

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

SLAĐANA DERONJIĆ

**OPTIMIZACIJA IZDELAVE IN VREDNOTENJE  
DISPERZIBILNIH PELET, OBLOŽENIH S SUHIMI  
EMULZIJAMI**

**OPTIMIZATION OF MANUFACTURING AND  
CHARACTERIZATION OF DISPERSIBLE PELLETS  
BASED ON DRY EMULSIONS**

MAGISTRSKO DELO  
ENOVIT MAGISTRSKI ŠTUDIJ FARMACIJA

Ljubljana, 2017

Magistrsko nalogo sem opravila na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom izr. prof. dr. Roka Dreua, mag. farm., in somentorstvom asist. dr. Matevža Luštrika, dr. dent. med., mag. farm.

## ZAHVALA

Moja magistrska naloga je pika na i petletnemu študiju. Zame to pomeni konec pomembnega obdobja, ki mi bo ostal v lepem spominu. Zato bi se rada zahvalila vsem, ki so mi na kakršenkoli način pomagali, me usmerjali, motivirali in vodili skozi študij.

Iskreno se zahvaljujem izr. prof. dr. Roku Dreu, mag. farm., za mentorstvo in strokovno vodenje pri pisanju magistrske naloge.

Najlepša hvala tudi asist. dr. Matevžu Luštriku, dr. dent. med., mag. farm., za vse ideje in strokovne nasvete pri načrtovanju poskusov, predvsem pa za pomoč pri laboratorijskem delu. Hvala tudi za vse napotke in usmerjanje pri pisanju magistrske naloge.

Posebna hvala gre tudi mojim staršem in bratu za razumevanje in podporo tekom študija.

## IZJAVA

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo izdelala samostojno pod vodstvom mentorja izr. prof. dr. Roka Dreua, mag. farm., in somentorja asist. dr. Matevža Luštrika, dr. dent. med., mag. farm.

Ljubljana, marec 2017

Predsednica komisije: prof. dr. Marija Bogataj

Član komisije: doc. dr. Tomaž Bratkovič

**VSEBINA**

<b>VSEBINA</b> .....	<b>I</b>
<b>POVZETEK</b> .....	<b>III</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>V</b>
<b>KLJUČNE BESEDE</b> .....	<b>VII</b>
<b>SEZNAM OKRAJŠAV</b> .....	<b>VIII</b>
<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 PELETE</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 UPORABA PELET .....	2
1.1.2 IZDELAVA PELET .....	3
<b>1.2 EMULZIJE</b> .....	<b>4</b>
1.2.1 NESTABILNOST EMULZIJ .....	5
1.2.2 EMULGATORJI .....	7
1.2.3 IZDELAVA EMULZIJ IN OPREMA ZA HOMOGENIZACIJO .....	8
<b>1.3 SUHE EMULZIJE</b> .....	<b>9</b>
<b>1.4 OBLAGANJE</b> .....	<b>11</b>
<b>1.5 VRTINČNOSLOJNA TEHNOLOGIJA</b> .....	<b>12</b>
1.5.2 PROCESNA OPREMA ZA OBLAGANJE .....	13
1.5.2 WURSTERJEVA KOMORA – »BOTTOM SPRAY« KOMORA .....	13
1.5.3 PROCES OBLAGANJA V WURSTERJEVI KOMORI .....	14
<b>2. NAMEN IN NAČRT DELA</b> .....	<b>16</b>
<b>3. MATERIALI IN METODE</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1 MATERIALI</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2 METODE</b> .....	<b>20</b>
3.2.1 TOPNOST UČINKOVINE .....	20
3.2.1.1 UMERITVENA PREMICA .....	20
3.2.1.2 DOLOČANJE NASIČENE TOPNOSTI IBUPROFENA V OLJNI FAZI .....	21
3.2.2 PRIPRAVA IN HOMOGENIZACIJA EMULZIJE ZA OBLAGANJE TER NJENO VREDNOTENJE .....	24
3.2.2.1 PRIPRAVA EMULZIJE .....	24
3.2.2.2 HOMOGENIZACIJA EMULZIJE .....	25
3.2.2.3 DOLOČANJE REFRAKCIJSKEGA INDEKSA .....	25
3.2.2.4 DOLOČANJE GOSTOTE S PIKNOMETROM .....	25
3.2.2.5 DOLOČANJE VELIKOSTI KAPLJIC NOTRANJE FAZE Z LASERSKO DIFRAKCIJO .....	26
3.2.3 OBLAGANJE PELET .....	27
3.2.3.1 OBLAGANJE PELETNIH JEDER .....	27
3.2.4 VREDNOTENJE OBLOŽENIH PELET .....	33
3.2.4.1 IZKORISTEK PROCESA OBLAGANJA .....	33
3.2.4.2 DISPERGIRANJE OBLOŽENIH PELET V PREČIŠČENI VODI .....	33
3.2.4.3 DOLOČANJE VELIKOSTI KAPLJIC OLJNE FAZE PO DISPERGIRANJU PELET .....	34

