{SP}^0 = k_a DN + k_d AN^* \quad [9]$$

Če enačbo 9 preuredimo, dobimo enačbo 10, s pomočjo katere lahko iz grafa $-\frac{\Delta G_{SP}^0}{AN^*}$ v odvisnosti od $\frac{DN}{AN^*}$ (slika 5) določimo kisle in bazične parametre:

$$-\frac{\Delta G_{SP}^0}{AN^*} = k_a \frac{DN}{AN^*} + k_d \quad [10]$$

kjer je k_a kisel in k_d bazičen parameter (10, 13).

Kisel in bazičen parameter sta neodvisna drug od drugega. V primeru visoke vrednosti bazičnega parametra ne moremo sklepati na nizko vrednost kislega parametra, zato je bilo za določanje kislosti in bazičnosti površine uporabljeno razmerje k_d/k_a . V primeru $k_d/k_a > 1$ je površina bazična, v primeru $k_d/k_a < 1$ pa je površina kislina (18).



Slika 5: Primer grafične določitve kislega (k_a) in bazičnega (k_d) parametra proste površinske energije. Naklon premice predstavlja vrednost k_a (0,0479) odsek na ordinati pa vrednost k_d (0,1367).

1. 3. 2. PREDNOSTI IN OMEJITVE DOLOČANJA LASTNOSTI POVRŠIN Z METODO IGC

Prednosti:

1. IGC je relativno enostavna, ponovljiva in nedestruktivna metoda (15, 30).
2. IGC je sposobna zaznati razlike v površinskih lastnosti trdnih snovi, ki jih druge metode lahko obravnavajo kot identične (16).
3. Nekatere metode za določanje površinskih lastnosti trdnih snovi vključujejo predpripravo vzorca, ki povzroči spremembe površinskih lastnosti. V primeru IGC predpriprava vzorcev ni potrebna (10, 29).
4. Masa vzorca, ki ga polnimo v kolono ne vpliva na rezultate meritev, vendar pa vpliva na natančnost podatkov. Retencijski časi bodo ob povečanju mase vzorca daljši, in obratno. Prekratki ali predolgi retencijski časi ne zagotavljajo natančnih rezultatov (5).
5. Ponovljivo polnjenje kolone ni pomemben dejavnik, saj bodo, v kolikor vzdolž napolnjene kolone ni večjih praznin, standardi izpostavljeni isti površini delcev (5).

6. Temperatura in relativna vlažnost IGC sistema sta dobro kontrolirani (29).
7. Z IGC metodo lahko izvajamo natančne meritve v širokem temperaturnem območju (13, 14).
8. S prilagoditvijo IGC lahko uravnavamo relativno vlažnost v koloni. Tako lahko analiziramo vzorec pod pogoji, katerim je kasneje izpostavljen v tehnoloških procesih (10, 19).
9. Z namenom povečanja občutljivosti metode lahko spreminjamo številne parametre, kot so temperatura merjenja, dolžina kolone, masa vzorca v koloni, pretok nosilnega plina in izbor standardov (20).
10. IGC je odlična metoda za določanje površinskih lastnosti amorfnih snovi, ki se npr. v primeru metode merjenja stičnih kotov lahko raztopijo ali kristalizirajo (13).

Omejitve:

1. Običajno IGC izvajamo z injiciranjem zelo majhnih količin standarda (neskončno razredčenje standarda). V tem primeru bo standard prednostno reagiral z območji na površini vzorca, ki imajo visoko energijo. Tako dobimo podatke samo za visoko energetska območja in ne za povprečno vrednost površinske energije vseh območij trdne površine. Ker večina interakcij s površino trdnih snovi poteka z visoko energetskimi območji je lahko to celo prednost metode (31).
2. Na meritve vpliva dolžina kolone. Pri kratki koloni ne bo prišlo do ustrezne ločitve kromatografskega vrha. V primeru predolge kolone pa bodo standardi z dolgim retencijskim časom ustvarili razpotegnjene vrhove in tako meritve retencijskega časa ne bodo natančne (5).
3. Zelo dolg čas analize, saj je vzorec v koloni potrebno več kot 12 ur prepihovati z nosilnim plinom. Med injiciranjem standardov moramo običajno prav tako počakati vsaj 30 minut, da se standard popolnoma eluira preden injiciramo drugega. Skupno lahko torej analiza enega vzorca traja od 20-30 ur (5, 10).
4. Pri injiciranju bazičnega standarda v kolono z močno kislim vzorcem lahko pride do premočnih interakcij molekul standarda z vzorcem in tako desorpcija ni mogoča. Posledično elucije standarda ni in tudi odziva na detektorju ne opazimo (10).

1. 4. STIČNI KOT IN MOČENJE KOT ALTERNATIVNA METODA ZA DOLOČANJE POVRŠINSKE ENERGIJE TRDNIH SNOVI

Stični kot in močenje

Kapljica tekočine se v stiku s površino trdne snovi lahko razleze ali pa ohrani obliko sedeče kapljice. Pride do ravnotežnega stanja. Nagnjenost tekočine k razširjanju po površini trdne snovi, je ocenjena z velikostjo stičnega kota, ki je definiran kot kot, ki nastane med tangento na površini tekočine in trdno površino.

Stični kot je posledica ravnotežja treh medfaznih sil (γ_{LV} , γ_{SV} in γ_{SL}) (slika 6), ki so s stičnim kotom povezane prek Young-ove enačbe:

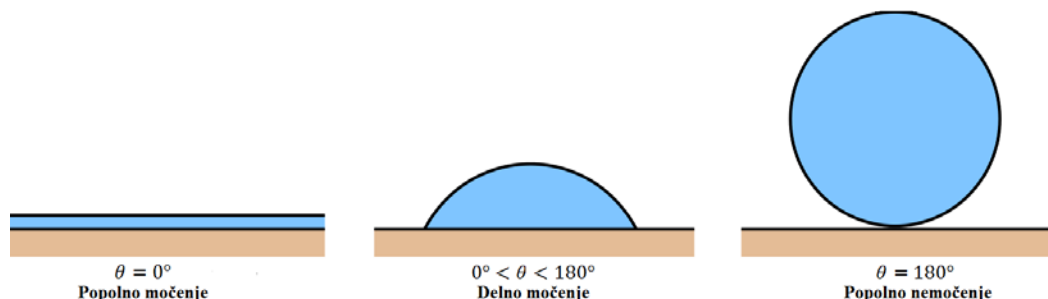
$$\gamma_{LV} \cos \theta = \gamma_{SV} - \gamma_{SL} \quad [11]$$

kjer je γ_{LV} prosta površinska energija tekočine na meji tekoče/zrak, $\cos \theta$ kosinus stičnega kota, γ_{SV} prosta površinska energija trdne snovi na meji trdno/zrak in γ_{SL} prosta medfazna energija tekočine na meji trdno/tekoče (4, 7, 8, 24).



Slika 6: Stični kot; prikaz ravnotežja medfaznih sil.

Nizka vrednost stičnega kota označuje dobro močenje, kjer popolno močenje opisujemo s kotom 0° . Nasprotno pa visoka vrednost stičnega kota označuje slabo močenje, kjer popolno nemočenje opisujemo s kotom 180° (slika 7). Stični kot je merilo za močenje, ki zagotavlja numerično oceno težnje tekočine k razširjanju prek trdne snovi (22, 23).



Slika 7: Stopnje močenja

Merjenje stičnega kota

Za merjenje stičnega kota, ki ga tvori tekočina na trdni snovi, je na voljo več različnih metod. Večina študij se ukvarja z gladkimi, ravnimi površinami kot so na primer polimerni filmi, za katere je merjenje stičnega kota razmeroma enostavno. Ker pa večina farmacevtskih snovi obstaja v obliki praškov, je merjenje stičnega kota precej bolj zahtevno (4, 8).

Temeljna značilnost praška je površinska heterogenost, ki je lahko posledica prisotnosti nečistot, kristalnih robov, por in funkcionalnih skupin na površini praška (32). ZU v obliki praškov so običajno razmeroma visoke čistosti, v primeru PS pa nečistote predstavljajo večji problem. Kristalno obliko praška sestavlja več različnih površin, ki vsebujejo različne deleže funkcionalnih skupin, zato bo stični kot praška v najboljšem primeru povprečje vrednosti stičnih kotov za vsako površino. Večina farmacevtskih praškov ima zelo visoko stopnjo kristaliničnosti, vendar pa imajo na površini pogosto tudi majhen delež amorfne sestave. Posledično govorimo o heterogenih snoveh, ki lahko hitro spremenijo svoje površinske lastnosti. Pred merjenjem stičnega kota moramo trdne praškaste snovi stisniti v ploščice, da dobimo gladke in ravne površine (8).

Najpogostejša metoda za merjenje stičnega kota praškov je metoda sedeče kapljice, pri kateri najprej pripravimo stisnjeno ploščico snovi, na katero kanemo kapljico tekočine μL volumna. Stični kot nato izmerimo z uporabo merilnika stičnega kota, ki je opremljen z video kamero in povezan z računalnikom (23, 24).

Slabost metode stiskanja praška je sprememba površinskih lastnosti ob stiskanju. Pri stiskanju praška v ploščice lahko potečeta dva procesa: krhko lomljenje, ki vodi do izpostavitve novih površin ali plastična deformacija. Buckton in Newton sta ugotovila, da se s povečevanjem tlaka stiskanja stični kot eksponentno zmanjšuje, dokler ne pride do plastične deformacije površine. Po tej točki povečevanje tlaka stiskanja nima več vpliva na spremembo stičnega kota. Kiesvaara in Yliruusi pa sta poročala, da se s povečevanjem tlaka stiskanja stični kot lahko poveča, zmanjša ali ostane nespremenjen glede na material, ki ga preučujemo (8).

Mnoge raziskave so pokazale, da močenje na površini stisnjene ploščice lahko kaže tudi velike spremembe v odvisnosti od časa. Te spremembe so lahko posledica penetracije kapljice v snov/ploščico ali reorientacije molekul na medfazi trdno/tekoče. Posledično je potrebno hitro merjenje stičnega kota (4, 8).

1. 4. 1. IZRAČUN POVRŠINSKE ENERGIJE TRDNIH SNOVI Z METODO MOČENJA

Leta 1964 je Fowkes predlagal, da se površinska energija trdnih snovi (γ^{TOT}) obravnava kot vsota polarne (γ^P) in nepolarne (γ^D) komponente (8):

$$\gamma^{TOT} = \gamma^P + \gamma^D \quad [12]$$

Teorija neaditivnih komponent

Fowkes-ova teorija o delitvi površinske energije na polarne in nepolarne komponente je veljala do leta 1980, ko so odkrili, da interakcije med polarnimi snovmi niso vse enake vrste. Izraz polaren uporabljamo za označevanje treh različnih skupin spojin: dipolarne spojine, ki imajo dipolni moment, spojine, ki se obnašajo kot Lewisove kisline ali baze (elektron akceptorske, elektron donorske ali bipolarne, ki imajo tako elektron akceptorske kot elektron donorske lastnosti) ter spojine, ki tvorijo vodikove vezi in jih obravnavamo z Brönstedovo teorijo kislin in baz (proton akceptorske, proton donorske ali bipolarne, ki imajo tako proton akceptorske kot proton donorske lastnosti) (4, 8).

Van Oss je predlagal, da se površinska energija opredeli kot vsota nepolarne Lifshitz-van der Waals-ove komponente (γ^{LW}) in polarne kislinsko-bazične komponente (γ^{AB}) (enačba 13). γ^{AB} je nadalje razdeljena na elektron akceptorsko (γ^+) in elektron donorsko (γ^-) komponento, ki pa nista aditivni. Od tod ime teorija neaditivnih komponent oziroma Van Oss-ova metoda določanja stičnega kota (8).

$$\gamma^{TOT} = \gamma^{LW} + \gamma^{AB} \quad [13]$$

Za izračun nepolarne, Lifshitz-van der Waals-ove komponente proste površinske energije trdne snovi uporabimo naslednjo enačbo:

$$\gamma_L(1 + \cos \theta) = 2\sqrt{(\gamma_S^{LW}\gamma_L^{LW})} \quad [14]$$

kjer je γ_L prosta površinska energija tekočine, γ_S^{LW} Lifshitz-van der Waals-ova komponenta proste površinske energije trdne snovi in γ_L^{LW} Lifshitz-van der Waals-ova komponenta proste površinske energije tekočine.

Za izračun polarne, kislinsko-bazične komponente proste površinske energije trdne snovi uporabimo naslednjo enačbo:

$$\gamma^{AB} = 2\sqrt{\gamma^+\gamma^-} \quad [15]$$

kjer je γ^{AB} kislinsko-bazična komponenta proste površinske energije trdne snovi, γ^+ in γ^- pa sta njeni neaditivni komponenti, ki predstavljata elektron akceptorske/proton donorske (γ^+) in elektron donorske/proton akceptorske (γ^-) prispevke k prosti površinski energiji trdne snovi.

Za določanje kislinsko-bazičnih prispevkov k prosti površinski energiji trdne snovi moramo izmeriti stični kot z eno nepolarno in dvema polarnima tekočinama. Za izračun uporabimo Young-Good-Girifalco-Fowkes-ovo enačbo:

$$\gamma_L(1 + \cos \theta) = \left(2\sqrt{\gamma_S^{LW}\gamma_L^{LW}} + \sqrt{\gamma_S^+\gamma_L^-} + \sqrt{\gamma_S^-\gamma_L^+} \right) [16]$$

Dobimo tri enačbe s tremi neznankami. Ob poznavanju stičnih kotov in parametrov proste površinske energije uporabljenih tekočin, lahko izračunamo kislinsko-bazične prispevke k prosti površinski energiji trdne snovi (4, 8, 25).

1. 4. 2. PREDNOSTI IN OMEJITVE DOLOČANJA LASTNOSTI POVRŠIN Z METODO SEDEČE KAPLJICE

Prednosti:

1. Merjenje stičnega kota z metodo sedeče kapljice je enostavna, poceni, hitra in neposredna metoda (34, 36).
2. Metoda sedeče kapljice zahteva zelo majhne količine tekočine in vzorca, kar pa je lahko tudi slabost metode (24, 34).
3. V primeru ko je vrednost stičnega kota večja od 20° lahko z metodo sedeče kapljice dosežemo natančnost stičnega kota na 2° natančno (34).
4. Merilnik stičnega kota DSA Krüss nam omogoča fotografiranje kapljice v trenutku, ko je nastala na površini trdne snovi. S tem se izognemo evaporaciji kapljice in možni reakciji tekočine s površino oz. penetraciji v globlje dele ploščice snovi (33, 34).
5. S fotografiranjem kapljice lahko prav tako izključimo prisotnost človeških napak, ki so običajno prisotne pri merjenju stičnega kota z metodo sedeče kapljice (18).

Omejitve:

1. Na vrednost stičnega kota pomembno vpliva več dejavnikov (temperatura, relativna vlažnost, hrapavost trdne površine in predpriprava vzorca) (35).
2. V primeru hrapavosti in kemijske heterogenosti površine se stični kot spreminja vzdolž stične črte in ga težko določimo (33).
3. Nečistote na površini trdne snovi preprečujejo neposredne interakcije med tekočino in trdno površino. Posledično so meritve stičnega kota nenatančne (33).
4. Volumen kapljice tekočine, ki jo uporabljamo za merjenje stičnega kota naj bi bil od 0,5 μL do 10 μL . V primeru večje kapljice vrednosti stičnih kotov niso natančne zaradi gravitacijske sile in posledične deformacije. Manjša kapljica namreč lažje vzdržuje obliko, se manj deformira in jo z mikroskopom lažje izostrimo (33).
5. Vrednosti stičnega kota so lahko odvisne od tlaka stiskanja s katerim stisnemo prašek v ploščico. S stiskanjem namreč pride do spremembe površinskih lastnosti praška, ki vplivajo na merjenje stičnega kota (34).
6. Zaradi hrapave površine ploščic pride do penetracije kapljice ali nastanka zračnih pasti v porah na površini. Posledično je merjenje stičnega kota oteženo ali celo nemogoče (34).
7. Ko kapljico tekočine kanemo na površino ploščice lahko pride do raztapljanja praška. V izogib temu, lahko uporabimo kapljico nasičene raztopine praška, vendar pa lahko pride do nabrekanja in deformacije ploščice, zaradi česar je vrednost stičnega kota nenatančna (34).
8. Metoda sedeče kapljice je za primer trdnih praškastih snovi bolj kvalitativna metoda, ker nam namesto dejanskega stičnega kota podaja vrednosti navideznega stičnega kota (34).

2. NAMEN DELA

Namen dela je z metodama inverzne plinske kromatografije in močenjem določiti kislost in bazičnost trdnih površin nekaterih farmacevtskih pomožnih snovi (hidroksipropilmetil celuloza (Methocel ®), laktoza monohidrat, magnezijev stearat, natrijev lavrilsulfat, sorbitol, stearinska kislina in Retalac ®). Vsaka od obeh metod ima svoje prednosti in omejitve, zato bomo ugotavljali ustreznost posamezne metode za določanje kislosti in bazičnosti trdnih površin pomožnih snovi ter primerjali rezultate obeh metod med seboj in z rezultati iz literature.

Z metodo inverzne plinske kromatografije bomo določili nepolarne in polarne (specifične) površinske lastnosti pomožnih snovi. Izmerili bomo retencijske čase parnih faz različnih nepolarnih in polarnih topil z znanimi lastnostmi (standardi). Meritve bomo izvajali pri konstantni temperaturi 30 °C, pretok nosilnega plina (helij) in maso posameznih vzorcev pomožnih snovi pa bomo spreminjali glede na ustreznost dobljenih retencijskih časov. S pomočjo retencijskih časov adsorpcije nepolarnih in polarnih standardov bomo določili γ_S^D (nepolarna komponenta proste površinske energije trdne snovi) in ΔG_{SP}^0 (specifična komponenta standardne proste energije adsorpcije). S pomočjo ΔG_{SP}^0 pa bomo nato grafično določili kisle (k_a) in bazične (k_b) parametre proste površinske energije pomožnih snovi.