3.2.4.4	MERITVE VELIKOSTI PELET S SLIKOVNO ANALIZO IN ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA PREREZOV PELET.....	35
3.2.4.5	DOLOČANJE STIČNEGA KOTA .....	36
3.2.5	VSEBNOST IBUPROFENA V PELETAH.....	37
3.2.5.1	METODA ZA DOLOČANJE VSEBNOSTI IBUPROFENA V OBLOŽENIH PELETAH .....	37
3.2.5.2	IZRAČUN TEORETIČNE VSEBNOSTI IBUPROFENA V PELETAH.....	39
3.2.6	SPROŠČANJE IBUPROFENA IZ PELET V PRIMERJAVI S SPROŠČANJEM IZ REFERENČNIH TABLET ...	40
<b>4.</b>	<b>REZULTATI IN RAZPRAVA.....</b>	<b>44</b>
<b>4.1</b>	<b>TOPNOST IBUPROFENA .....</b>	<b>44</b>
<b>4.2</b>	<b>PRIPRAVA IN HOMOGENIZACIJA EMULZIJE .....</b>	<b>45</b>
4.2.1	IZBOR USTREZNE PAS IN NJENEGA DELEŽA ZA PRIPRAVO EMULZIJE .....	45
4.2.2	DOLOČANJE REFRAKCIJSKEGA INDEKSA, GOSTOTE IN PORAZDELITVE VELIKOSTI KAPLJIC OLJNE FAZE	46
<b>4.3</b>	<b>OBLAGANJE PELET .....</b>	<b>48</b>
<b>4.4</b>	<b>VREDNOTENJE OBLOŽENIH PELET .....</b>	<b>49</b>
4.4.1	IZKORISTEK PROCESA OBLAGANJA IN DELEŽ AGLOMERATOV.....	49
4.4.2	DISPERGIRANJE OBLOŽENIH PELET V PREČIŠČENI VODI .....	50
4.4.3	DOLOČANJE VELIKOSTI KAPLJIC OLJNE FAZE PO DISPERGIRANJU PELET .....	50
4.4.4	MERITEV VELIKOSTI PELET S SLIKOVNO ANALIZO IN SLIKANJE PREREZOV PELET Z UPORABO ELEKTRONSKEGA MIKROSKOPA.....	51
4.4.5	DOLOČANJE STIČNEGA KOTA .....	54
<b>4.5</b>	<b>VSEBNOST UČINKOVINE V PELETAH .....</b>	<b>55</b>
<b>4.6</b>	<b>SPROŠČANJE ZU IZ PELET V PRIMERJAVI S SPROŠČANJEM ZU IZ REFERENČNIH TABLET .....</b>	<b>57</b>
<b>5.</b>	<b>SKLEP .....</b>	<b>60</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>61</b>
<b>7.</b>	<b>PRILOGE.....</b>	<b>64</b>
Priloga 1.....		64
Priloga 2.....		65

## POVZETEK

Namen našega dela je bil izdelati pelete z oblogo suhe emulzije; obloga je pri tovrstnem oblaganju sestavljena iz sladkornega ogrodja, v katerega so vgrajene kapljice oljne faze z raztopljeno zdravilno učinkovino. Namen tovrstne tehnologije je izboljšati biološko uporabnost učinkovine (uporabimo lahko učinkovine, ki so izrazito lipofilne), obenem pa so takšne emulzije fizikalno stabilnejše od navadnih.

Za pripravo ustrezne emulzije smo izbrali modelno zdravilno učinkovino (ZU) z dovolj visoko topnostjo v oljni fazi, ki jo v našem primeru predstavlja ibuprofen. Olje, v katerem smo raztopili učinkovino, je predstavljal Miglyol 812. Pri tvorilcu sladkornega ogrodja smo izbirali med manitolom in laktozo, vendar je slednja imela neustrezne lastnosti za oblaganje. Za večjo fizikalno stabilnost smo k vodni raztopini sladkorja dodali površinsko aktivno snov; uporabili smo Tween 20 in natrijev lavril sulfat v različnih odstotnih deležih. Emulzija s 6% Tween-a 20 se je izkazala kot najprimernejša. Dobljeno emulzijo smo homogenizirali z Ultraturaxsom in visokotlačnim homogenizatorjem ter ji nato določili porazdelitev velikosti kapljic oljne faze. Le-to smo pomerili tudi po 7 in 90 dneh shranjevanja.