Z metodo sedeče kapljice bomo določili stične kote za vzorce pomožnih snovi z uporabo polarnih tekočin (voda, formamid) in nepolarne tekočine (dijodometan). Meritve bomo izvajali z uporabo merilnika stičnega kota DSA 100 Krüss pri sobni temperaturi 25 ± 2 °C in konstantnem volumnu kapljice tekočine 1 μ L. Iz povprečnih vrednosti stičnih kotov in vrednosti površinskih parametrov tekočin bomo, s pomočjo računalniškega programa DSA (angl. Drop Shape Analysis-analiza oblike kapljice) z uporabo Van Oss-ove metode, izračunali kisle (γ^+) in bazične (γ^-) prispevke k prosti površinski energiji izbranih pomožnih snovi.

3. MATERIALI IN METODE

3.1. MATERIALI

Tekočine:

- n-HEKSAN (C_6H_{14} , MM = 86,18 g/mol; Riedel-de Haën, Nemčija)
- n-HEPTAN (C_7H_{16} , MM = 100,21 g/mol; Sigma, Nemčija)
- n-OKTAN (C_8H_{18} , MM = 114,23 g/mol; Riedel-de Haën, Nemčija)
- n-NONAN (C_9H_{20} , MM = 128,26 g/mol; Merck, Nemčija)
- ACETON (C_3H_6O , MM = 58,08 g/mol; Pancreac Quimica, Španija)
- KLOROFORM ($CHCl_3$, MM = 119,37 g/mol; Merck, Nemčija)
- ETILACETAT ($C_4H_8O_2$, MM = 88,11 g/mol; Kemika, Hrvaška)
- THF (C_4H_8O , MM = 72,11 g/mol; Kemika, Hrvaška)
- BIDEŠTILIRANA VODA (Riedel-de Haën, Nemčija)
- DIJODOMETAN (CH_2I_2 , MM = 267,88 g/mol; Sigma, Nemčija)
- FORMAMID (CH_3NO , MM = 45,04 g/mol; Sigma, Nemčija)

Kakovost vseh naštetih tekočin je bila pro analysi (analizna kakovost) in je ustrezala zahtevam za plinsko kromatografijo.

Plini:

- METAN (CH_4 , MM = 16,04 g/mol; Messer, Slovenija)
- VODIK (H_2 ; Messer, Slovenija)
- HELIJ (He ; Messer, Slovenija)

Pomožne snovi:

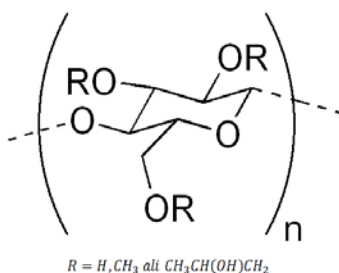
- HPMC, HIPROMELOZA (METHOCEL ® K4M CR; Colorcon, ZDA)

HPMC (hidroksipropilmetil celuloza) je poznana tudi kot hipromeloza in je delno O-metilirana in O-(2-hidroksipropilirana) molekula. Prisotna je v več oblikah, ki se razlikujejo v viskoznosti in obsegu substitucije. Molska masa HPMC se giblje od 10.000 do 1.500.000 g/mol.

HPMC je bel ali kremasto bel, zrnat, higroskopen prašek brez vonja in okusa (37).

Topna je v hladni vodi, kjer tvori koloidno raztopino, je pretežno netopna v kloroformu, etanolu (96%) in etru (38).

Uporablja se kot PS v FO za peroralno, okularno in topikalno uporabo. Peroralno se uporablja kot vezivo v tabletah, tvorilec filma za filmsko oblaganje tablet in kot hidrofilno ogrodje za prirejeno sproščanje. Okularno se uporablja kot zgoščevalec vehikla za kapljice za oko in umetne solze. V gelih in mazilih za topikalno uporabo pa se uporablja kot emulgirajoče in suspendirajoče sredstvo ter stabilizator (37).



Slika 8: Kemijska struktura HPMC.

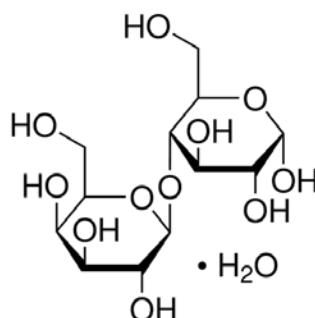
- LAKTOZA MONOHIDRAT (Dobavitelj: Lex, Slovenija)

Laktoza monohidrat je naravni disaharid, pridobljen iz mleka. Sestavljena je iz dveh delov, glukoze in galaktoze. Prisotna je v več oblikah, ki se razlikujejo v fizikalnih lastnostih (porazdelitev velikosti delcev in pretočne lastnosti).

Laktoza je bel do manj bel kristaliničen prašek, brez vonja in rahlo sladkega okusa (37).

Topna je v vodi in netopna v etanolu (96%) (38).

Uporablja se kot polnilo pri tabletah in kapsulah ali kot PS za izdelavo zrn z metodo vlažnega granuliranja (37).



Slika 9: Kemijska struktura laktoze monohidrata.

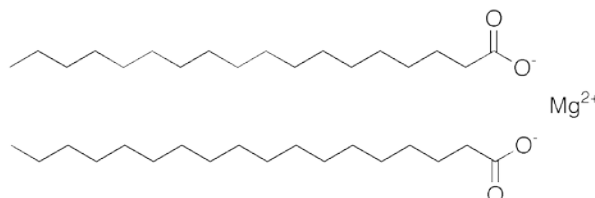
- MAGNEZIJEV STEARAT (Faci, Italija)

Magnezijev stearat je zmes magnezijevih soli različnih maščobnih kislin, ki je sestavljena predvsem iz stearinske in palmitinske kisline ter v manjših deležih tudi iz drugih maščobnih kislin.

Magnezijev stearat je zelo fin, bel, oborjen ali mlet prašek, komaj zaznavnega vonja po stearinski kislini in značilnega okusa. Je masten na otip in se hitro prilepi na kožo (37).

V vodi je praktično netopen (38).

Uporablja se kot mazivo, antiadheziv in drsilo pri tabletah in kapsulah (37).



Slika 10: Kemijska struktura magnezijevega stearata.

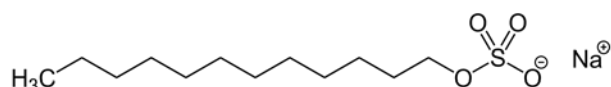
- NATRIJEV LAVRILSULFAT (Merck, Nemčija)

Natrijev lavrilsulfat je zmes natrijevih alkilsulfatov, ki je sestavljena pretežno iz natrijevega lavrilsulfata. Je anionska površinsko aktivna snov, ki se uporablja v številnih neparenteralnih FO.

Sestoji iz belih do bledorumenih kristalov, kosmičev ali praška gladkega otipa. Natrijev lavrilsulfat je milnatega grenkega okusa in rahlega vonja po maščobnih substancah (37).

Topen je v vodi in delno topen v etanolu (96%) (38).

Uporablja se kot detergent in sredstvo za močenje ter je učinkovit tako v kislih kot v bazičnih pogojih (37).



Slika 11: Kemijska struktura natrijevega lavrilsulfata.

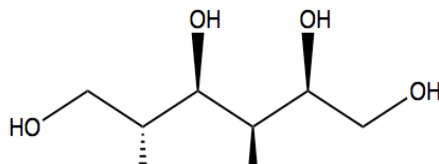
- SORBITOL (Sigma, Nemčija)

Sorbitol, poznan tudi kot D-glucitol, je alkohol s šestimi hidroksilnimi skupinami in je izomer manitola. Prisoten je v več polimorfnih oblikah kot so zrnca, kosmiči ali pelete.

Sorbitol je bel ali skoraj brezbarven, kristaliničen, higroskopen prašek, brez vonja in prijetnega sladkega okusa (37).

Topen je v vodi in praktično netopen v etanolu (96%) (38).

Uporablja se kot polnilo za tablete in kapsule, v proizvodnji tablet zaradi prijetnega, sladkega okusa, v kapsulah kot mehčalo za želatino, v sirupih za preprečevanje kristalizacije okoli pokrovčka stekleničk, v pripravkih za injiciranje in topikalnih pripravkih, terapevtsko kot osmotsko odvajalo, v analitiki kot označevalec za ocenjevanje pretoka krvi skozi jetra (37).



Slika 12: Kemijska struktura sorbitola.

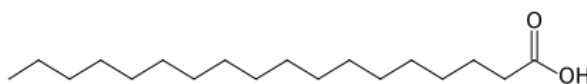
- STEARINSKA KISLINA (Merck, Nemčija)

Na tržišču je na voljo več različnih vrst stearinske kisline, ki imajo različno kemijsko sestavo (vsebujejo različne deleže stearinske kisline) in s tem različne fizikalno-kemijske lastnosti. Stearinska kislina je zmes stearinske in palmitinske kisline.

Je bela ali blago rumeno obarvana, nekoliko sijoča, kristalna trdna snov ali bel do rumeno-bel prašek in ima rahel vonj in okus, podoben loju (37).

Je netopna v vodi in topna v etanolu (96%) (38).

Uporablja se v FO za peroralno in topikalno uporabo. Peroralno se uporablja kot mazivo pri tabletah in kapsulah. V topikalnih pripravkih pa se uporablja kot emulgirajoče sredstvo. V glicerinskih svečkah se uporablja kot sredstvo za utrjevanje strukture (37).