Oblaganje smo izvedli v Wursterjevi komori. Za oblaganje nevtralnih peletnih jeder smo uporabili različne emulzije, katerim smo spreminjali razmerje med sladkorno in oljno fazo. Z vidika procesibilnosti se je kot najprimernejša izkazala emulzija z navedenim razmerjem 2,5:1. Zaradi velikega porasta velikosti delcev med procesom oblaganja in omejitve velikosti procesne opreme, smo pelete oblagali v več zaporednih stopnjah, da bi dosegli ustrezno debelino obloge. Med posameznimi stopnjami oblaganj smo pelete zaščitili še z oblogo iz hidroksipropilmetil celuloze (HPMC) in polietilen glikola (PEG) 6000, s čimer smo dosegli ustrezne pretočne lastnosti na začetku naslednjega oblaganja. Disperzija, ki se je z vidika procesibilnosti najbolje obnesla, je vsebovala 6% delež Tweena 20 in manitol kot tvorilec trdnega ogrodja, razmerje SF:OF pa je znašalo 2,5:1. Izdelanim peletam smo s pomočjo slikovne analize, pridobljene s skeniranjem le-teh, določili porazdelitev velikosti. Obložene pelete smo nato dispergirali v prečiščeni vodi, da smo dobili emulzijo s kvantitativno sestavo, enako začetni emulziji. Kapljice oljne faze so se po dispergiranju izdelanih obloženih pelet le delno zlile med seboj. Za določanje vsebnosti ZU smo poskusili z ekstrakcijo s petroletrom, vendar je bila metoda zamudna in slabo ponovljiva.

Zato smo vsebnost določili po ekstrakciji ZU z metanolom. Največji delež ibuprofena v izdelanih peletah je bil 3,31%.

Za boljše razumevanje procesa oblaganja v poznih fazah sušenja kapljic disperzije na jedrih smo izmerili še kot močenja pri različnih koncentracijah površinsko aktivnih snovi v oljni fazi. Stični kot smo izmerili na tabletah iz Avicela PH 200 in manitola. Izkazalo se je, da je kot močenja najugodnejši pri oljni fazi s 6% Tweena 20. To potrjujejo tudi poskusi oblaganja, saj je bila emulzija s 6% Tweena 20 z vidika procesibilnosti najprimernejša.

Na koncu smo izvedli še preizkus sproščanja ZU iz izdelanih pelet. Profil sproščanja smo primerjali s profilom sproščanja ZU iz tablet, ki so na voljo na trgu in vsebujejo 200 mg ibuprofena. Iz profila sproščanja je opazno hitrejše sproščanje ZU iz pelet v primerjavi s tabletami.

## ABSTRACT

The aim of our project was to produce pellets with dry emulsion coating composed of sugar matrix, which contains encapsulated drops of oil phase with dissolved active pharmaceutical ingredient (API). The objective of this technology is to improve bioavailability of the API (ingredients which are distinctively lipophilic can be used). In addition, the produced emulsions are physically more stable than regular emulsions.

The first step in preparing a suitable emulsion was to choose the appropriate model API. In this study, the chosen API was ibuprofen. The oil which contained the dissolved active ingredient was Miglyol 812. In the formation of sugar matrix the choice was made between using mannitol and lactose. Lactose has proven to be less suitable due to inappropriate coating properties. To achieve better physical stability, a surfactant was added to the sugar phase. Tween 20 and sodium lauryl sulphate were used in different percentages. The emulsion containing 6% of Tween 20 has proved to be the most appropriate. The emulsion was then homogenised by using Ultra Turrax and a high pressure homogenizer. After that, the size distribution of the oil drops was determined. The size was measured also after 7 days and after 90 days of being kept in storage.