Slika 13: Kemijska struktura stearinske kisline.

- RETALAC ® (Meggle, Nemčija)

Retalac je sestavljen iz dveh enakih delov, hipromeloze in mlete laktoze v obliki α -laktoze monohidrata.

Je bel ali skoraj bel prašek brez vonja.

Delno se topi v hladni vodi.

Retalac je PS, ki je bila zasnovana za izdelavo FO s prirejenim sproščanjem z metodo direktnega stiskanja in suhega granuliranja. Uporablja se tudi kot polnilo v kapsulah, za pripravo vodnih raztopin HPMC ter je zelo uporaben pri procesih iztiskanja in sferonizacije za izdelavo pelet (39).

3. 2. APARATURE

- Plinski kromatograf Agilent Technologies 6890N z avtomatskim injektorjem Agilent 7683 Series in avtomatskim vzorčevalnikom Agilent 7683 Series (Agilent technologies, ZDA)
- Osebni računalnik povezan s plinskim kromatografom in programom Chemstation
- Analizna tehtnica AND GH-300-EC (A&D instruments, Velika Britanija)
- Steklena volna za zatesnitev kolone (Supelco Inc, ZDA)
- Plastične pipete za odmerjanje topil
- Stresalnik VanKel 50-1100 (VanKel Industries, ZDA)
- Steklene koloni (dolžina 0,2 m, notranji premer 3,0 mm)
- Merilnik stičnega kota DSA 100 (Krüss, Nemčija)
- Osebni računalnik povezan z merilnikom stičnega kota in programom DSA
- Stiskalnica Specac (Specac Ltd., Velika Britanija)

3. 3. METODE

3. 3. 1. DOLOČANJE KISLOSTI IN BAZIČNOSTI TRDNIH POVRŠIN PS Z IGC

Uporabili smo inverzni plinski kromatograf Agilent Technologies 6890N (slika 14) s plamenskim ionizacijskim detektorjem (FID). Steklene koloni, notranjega premera 3 mm in dolžine 20 cm, smo najprej sprali z destilirano vodo ter nato še z izopropanolom in 5 minut sušili s sušilnikom. Koloni smo nato na eni strani zatesnili s silanizirano stekleno volno ter v vsako kolono s pomočjo lija natehtali vzorec. Nato smo koloni stresali s stresalnikom VanKel 50-1100 (1250 udarcev) ter jih namestili v inverzni plinski kromatograf. Glede na lego kolon v kromatografu smo jih, z namenom lažjega podajanja rezultatov, označili kot sprednja in zadnja kolona. Kot nosilni plin smo uporabili helij. Pretok nosilnega plina in maso natehtanih vzorcev smo spreminjali glede na dobljene retencijske čase. Merili smo tudi tlak na vходу v kolono ter predpostavili, da je tlak na izhodu kolone enak atmosferskemu tlaku. Z avtomatskim injektorjem smo v kolono injicirali parne faze standardov z znanimi lastnostmi (polarni: THF, etilacetat, aceton, kloroform; nepolarni: heksan, heptan, oktan, nonan). Vsa uporabljena topila so bila kakovosti pro analysi. Meritve smo izvajali pri konstantni temperaturi 30 °C. Za vsak vzorec smo izvedli po dve meritvi. S pomočjo FID smo nato določili retencijske čase, katerih vrednosti smo vstavili v Excelovo tabelo in izrisali dva grafa. Iz naklona grafa $RT \ln V_N (a\sqrt{\gamma_L^D})$ smo dobili vrednost nepolarnega dela površinske energije trdne snovi (γ_S^D). Pri določeni vrednosti $a\sqrt{\gamma_L^D}$ smo iz razlike v vrednosti $RT \ln V_N$ za polarni in nepolarni standard izračunali specifične energije adsorpcije ΔG_{SP}^0 . Iz grafa $-\frac{\Delta G_{SP}^0}{AN} \left(\frac{DN}{AN}\right)$ pa smo določili kisle (k_a) in bazične (k_b) parametre pomožnih snovi. Iz naklona premice smo dobili vrednost k_a , iz odseka na ordinati pa vrednost k_b .



Slika 14: Inverzni plinski kromatograf Agilent Technologies 6890N.

3. 3. 2. DOLOČANJE KISLOSTI IN BAZIČNOSTI TRDNIH POVRŠIN PS Z MOČENJEM

Pri določanju stičnih kotov za vzorce PS smo uporabili metodo sedeče kapljice. Z analizno tehtnico smo natehtali približno 200 mg vzorca in ga s stiskalnico Specac (slika 15) s silo 8 ton in tlakom $5,9 \cdot 10^8 \text{ N/m}^2$ stisnili v ploščico premera 13 mm (čas stiskanja 10 sekund). Za vsak vzorec smo izvedli meritve stičnega kota z uporabo polarnih tekočin (voda, formamid) in nepolarne tekočine (dijodometan). Na ploščico vzorca smo kanili kapljico tekočine (volumen $1 \mu\text{L}$), sliko zamrznili ter s pomočjo merilnika stičnega kota DSA 100 Krüss (slika 16) izmerili stični kot. Za vsak vzorec smo izvedli po 5 meritev z vsako od tekočin. Za izračun smo uporabili povprečne vrednosti stičnih kotov. Meritve smo izvajali pri sobni temperaturi $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. S pomočjo računalniškega programa DSA smo nato z Van Oss-ovo metodo, določili vrednosti kislih in bazičnih prispevkov k prosti površinski energiji PS.



Slika 15: Stiskalnica Specac za stiskanje praškov v ploščice.



Slika 16: Merilnik stičnega kota DSA 100 Krüss.

4. REZULTATI

4. 1. REZULTATI DOLOČANJA KISLOSTI IN BAZIČNOSTI TRDNIH POVRŠIN PS Z IGC

Preglednica 2: Retencijski časi (minute) standardov z znanimi lastnostmi za različne vzorce PS, tlaki, pretoki nosilnega plina in mase vzorcev sprednje kolone.

T=30°C, p ₀ = 1 atm	laktoza	Mg-stearat	Methocel	Na-lavrilsulfat	Retalac	sorbitol	stearinska kislina
masa (mg)	300	47	108	177	452	202	256
tlak (kPa)	21	80	19	21	14	13	15
pretok (mL/min)	5	30	15	15	5	5	5
metan	0,861	0,239	0,325	0,324	0,757	0,743	0,784
heksan	0,947	0,343	0,337	0,357	0,811	0,803	0,868
heptan	1,057	0,639	0,353	0,415	0,867	0,881	0,955
oktan	1,373	1,844	0,394	0,690	1,031	1,065	1,218
nonan	2,302	6,332	0,525	2,127	1,541	1,612	2,119
THF	1,515	0,666	0,428	0,405	1,112	0,985	0,961
etilacetat	1,767	0,447	0,414	0,386	1,241	0,984	0,924
aceton	1,341	0,383	0,528	0,372	1,137	0,884	0,922
kloroform	1,010	0,377	0,408	0,397	0,950	0,834	0,914

Preglednica 3: Retencijski časi (minute) standardov z znanimi lastnostmi za različne vzorce PS, tlaki, pretoki nosilnega plina in mase vzorcev zadnje kolone.

T=30°C, p ₀ = 1 atm	laktoza	Mg-stearat	Methocel	Na-lavrilsulfat	Retalac	sorbitol	stearinska kislina
masa (mg)	301	49	106	178	455	210	247
tlak (kPa)	11	68	8	9	5	3	5
pretok (mL/min)	5	30	15	15	5	5	5
metan	1,092	0,266	0,365	0,345	0,862	0,799	0,873
heksan	1,185	0,365	0,374	0,369	0,915	0,859	0,938
heptan	1,276	0,630	0,388	0,422	0,972	0,924	1,006
oktan	1,579	1,709	0,426	0,647	1,117	1,100	1,217
nonan	2,495	5,664	0,532	1,780	1,571	1,594	1,943
THF	1,737	0,667	0,463	0,399	1,228	0,993	1,023
etilacetat	2,053	0,489	0,453	0,389	1,352	0,991	0,984
aceton	1,583	0,393	0,568	0,381	1,273	0,925	0,969
kloroform	1,238	0,408	0,438	0,407	1,030	0,888	0,969

Preglednica 4: Vrednosti nepolarne komponente proste površinske energije (γ_S^D) vzorcev PS ter Pearson-ovi koeficienti korelacije (sprednja in zadnja kolona).

vzorec	Sprednja kolona		Zadnja kolona	
	γ_S^D (mJ/m ²)	R ²	γ_S^D (mJ/m ²)	R ²
laktoza	30,39	0,9981	28,49	0,9922
Mg-stearat	63,53	0,9999	61,22	0,9992
Methocel ®	29,94	0,9985	32,48	0,9997
Na-lavrilsulfat	61,56	0,9922	63,80	0,9971
Retalac ®	27,41	0,9943	25,51	0,9960
sorbitol	26,96	0,9993	25,54	0,9971
stearinska kislina	29,24	0,9921	30,03	0,9920