The coating process was performed in the Wurster coating chamber. Different emulsions with alternating percentage of sugar and oil phases were used in the process of coating of neutral pellet cores. Emulsion with sugar to oil ratio of 2,5:1 has proved to be the most efficient. Due to a great growth in the size of particles during the process of coating and the size limitations of the equipment, the pellets were coated in multiple consecutive coating stages, with the aim of achieving the optimal thickness of the coating. Between individual coating stages the pellets were protected with a layer containing HPMC and PEG 6000, which ensured better flow properties in the next stage of the coating process. Image analysis obtained by scanning the pellets was performed in order to determine their size distribution. The coated pellets were also dispersed in purified water in order to obtain the emulsion with the composition referring to the initial coating emulsion. Drops of oil phase merely partially merged. An attempt of determining the content of the API was performed by extraction with petroleum ether. However, this method was time-consuming and unreproducible. Therefore, the content of API was determined by extraction with methanol. The highest dose of ibuprofen encapsulated in pellets was 3,31%.

The wettability and contact angle at different surfactant concentrations in the oil phase were measured in order to clarify the coating process characteristics. Contact angle was measured on the tablets formed of Avicel PH 200 and mannitol. It turned out that the emulsion containing 6% of Tween 20 was the most appropriate according to the wettability. The coating experiments also confirmed that the emulsion containing 6% of Tween 20 was preferred in term of processability in the coating process.

Finally, dissolution testing was performed on the produced pellets. Obtained dissolution profile was compared to the dissolution profile of the API released from the tablets which are available on the market and contain 200 mg of ibuprofen. The graph shows a notably faster API release from the produced pellets in comparison to the tablets.



**KLJUČNE BESEDE**

<b>Slovenski izraz</b>	<b>Angleški izraz</b>
pelete	pellets
slabo topne učinkovine	poorly soluble drugs
suha emulzija	dry emulsion
tehnologija z vrtinčenjem	fluid bed technology
Wursterjeva komora	Wurster chamber

**SEZNAM OKRAJŠAV**

<b>BCS</b>	biofarmaceutvska klasifikacija zdravil (ang. Biopharmaceutical Classification System)
<b>DM</b>	disperzni medij
<b>FO</b>	farmaceutvska oblika
<b>HLB</b>	hidrofilno-lipofilno ravnotežje (ang. Hydrophilic-Lipophilic Balance)
<b>HPMC</b>	hidroksipropilmetilceluloza
<b>IVIVC</b>	<i>in vitro/in vivo</i> korelacija
<b>LOD</b>	izguba pri sušenju (ang. Loss On Drying)
<b>MCC</b>	mikrokristalna celuloza
<b>OF</b>	oljna faza
<b>PAS</b>	površinsko aktivna snov
<b>PEG</b>	polietilenglikol
<b>RI</b>	refrakcijski indeks
<b>rpm</b>	obratov na minuto (ang. Revolutions Per Minute)
<b>RV</b>	razmejitveni valj
<b>SD</b>	standardni odklon
<b>SDS</b>	natrijev lavril sulfat (ang. Sodium Dodecyl Sulphate)
<b>SEM</b>	vrstična elektronska mikroskopija (ang. Scanning Electron Microscopy)
<b>SF</b>	sladkorna faza
<b>UV/VIS</b>	spektroskopija v ultravijoličnem in vidnem območju spektra
<b>VTH</b>	visokotlačni homogenizator
<b>ZU</b>	zdravilna učinkovina

## 1. UVOD

### 1.1 PELETE

Čeprav v literaturi ne zasledimo popolne in jasne definicije pojma pelet, lahko povzamemo bistvene lastnosti in zahteve, ki opredeljujejo pelete. Pelete so v farmaciji definirane kot majhni, okrogli ali skoraj okrogli delci, izdelani z aglomeracijo prahov ali granul zdravilne učinkovine (ZU) in pomožnih snovi ali s postopki oblaganja (1, 2). Pelete predstavljajo vmesno stopnjo pri postopku izdelave končne večenočne farmacevtske oblike (FO), kot so tablete ali trde kapsule (3). V farmaciji so velikosti pelet običajno med 0,5 in 1,5 mm. Zaželeno je, da imajo ozko porazdelitev velikosti, zadovoljivo trdnost ter majhno krušljivost (1). Gladka površina in sferičnost sta lastnosti, ki peletam omogočata nanos enakomerne in enotne (filmske) obloge (4), poleg omenjenih lastnosti so še manjša poroznost, višja natezna trdnost in gostota delcev tiste lastnosti, ki pelete ločijo od zrn (1). Zrnca so farmacevtske oblike, sestavljene iz trdnih suhih agregatov praškastih delcev, ki so dovolj odporni na rokovanje z njimi (5). Glede vsebnosti ZU v peletah ni obvezujočih predpisov, izbira vsebnosti učinkovine v peletah je na strani razvijalca formulacije, ta pa je velikokrat omejena s tehnologijo izdelave pelet. V Evropski farmakopeji pelete nimajo lastne monografije, so pa delno opisane v monografiji o sladkornih jedrih (ang. »Sugar spheres«) (6).