Preglednica 5: Vrednosti specifične komponente standardne proste energije adsorpcije (ΔG_{SP}^0) polarnih standardov na vzorcih PS (sprednja kolona).

vzorec	ΔG_{SP}^0 (J/mol)			
	THF	etilacetat	aceton	kloroform
laktoza	5764,97	8161,37	8656,61	1262,68
Mg-stearat	4321,78	4244,82	6200,15	475,30
Methocel ®	6049,74	7198,23	11344,21	4721,74
Na-lavrilsulfat	3380,44	5518,06	8012,86	1914,95
Retalac ®	5454,98	8001,66	9456,98	3130,17
sorbitol	4081,13	5411,13	5995,18	887,69
stearinska kislina	2645,81	3984,09	6109,52	1026,76

Preglednica 6: Vrednosti specifične komponente standardne proste energije adsorpcije (ΔG_{SP}^0) polarnih standardov na vzorcih PS (zadnja kolona).

vzorec	ΔG_{SP}^0 (J/mol)			
	THF	etilacetat	aceton	kloroform
laktoza	5639,55	8552,06	8994,35	1090,26
Mg-stearat	4275,08	4504,42	5915,97	672,07
Methocel ®	6589,03	7637,41	11826,50	5099,64
Na-lavrilsulfat	3034,23	4938,50	7508,07	2221,08
Retalac ®	5515,52	7838,19	9355,68	2795,90
sorbitol	3582,72	5083,19	5966,04	891,80
stearinska kislina	2888,10	4092,97	5920,15	912,16

Preglednica 7: Vrednosti kislih (k_a) in bazičnih (k_d) parametrov vzorcev PS (sprednja in zadnja kolona).

vzorec	Sprednja kolona		Zadnja kolona	
	k_a	k_d	k_a	k_d
laktoza	0,044	0,316	0,061	0,351
Mg-stearat	0,049	0,127	0,048	0,137
Methocel ®	0,062	0,417	0,069	0,425
Na-lavrilsulfat	0,033	0,348	0,029	0,334
Retalac ®	0,057	0,370	0,058	0,374
sorbitol	0,045	0,201	0,038	0,219
stearinska kislina	0,027	0,241	0,030	0,220

Preglednica 8: Povprečne vrednosti nepolarne (γ_S^D) in polarne (ΔG_{SP}^0) komponente proste površinske energije ter povprečne vrednosti kislih (k_a) in bazičnih (k_d) parametrov vzorcev PS na obeh kolonah.

vzorec	γ_S^D (mJ/m ²)	ΔG_{SP}^0 (J/mol)				k_a	k_d	$\frac{k_d}{k_a}$
		THF	etilacetat	aceton	kloroform			
laktoza	29,44	5702,26	8356,72	8825,48	1176,47	0,053	0,334	6,30
Mg-stearat	62,38	4298,43	4374,62	6058,06	573,69	0,049	0,132	2,69
Methocel ®	31,21	6319,39	7417,82	11585,36	4910,69	0,066	0,421	6,38
Na-lavrilsulfat	62,68	3207,34	5228,28	7760,47	2068,02	0,031	0,341	11,00
Retalac ®	26,46	5485,25	7920,11	9406,33	2964,54	0,058	0,372	6,41
sorbitol	26,25	3831,93	5247,16	5980,61	889,75	0,042	0,210	5,00
stearinska kislina	29,64	2766,96	4038,53	6014,84	969,46	0,029	0,231	7,97

4. 2. REZULTATI DOLOČANJA KISLOSTI IN BAZIČNOSTI TRDNIH POVRŠIN PS Z MOČENJEM (METODA SEDEČE KAPLJICE)

Preglednica 9: Površinske napetosti in komponente površinske napetosti, uporabljenih tekočin, za izračun površinske energije trdne snovi po Van Oss-ovi metodi (26, 27).

	γ_L^{TOT} (mJ/m ²)	γ^{LW} (mJ/m ²)	γ^{AB} (mJ/m ²)	γ^+ (mJ/m ²)	γ^- (mJ/m ²)
voda	72,8	21,8	51,0	25,5	25,5
formamid	58,0	39,0	19,0	2,28	39,6
dijodometan	50,8	50,8	0	0	0

γ_L^{TOT} ... površinska napetost uporabljenih tekočin

γ^{LW} ... Lifshitz-van der Waalsova komponenta površinske napetosti

γ^{AB} ... kislinsko-bazična komponenta površinske napetosti

γ^+ ... kisli prispevki k površinski napetosti

γ^- ... bazični prispevki k površinski napetosti

Preglednica 10: Vrednosti stičnih kotov za laktozo in Mg-stearat.

LAKTOZA stični koti θ (°)			Mg-STEARAT stični koti θ (°)		
voda	formamid	dijodometan	voda	formamid	dijodometan
12,0	11,5	27,9	89,4	97,5	71,8
8,3	9,1	32,7	89,9	101,5	70,4
6,7	10,5	34,4	93,3	99,8	71,9
10,2	10,2	35,3	89,8	98,9	71,5
9,1	10,0	32,8	92,4	94,5	71,0

Preglednica 11: Vrednosti stičnih kotov za Methocel ® in Na-lavrilsulfat.

METHOCEL ® stični koti θ (°)			Na-LAVRILSULFAT stični koti θ (°)		
voda	formamid	dijodometan	voda	formamid	dijodometan
73,8	67,7	41,2	42,2	42,1	68,4
71,8	66,9	39,5	41,8	40,1	67,1
73,0	68,7	40,8	41,7	39,9	68,8
71,3	66,0	41,0	41,7	39,4	67,6
65,8	68,4	39,1	41,8	41,8	68,3

Preglednica 12: Vrednosti stičnih kotov za Retalac ® in sorbitol.

RETALAC ® stični koti θ (°)			SORBITOL stični koti θ (°)		
voda	formamid	dijodometan	voda	formamid	dijodometan
21,8	26,0	19,8	6,6	8,6	46,8
23,3	27,0	22,3	9,6	11,5	52,0
23,9	19,6	28,2	13,8	13,8	42,8
19,8	21,8	24,3	13,5	14,2	49,6
23,7	21,5	26,1	13,5	12,0	45,2

Preglednica 13: Vrednosti stičnih kotov za stearinsko kislino.

STEARINSKA KISLINA stični koti θ (°)

voda	formamid	dijodometan
75,4	81,4	62,0
70,5	80,7	64,7
74,1	82,3	60,8
68,1	81,3	62,6
68,8	92,8	67,1

Preglednica 14: Povprečne vrednosti stičnih kotov za vzorce PS, merjenih z metodo sedeče kapljice in standardne deviacije.

Stični koti θ (°)

vzorec	voda	formamid	dijodometan
laktoza	9,3 ± 1,8	10,3 ± 0,8	32,6 ± 2,6
Mg-stearat	91,0 ± 1,6	98,4 ± 2,4	71,3 ± 0,6
Methocel ®	71,0 ± 2,8	67,5 ± 1,0	40,3 ± 0,9
Na-lavrilsulfat	41,8 ± 0,2	40,7 ± 1,1	68,0 ± 0,6
Retalac ®	22,5 ± 1,5	23,2 ± 2,8	24,1 ± 2,9
sorbitol	11,4 ± 3,2	11,9 ± 2,2	47,3 ± 3,2
stearinska kislina	71,4 ± 2,9	83,7 ± 4,6	63,4 ± 2,2

Preglednica 15: Komponente proste površinske energije vzorcev PS, računane po Van Oss-ovi metodi, za kombinacijo tekočin voda/formamid/dijodometan.

vzorec	$\gamma_S^{TOT}(mJ/m^2)$	$\gamma^{LW}(mJ/m^2)$	$\gamma^{AB}(mJ/m^2)$	$\gamma^+(mJ/m^2)$	$\gamma^-(mJ/m^2)$
laktoza	55,57	43,11	12,46	0,71	54,91
Mg-stearat	5,24	22,15	-16,91	3,41	20,96
Methocel ®	29,80	39,46	-9,65	1,03	22,67
Na-lavrilsulfat	45,81	24,00	21,81	2,97	40,06
Retalac ®	51,34	46,47	4,88	0,11	52,24
sorbitol	56,53	35,77	20,76	2,01	53,70
stearinska kislina	7,58	26,62	-19,04	2,31	39,17

5. RAZPRAVA

5. 1. VREDNOTENJE REZULTATOV DOLOČANJA KISLOSTI IN BAZIČNOSTI TRDNIH POVRŠIN PS Z IGC

Retencijski čas in nepolarna komponenta proste površinske energije (γ_S^D)

V preglednicah 2 in 3 so zbrani rezultati retencijskih časov standardov za vzorce PS. Pri določanju retencijskih časov smo se srečevali s težavo prevelikih ali premajhnih vrednosti retencijskih časov, ki ne omogočajo natančnih rezultatov. Da bi se temu izognili, smo spreminjali maso vzorca in pretok nosilnega plina. S povečanjem mase se retencijski časi podaljšajo in obratno. S povečanjem pretoka pa se retencijski časi skrajšajo in obratno.