Glede na notranjo strukturo lahko pelete razdelimo na dva osnovna tipa. **Pelete ogrodnega tipa** opišemo kot delce, kjer sta ZU in nosilna substanca enakomerno porazdeljeni po celotnem volumnu pelete. Najpogosteje jih izdelujemo z aglomeracijo ZU in pomožnih snovi. Tehnološki procesi, ki to omogočajo, so iztiskanje in krogličenje, direktna izdelava pelet z vrtinčnoslojno tehnologijo in peletiranje z uporabo hitrovrtčega mešalnika. Ločimo pa tudi z **učinkovino obložene pelete**, ki jih izdelamo s procesom oblaganja (ang. »layering«), tekom katerega na nevtralno peletno jedro nanese plast ZU (2).

V ločenem koraku lahko na oba tipa pelet nanese še plast polimerne obloge (2). Ta omogoča prikrivanje organoleptičnih lastnosti ZU, izboljša stabilnost vgrajene učinkovine ali priredi sproščanje le-te (7).

Višja sferičnost in nižja poroznost sta dve pomembni prednosti pelet pred zrci. Sferičnost je predvsem pomembna pri procesu oblaganja, saj se okrogli delci enakomerneje oblagajo

in imajo pri dani velikosti najmanjšo specifično površino (1). Nevtralna peletna jedra lahko oblagamo s suspenzijo ali raztopino, kjer delci, suspendirani oziroma raztopljeni v disperziji, po izhlapevanju topila tvorijo oblogo. Oblagamo lahko tudi z emulzijo, kjer so nato po oblaganju kapljice oljne faze ujete v trdno (sladkorno) ogrodje (3). Delci obloženi z emulzijo so običajno bolj sferični kot pri ostalih metodah izdelav (8). Slabost oblaganja s suhimi emulzijami so zaostanki olj in topil na površini delcev, kar zmanjšuje njihovo pretočnost in poveča kohezivnost (1).

### 1.1.1 UPORABA PELET

Kot že omenjeno, so pelete vmesna stopnja pri izdelavi končne FO. Lahko jih polnimo v kapsule ali pa jih stisnemo v tablete. Za oba procesa so potrebne dobre pretočne lastnosti, ki jih pelete v primerjavi s prahovi gotovo imajo (8). Kapsuliranje je sicer zelo uveljavljen tehnološki proces, vendar je njegova slabost visoka cena kapsul in nekoliko nižja hitrost izdelave v primerjavi s tabletiranjem. Poleg tega kapsul ne morem prelomiti v primerjavi s tabletami z razdelilno zarezo, kadar je to zaželeno in dovoljeno (2). Alternativni pristop je tabletiranje, za katerega večkrat uporabimo tudi **obložene pelete**. Filmska obloga je lahko namenjena povečanju stabilnosti ali zaščiti ZU, prikrivanju okusa, pogosto pa je funkcija obloge prirejeno sproščanje ZU, kar dosežemo z nanosom polimerne obloge, ki ji rečemo tudi **filmska obloga** (8). Bistvena prednost stiskanja pelet v tablete je ta, da vanje lahko vgradimo več ZU, kar je s stališča pacienta ugodno. Vgradnja nižjega odmerka pelet v kapsule je posledica omejitev v velikosti ovojnice kapsule in sferične oblike pelet, ki narekuje ureditev delcev v kapsulah (2). V kapsule velikosti 0, ki so še zmernih dimenzij, s prostornino 0,68 ml lahko vgradimo do največ 0,6 g pelet.

Pri oblaganju je pomembno, da je funkcionalnost obloge zagotovljena med nadaljnjimi tehnološkimi postopki (polnjenje v kapsule, tabletiranje) oziroma tekom shranjevanja produkta. Učinkovitost tabletiranja obloženih pelet lahko povečamo z dodatkom pomožnih snovi, ki preprečijo poškodbe obloge. Pri polnjenju pelet v kapsule je pomembno, da se pelete med procesom ne krušijo in da je porazdelitev velikosti čim ožja, saj je tako možnost segregacije minimalna (1).