Vrednosti retencijskih časov smo vstavili v tabelo in iz naklona izrisanega grafa $RT \ln V_N(a\sqrt{\gamma_L^D})$ dobili vrednosti γ_S^D , ki so po velikosti od največje proti najmanjši zbrane v preglednici 16. Najvišjo vrednost γ_S^D ima Na-lavrilsulfat, najnižjo pa sorbitol. Pričakovali bi, da bo vrednost γ_S^D Na-lavrilsulfata nižja, saj je le-ta dobro topen v vodi, vrednost γ_S^D stearinske kisline pa višja, ker je le-ta slabo topna v vodi. Vzroka temu odstopanju nismo našli. Ker pa so rezultati treh pomožnih snovi blizu literaturnim sklepamo, da naš pristop nima metodološke napake in obremenitve rezultatov.

Preglednica 16: Vrednosti napolarne komponente proste površinske energije vzorcev PS (γ_S^D) ter podatki iz literature (21, 29, 40).

vzorec	γ_S^D (mJ/m ²)	literatura
Na-lavrilsulfat	62,68	
Mg-stearat	62,38	50,00
Methodol[®]	31,21	33,80
stearinska kislina	29,64	
laktoza	29,44	31,30
Retalac[®]	26,46	
sorbitol	26,25	

Napaka določitve γ_S^D je odvisna od natančnosti določitve vrednosti naklona. 10% napaka pri določanju naklona ima za posledico 20% napako vrednosti γ_S^D (14).

Specifična komponenta proste površinske energije (ΔG_{SP}^0) ter kisli (k_a) in bazični (k_d) parametri

Za določanje ΔG_{SP}^0 , katere vrednosti so zbrane v preglednicah 5 in 6, smo uporabili naslednje polarne standarde: THF, etilacetat, aceton in kloroform.

ΔG_{SP}^0 smo pri določeni vrednosti $a\sqrt{\gamma_L^D}$ izračunali iz razlike v vrednosti $RT \ln V_N$ za polarni in nepolarni standard. Iz grafa $-\frac{\Delta G_{SP}^0}{AN^*}$ v odvisnosti od $\frac{DN}{AN^*}$ pa smo določili k_a in k_d , katerih vrednosti so zbrane v preglednici 7.

Na vseh grafih se točka acetona nahaja nad referenčno premico in točka kloroforma pod njo, kar nakazuje na problem izbire površine molekule za izračun k_a in k_d vrednosti. Za boljše rezultate bi bilo zato potrebno uporabiti večje število polarnih standardov, s čimer bi dobili več točk na premici in s tem manjši vpliv posameznih topil na končni rezultat (20).

V preglednici 17 smo zbrali vrednosti k_a in k_d od največjih proti najmanjšim.

Preglednica 17: Vrednosti kislih (k_a) in bazičnih (k_d) parametrov vzorcev PS.

vzorec	k_a	vzorec	k_d
Methocel ®	0,066	Methocel ®	0,421
Retalac ®	0,058	Retalac ®	0,372
laktoza	0,053	Na-lavrilsulfat	0,341
Mg-stearat	0,049	laktoza	0,334
sorbitol	0,042	stearinska kislina	0,231
Na-lavrilsulfat	0,031	sorbitol	0,210
stearinska kislina	0,029	Mg-stearat	0,132

V primeru visoke vrednosti k_d ne moremo sklepati na nizko vrednost k_a , zato za določanje kislosti in bazičnosti trdne površine uporabimo razmerje k_d/k_a . V primeru $k_d/k_a > 1$ površina izkazuje bazične lastnosti, v primeru $k_d/k_a < 1$ pa kisle (18).

V preglednici 18 smo zbrali vrednosti razmerja k_d/k_a ter podatke o kislosti in bazičnosti PS iz literature (6).

Preglednica 18: Vrednosti razmerja k_d/k_a za vzorce PS ter podatki o kislosti in bazičnosti PS iz literature (6).

vzorec	$\frac{k_d}{k_a}$	literatura
Na-lavrilsulfat	11,00	bazičen
stearinska kislina	7,97	kisla
Retalac ®	6,41	kisel
Methocel ®	6,38	kisel
laktoza	6,30	kisla
sorbitol	5,00	kisel
Mg-stearat	2,69	bazičen

Glede na to, da so vse vrednosti razmerja k_d/k_a večje od 1, vse PS izkazujejo bazičen značaj. V primerjavi s podatki iz literature se samo vrednosti razmerja za Na-lavrilsulfat in Mg-stearat skladata s podatki.

Telco in Hickey sta pokazala, da je treba vrednosti k_a in k_d izračunati iz specifične entalpije adsorpcije, ne pa iz specifične proste energije adsorpcije, saj slednja ne daje najbolj natančnih rezultatov. Uporaba proste energije adsorpcije namesto entalpije adsorpcije je bila poenostavitev, ki se je začela pojavljati v farmacevtski literaturi, da bi se izognili izvedbi IGC pri različnih temperaturah (16). V našem primeru bi bilo morda smiselno meritve IGC izvajati pri več različnih temperaturah z namenom pridobitve natančnejših vrednosti k_a in k_d .

Kislost in bazičnost PS pa lahko določimo tudi s pomočjo vrednosti ΔG_{SP}^0 THF, ki izkazuje bazične lastnosti in tako vstopa v interakcije s kislno površino, ter s pomočjo vrednosti ΔG_{SP}^0 kloroforma, ki izkazuje kisle lastnosti in vstopa v interakcije z bazično površino. V primeru kisljih PS torej pričakujemo višje vrednosti ΔG_{SP}^0 THF, v primeru bazičnih pa višje vrednosti ΔG_{SP}^0 kloroforma.

V preglednici 19 so po velikosti od največje do najmanjše zbrane vrednosti k_a in k_d ter vrednosti ΔG_{SP}^0 THF in kloroforma.

Preglednica 19: Vrednosti kislih (k_a) in bazičnih (k_d) parametrov proste površinske energije vzorcev PS ter vrednosti specifične komponente standardne proste energije adsorpcije (ΔG_{SP}^0) THF in kloroforma.

vzorec	k_a	vzorec	ΔG_{SP}^0 ($\frac{J}{mol}$) THF	vzorec	k_d	vzorec	ΔG_{SP}^0 ($\frac{J}{mol}$) kloroform
Methocel ®	0,066	Methocel ®	6319,39	Methocel ®	0,421	Methocel ®	4910,69
Retalac ®	0,058	laktoza	5702,26	Retalac ®	0,372	Retalac ®	2964,54
laktoza	0,053	Retalac ®	5485,25	Na-lavrilsulfat	0,341	Na-lavrilsulfat	2068,02
Mg-stearat	0,049	Mg-stearat	4298,43	laktoza	0,334	laktoza	1176,47
sorbitol	0,042	sorbitol	3831,93	stearinska k.	0,231	stearinska k.	969,46
Na-lavrilsulfat	0,031	Na-lavrilsulfat	5228,28	sorbitol	0,210	sorbitol	889,75
stearinska k.	0,029	stearinska k.	2766,96	Mg-stearat	0,132	Mg-stearat	573,69

Vrednosti k_a in ΔG_{SP}^0 THF, z izjemo laktoze in Retalac-a ®, razvrščajo PS v enakem vrstem redu glede na kislost. Tudi vrednosti k_d in ΔG_{SP}^0 kloroforma razvrščajo PS v enakem vrstnem redu glede na bazičnost, vendar pa v primerjavi s podatki o kislosti in bazičnosti PS iz literature, ki so podani v preglednici 18, ne opažamo logične povezave.

5. 2. VREDNOTENJE REZULTATOV DOLOČANJA KISLOSTI IN BAZIČNOSTI TRDNIH POVRŠIN PS Z MOČENJEM (METODA SEDEČE KAPLJICE)

Problem določanja površinske energije trdnih snovi z močenjem nastane zaradi omejitev metode merjenja stičnega kota in izbire metode za izračun površinske energije (27).

Metoda sedeče kapljice predhodno zahteva stiskanje praška v ploščice, s čimer pride do spremembe površinskih lastnosti praška, ki vplivajo na merjenje stičnega kota. Pri večjem tlaku stiskanja pričakujemo manjše vrednosti stičnih kotov in obratno. V našem primeru smo z izjemo stearinske kisline uporabili silo stiskanja 8 ton. Za stearinsko kislino pa smo uporabili nižjo silo, saj pri višji sili ploščice nismo mogli ločiti od pečata stiskalnice. Posledično pričakujemo višje vrednosti stičnih kotov stearinske kisline. Vrednosti stičnih kotov za stearinsko kislino, ki so zbrane v preglednici 13 se ujemajo z našimi pričakovanji.

Različne kombinacije tekočin, ki jih uporabljamo za merjenje stičnega kota, vodijo do različnih vrednosti proste površinske energije trdnih snovi. Za izračun proste površinske energije trdnih snovi z Van Oss-ovo metodo se je kot najbolj ugodna in optimalna izbira izkazala uporaba kombinacije dijodometana, vode in še ene polarne tekočine (etilenglikol, formamid ali glicerol) (27). V našem primeru smo uporabili kombinacijo tekočin voda/formamid/dijodometan in se tako izognili dodatnim težavam pri določanju vrednosti stičnih kotov, ki se pojavijo zaradi napačne izbire tekočin.

V preglednici 14 so zbrane povprečne vrednosti stičnih kotov PS. Za laktozo, Methocel®, Na-lavrilsulfat in sorbitol, ki so dobro topni v vodi, pričakujemo manjše vrednosti stičnih kotov s polarnima vodo in formamidom kot z nepolarnim dijodometanom. Zmanjšanje stičnega kota polarnih tekočin lahko razložimo s hidracijo in polarnimi interakcijami (35). Rezultati z izjemo Methocel-a® ustrezajo našim pričakovanjem. Vrednosti stičnih kotov za posamezne PS v literaturi nismo zasledili.

Greiveldinger in Shanahan sta ugotovila, da je Van Oss-ova metoda za izračun parametrov proste površinske energije iz matematičnega vidika pomanjkljiva. Pojavljale so se namreč težave povezane s pojavom kvadratnih korenov negativnih vrednosti in prevlado bazičnih površin, kot posledica lastnosti vode, ki v enaki meri izkazuje kisle in bazične lastnosti (26). Negativne vrednosti γ^{AB} v preglednici 15, kjer so zbrane vrednosti komponent proste površinske energije računanih po Van Oss-ovi metodi, potrjujejo zgornje ugotovitve.

Nepolarna Lifshitz-van der Waals-ova komponenta proste površinske energije (γ^{LW})

V preglednici 20 so, po velikosti od največje proti najmanjši, zbrane vrednosti γ^{LW} .

Preglednica 20: Vrednosti nepolarne, Lifshitz-van der Waals-ove komponente proste površinske energije vzorcev PS (γ^{LW}).

vzorec	γ^{LW} (mJ/m ²)
Retalac ®	46,47
laktoza	43,11
Methocel ®	39,46
sorbitol	35,77
stearinska kislina	26,62
Na-lavrilsulfat	24,00
Mg-stearat	22,15

Najvišjo vrednost γ^{LW} ima Retalac ®, najnižjo pa Mg-stearat. V naslednjem poglavju bomo primerjali vrednosti γ^{LW} z vrednostmi γ_S^D , ki smo jih določili z metodo IGC.

Kisli (γ^+) in bazični (γ^-) prispevki k prosti površinski energiji

V preglednici 21 so, po velikosti od največjih proti najmanjšim, zbrane vrednosti γ^+ in γ^- ter podatki o kislosti in bazičnosti PS iz literature (6).

Preglednica 21: Vrednosti kislih (γ^+) in bazičnih (γ^-) prispevkov k prosti površinski energiji vzorcev PS ter podatki o kislosti in bazičnosti PS iz literature (6).

vzorec	γ^+	literatura	vzorec	γ^-	literatura
Mg-stearat	3,41	bazičen	laktoza	54,91	kisla
Na-lavrilsulfat	2,97	bazičen	sorbitol	53,70	kisel
stearinska k.	2,31	kisla	Retalac ®	52,24	kisel
sorbitol	2,01	kisel	Na-lavrilsulfat	40,06	bazičen
Methocel ®	1,03	kisel	stearinska k.	39,17	kisla
laktoza	0,71	kisla	Methocel ®	22,67	kisel
Retalac ®	0,11	kisel	Mg-stearat	20,96	bazičen

Glede na visoke vrednosti γ^- , v preglednici 21, vse PS izkazujejo bazičen značaj. V primerjavi s podatki iz literature samo Na-lavrilsulfat in Mg-stearat ustrezata podatkom.

5. 3. PRIMERJAVA REZULTATOV OBEH METOD

Omenili smo že, da v primeru merjenja stičnega kota z metodo sedeče kapljice praške stisnemo v ploščice. Problem stiskanja predstavljajo spremenjene lastnosti površine vzorca. V primeru IGC pa vzorci praška ne potrebujejo predhodne obdelave. Iz tega razloga tudi ni možno pričakovati, da bodo rezultati numerično enaki.

Merjenje stičnega kota zagotavlja informacije o površinski energiji, ki je izračunana na podlagi večje površine (na makroskopski ravni). Določanje površinske energije z metodo IGC pri neskončnem razredčenju standarda pa zagotavlja informacije z omejenih in visoko-energetskih območij na površini (mikroskopska raven) (18). Posledično imajo pri merjenju stičnega kota lastnosti vzorca večji vpliv na rezultat.

V primeru IGC sta temperatura in relativna vlažnost dobro kontrolirani in tako ne vplivata na rezultate. Pri merjenju stičnega kota pa so vrednosti stičnih kotov odvisne tudi od pogojev pri katerih izvajamo meritve.

Nepolarno komponento proste površinske energije obeh metod je mogoče neposredno primerjati. Primerjava polarne komponente proste površinske energije pa v literaturi še ni bila obravnavana (41). Polarna komponenta proste površinske energije ima namreč pri merjenju stičnega kota enoto mJ/m^2 . V primeru IGC pa so polarne lastnosti površine opisane z vrednostmi k_a in k_d , ki se nanašata na elektron akceptorske in elektron donorske lastnosti površine in nimata enot. Neposredna primerjava polarne komponente obeh metod torej ni mogoča (18).

Kot smo že prej omenili, bomo v tem poglavju primerjali nepolarni komponenti proste površinske energije obeh metod. V preglednici 22 so po velikosti od največjih proti najmanjšim zbrane vrednosti γ_S^D , ki smo jih določili z metodo IGC in vrednosti γ^{LW} , ki smo jih določili z merjenjem stičnega kota z metodo sedeče kapljice.

Preglednica 22: Vrednosti nepolarne komponente proste površinske energije vzorcev PS (γ_S^D) določene z metodo IGC in vrednosti nepolarne Lifshitz-van der Waals-ove komponente proste površinske energije vzorcev PS (γ^{LW}) določene z metodo sedeče kapljice.

vzorec	γ_S^D (mJ/m ²)	vzorec	γ^{LW} (mJ/m ²)
Na-lavrilsulfat	62,68	Retalac ®	46,47
Mg-stearat	62,38	laktoza	43,11
Methocel ®	31,21	Methocel ®	39,46
stearinska kislina	29,64	sorbitol	35,77
laktoza	29,44	stearinska kislina	26,62
Retalac ®	26,46	Na-lavrilsulfat	24,00
sorbitol	26,25	Mg-stearat	22,15

Nepolarna komponenta proste površinske energije vzorcev PS, določena z metodo IGC in merjenjem stičnega kota, naj bi razvrščala vzorce PS v enakem vrstnem redu. Pričakujemo tudi, da bo nepolarna komponenta proste površinske energije PS, pridobljena z metodo IGC, višjih vrednosti od tistih, ki smo jih dobili z merjenjem stičnega kota. Molekule standardov, pri metodi IGC, namreč preferenčno zasedajo višje-energetska mesta na površini PS (18). Rezultati v preglednici 22 se ne ujemajo z našimi pričakovanji.

6. SKLEP

V diplomski nalogi smo z inverzno plinsko kromatografijo (IGC) in merjenjem stičnega kota z metodo sedeče kapljice določali kislost in bazičnost trdnih površin nekaterih farmacevtskih pomožnih snovi. Pomožne snovi (laktoza monohidrat, magnezijev stearat, natrijev lavrilsulfat, sorbitol in stearinska kislina) smo izbrali glede na literaturo (6), kjer so Govindarajan in sodelavci kislost in bazičnost določali z merjenjem pH vodnih raztopin in suspenzij teh pomožnih snovi. Glede na pogosto uporabo v farmacevtski industriji, smo kislost in bazičnost trdnih površin določali tudi za Retalac® in hidroksipropilmetil celulozo (Methocel®). Rezultate obeh metod (IGC in merjenje stičnega kota z metodo sedeče kapljice) smo primerjali med seboj in tudi z literaturnimi podatki, kadar so le-ti bili dostopni.

Samo nekatere vrednosti površinske energije in njenih komponent (tudi kisli in bazični parametri ter prispevki), določene z obema metodama, se ujemajo z literaturnimi podatki. Neposredna primerjava nepolarne komponente proste površinske energije obeh metod (γ_S^D in γ^{LW}), kjer pričakujemo razvrstitev pomožnih snovi v enakem vrstnem redu in višje vrednosti γ_S^D v primerjavi z γ^{LW} , se ne ujema z našimi pričakovanji. Polarne komponente proste površinske energije obeh metod (k_a in k_d ter γ^+ in γ^-) neposredno ne moremo primerjati med seboj.

Glede na dobljene rezultate, ki se glede na uporabljeno metodo med seboj ne ujemajo, zaenkrat ne moremo zaključiti katera izmed njih je bolj ustrezna za določanje kislosti in bazičnosti trdnih površin pomožnih snovi. Vsaka od uporabljenih metod ima namreč določene pomanjkljivosti. Pri metodi sedeče kapljice so to predvsem: stiskanje praška, relativna vlažnost zraka med merjenjem, hrapavost površine. Nekoliko bolj primerna naj bi bila metoda IGC, zaradi avtomatizacije, nadzorovanih pogojev merjenja in manjšega vpliva na rezultat (vrednotenje le omejenih in visoko-energetskih območij na površini).

Sklepamo lahko, da neposredna primerjava kislosti in bazičnosti pomožnih snovi z rezultati objavljenimi v literaturi (6) ni ustrezna, saj so Govindarajan in sodelavci merili pH suspenzij pomožnih snovi. Pri suspenzijah namreč govorimo o drugačni medfazni površini z drugačno medfazno energijo in posledično z drugačnimi vrednostmi kislih in bazičnih parametrov kot jih dobimo v primeru trdnih praškastih površin.

Meritve z metodo IGC bi lahko z namenom pridobitve natančnejših rezultatov k_a in k_d izvajali pri več različnih temperaturah. Prav tako bi lahko za natančnejše vrednosti k_a in k_d uporabili večje število polarnih standardov z namenom manjšega vpliva posameznega standarda na rezultate.

Namesto merjenja stičnega kota z metodo sedeče kapljice, ki zahteva stiskanje praška v ploščice in posledično, zaradi spremenjenih površinskih lastnosti praška, ne zagotavlja natančnih rezultatov, bi lahko uporabili tudi druge alternativne metode merjenja stičnega kota (Washburn-ova metoda).

Kljub naštetim omejitvam posameznih metod, ki so na voljo za določanje lastnosti trdnih površin je smiselna graditev baz podatkov, ki obsegajo te lastnosti v kombinaciji z ugotovljenimi interakcijami med različnimi površinami v farmacevtskih oblikah, kar bi v prihodnje omogočalo napovedovanje inkompatibilnosti med površinami večkomponentnih formulacij.

7. LITERATURA

- 1.) Obreza A, Bevc B, Baumgartner S, Sollner Dolenc M, Humar M: Pomožne snovi v farmaciji: od njihovega poimenovanja do vloge v zdravlju, spletni učbenik za študente farmacije, industrijske farmacije in kozmetologije, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2015: 7-8.
- 2.) Pifferi G, Santoro P, Pedrani M: Quality and functionality of excipients. *Il Farmaco* 1999; 54: 1-14.
- 3.) Elder D P, Kuentz M, Holm R: Pharmaceutical excipients-quality, regulatory and biopharmaceutical considerations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2016; 87: 1-12.
- 4.) Trojak A, Planinšek O, Srčič S: Uporabnost parametra proste površinske energije v farmacevtsko tehnoloških procesih. *Farmaceutski vestnik* 2000; 51: 277-88.
- 5.) Bharate S S, Bharate S B, Bajaj A N: Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. *J. Excipients and Food Chem.* 2010; 1: 3-26.
- 6.) Govindarajan R, Landis M, Hancock B, Gatlin L A, Suryanaryanan R, Shalaev E Y: Surface acidity and solid-state compatibility of excipients with an acid sensitive API: Case of atorvastatin calcium. *AAPS PharmSciTech* 2014; 16: 354-63.
- 7.) Adamson A W: *Physical Chemistry of surfaces*, John Willey and Sons, 1990: 291-320, 385-411, 493-498, 560-83.
- 8.) Buckton G: *Interfacial phenomena in drug delivery and targeting*, Hardwood Academic Publishers, 1995: 1, 2, 27-114.
- 9.) Myers D: *Surfaces, interfaces and colloids*, John Willey and Sons, 1999: 8-20, 125-139, 179-193, 415-35.
- 10.) Zadnik J, Planinšek O, Kunaver M, Srčič S: Uporaba inverzne plinske kromatografije v farmaciji. *Farmaceutski vestnik* 2003; 54: 207-18.
- 11.) Swarbrick J: *Encyclopedia of pharmaceutical technology*, 3rd edition, vol. 1, Informa Healthcare, ZDA, 2007: 73-108.
- 12.) Sinko P J: *Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences*, 5th edition, Lippincott Williams and Wilkins, ZDA, 2006: 437-67.
- 13.) Mohammadi-Jam S, Waters K E: Inverse gas chromatography applications: A review. *Advances in Colloid and Interface Science* 2014; 212: 21-44.

- 14.) Voelkel A, Strzemiecka B, Adamska K, Milczewska K: Inverse gas chromatography as source of physicochemical data. *Journal of Chromatography A* 2009; 1216: 1551-66.
- 15.) Sen A: Inverse gas chromatography, DESIDOC, New Delhi, 2005: 1-29, 171-176.
- 16.) Jones M D, Young P, Traini D: The use of inverse gas chromatography for the study of lactose and pharmaceutical materials used in dry powder inhalers. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2012; 64: 285-93.
- 17.) Voelkel A: Inverse gas chromatography in characterization of surface. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 2004; 72: 205-7
- 18.) Ahfat N M, Buckton G, Burrows R, Ticehurst M D: An exploration of inter-relationships between contact angle, inverse phase gas chromatography and triboelectric charging data. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2000; 9: 271-6.
- 19.) Kunaver M, Zadnik J, Planinšek O, Srčič S: Inverse gas chromatography-a different approach to characterization of solids and liquids. *Acta Chim. Slov.* 2004; 51: 373-94.
- 20.) Planinšek O, Zadnik J, Rozman Š, Kunaver M, Dreu R, Srčič S: Influence of inverse gas chromatography measurement conditions on surface energy parameters of lactose monohydrate. *International Journal of Pharmaceutics* 2003; 256: 17-23.
- 21.) Baumgartner S, Planinšek O, Srčič S, Kristl J: Analysis of surface properties of cellulose ethers and drug release from their matrix tablets. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2006; 27: 375-83.
- 22.) Swarbrick J: *Encyclopedia of pharmaceutical technology*, 3rd edition, vol. 14, Informa Healthcare, ZDA, 2007: 298-301.
- 23.) *European Pharmacopoeia*, 8th edition, Methods of analysis 2. 9. 45. Wettability of porous solids including powders: 365-7.
- 24.) Yildirim Erbil H: The debate on the dependence of apparent contact angles on drop contact area or three-phase contact line: A review. *Surface Science Reports* 2014; 69: 325-65.
- 25.) Rillosi M, Buckton G: Modelling mucoadhesion by use of surface energy terms obtained by the Lewis acid-Lewis base approach. *International Journal of Pharmaceutics* 1995; 117: 75-84.

- 26.) Ahadian, S, Mohseni M, Moradian S: Ranking proposed models for attaining surface free energy of powders using contact angle measurements. *International Journal of Adhesion and Adhesives* 2009; 29: 458-69.
- 27.) Planinšek O, Trojak A, Srčič S: The dispersive component of the surface free energy of powders assessed using inverse gas chromatography and contact angle measurements. *International Journal of Pharmaceutics* 2001; 221: 211-7.
- 28.) Dove J W, Buckton G, Doherty C: A comparison of two contact angle measurement methods and inverse gas chromatography to assess the surface energies of theophylline and caffeine. *International Journal of Pharmaceutics* 1996; 138: 199-206.
- 29.) Buckton G, Gill H: The importance of surface energetics of powders for drug delivery and the establishment of inverse gas chromatography. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2007; 59: 1474-9.
- 30.) Patera J, Zamostny P, Litva D, Berova Z, Belohlav Z: Evaluation of functional characteristics of lactose by inverse gas chromatography. *Procedia Engineering* 2012; 42: 644-50.
- 31.) Ohta M, Buckton G: The use of inverse gas chromatography to assess the acid-base contributions to surface energies of cefditoren pivoxil and methacrylate copolymers and possible links to instability. *International Journal of Pharmaceutics* 2004; 272: 121-8.
- 32.) Ho R, Hinder S J, Watts J F, Dilworth S E, Williams D R, Heng J Y Y: Determination of surface heterogeneity of D-mannitol by sessile drop contact angle and finite concentration inverse gas chromatography. *International Journal of Pharmaceutics* 2010; 387: 79-86.
- 33.) Schuster J M, Schvezov C E, Rosenberger M R: Influence of experimental variables on the measure of contact angle in metals using the sessile drop method. *Procedia Materials Science* 2015; 8: 742-51.
- 34.) Alghunaim A, Kirdponpattara S, Zhang Newby B: Techniques for determining contact angle and wettability of powders. *Powder technology* 2016; 287: 201-15.
- 35.) Shang J, Flury M, Harsh J B, Zollars R L: Comparison of different methods to measure contact angles of soil colloids. *Journal of Colloid and Interface Science* 2008; 328: 299-307.

- 36.) Lazghab M, Saleh K, Pezron I, Guigon P, Komunjer L: Wettability assessment of finely divided solids. *Powder Technology* 2005; 157: 79-91.
- 37.) Rowe C R, Sheskey P J, Owen S C: *Handbook of pharmaceutical excipients*, 5th Edition, Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association, Washington, 2006: 346-9, 389-95, 430-3, 687-9, 718-21, 737-9.
- 38.) *European Pharmacopoeia*, 8th edition, Monographs: 2584-5, 2680-2, 3254, 3284-6, 3313-4.
- 39.) Technical brochure Retalac®: <http://www.meggle-pharma.com/en/lactose/15-retalac.html>.
- 40.) Newell H E, Buckton G, Butler D A, Thielmann F, Williams D R: The use of inverse gas chromatography to study the change of surface energy of amorphous lactose as a function of relative humidity and the processes of collapse and crystallization. *International Journal of Pharmaceutics* 2001; 217: 45-56.
- 41.) Karde V, Ghoroi C: Influence of surface modification on wettability and surface energy characteristics of pharmaceutical excipient powders. *International Journal of Pharmaceutics* 2014; 475: 351-63.