Tako izdelane tablete in kapsule predstavljajo večeno FO, ki ima mnoge tehnološke in terapevtske prednosti pred enoenotnimi.

### → Tehnološke prednosti

Z vidika izdelave je glavna prednost pelet visoka stopnja prilagodljivosti med načrtovanjem. Sočasno polnjenje kapsul s peletami, ki vsebujejo različne, velikokrat tudi medsebojno nekompatibilne ZU, je tako s tehnološkega kot terapijskega vidika ugodno in ekonomsko sprejemljivo. Izdelava takšnih FO omogoča prilagajanje pri doseganju ustrezne kinetike in mesta sproščanja ZU. Zaradi sferične oblike in majhnega razmerja med površino in volumnom so pelete primerne za nadaljnji proces oblaganja (3, 9).

### → Terapevtske prednosti

Z vidika bolnika je pomembno, da je nihanje plazemskih koncentracij ZU čim manjše ter absorpcija čim večja, kar pelete, vgrajene v večnotne FO, omogočajo zaradi visoke specifične površine v primerjavi z enoenotnimi FO. Pelete so primerne za načrtovanje nadzorovanega sproščanja ZU, v primerjavi z enoenotnimi FO pa je manjša tudi možnost neželenega prehitrega sproščanja odmerka ZU (ang. »dose-dumping«). Ker gre za večnotno FO, se delci vzdolž prebavnega trakta enakomerneje porazdelijo, zato je možnost lokalnega draženja zmanjšana (1, 2, 3, 8).

Poleg naštetih prednosti imajo večnotne FO tudi nekaj slabosti. Za izdelavo je največkrat potrebna specifična, namenska procesna oprema, sam proces izdelave pa je tehnično zahteven. Proizvodnja takšnih oblik je pogosto dolgotrajna, večstopenjska in draga (3). Poleg tega imamo lahko težave pri polnjenju pelet v kapsule, pri čemer lahko pride do razslojevanja prej homogene zmesi in posledično neenakomernega polnjenja. Pri tabletiranju obloženih pelet je težava v oblogi, ki se lahko med stiskanjem poškoduje. Pri oblogah, s katerimi nadzorujemo sproščanje, je torej tabletiranje z vidika funkcionalnosti lahko vprašljivo (8).

#### 1.1.2 IZDELAVA PELET

Znani so različni načini izdelave pelet, v skladu s tem pa poznamo več vrst namenske procesne opreme:

→ **Oblaganje z disperzijo (raztopine, suspenzije in emulzije):** je najpogostejši postopek izdelave pelet. Vse sestavine disperzije (ZU in/ali pomožne snovi) so raztopljene, suspendirane ali emulgirane v raztopini, ki jo razpršujemo na nevtralna peletna jedra. Kapljice disperzije se razprostrejo po površini in tvorijo sloj tekočine.

Sočasno poteka sušenje produkta, kjer pride do izhlapevanja topila in ustrezne adhezije med jedrom in oblogo oziroma med posameznimi plastni obloge (10).

- **Metoda iztiskanja in krogličanja:** je večstopenjski proces, kjer praškaste komponente najprej zmešamo, sledi vlažno granuliranje in iztiskanje plastične zmesi skozi matrico z ekstruzijskimi kanali. Iztiskanci se na posebni vrteči se plošči oblikujejo v kroglice (faza krogličanja), nato sledi še sušenje nastalih pelet.
- **Izdelava pelet z rotorsko tehnologijo:** je postopek izdelave, ki ga uvrščamo med vrtinčnoslojne tehnologije. Delci se v komori vrtijo na posebni vrteči se plošči in se zaradi centrifugalne sile premikajo proti steni komore. Med ploščo in steno komore je reža, skozi katero piha zrak. Ta dvigne delce s plošče, ti pa zaradi gravitacije znova padejo nanjo. Posledica takšnega vijačnega gibanja so sferični delci. Ta tehnologija izdelave se največkrat uporablja za izdelavo pelet direktno iz prahov, na katere razpršujemo raztopino veziva, ali za oblaganje nevtralnih jeder.
- **Izdelava pelet z razprševanjem:** je postopek, kjer z atomizacijo raztopin, suspenzij ali talin, dobimo zelo majhne sferične delce (pod 200  $\mu\text{m}$ ). Disperzijo z učinkovino razpršujemo v tok vročega zraka, zaradi česar topilo izhlapeva. Rezultat so porozni sferični delci. Druga izpeljanka te tehnologije je razprševanje s strjevanjem. Učinkovino naprej stalimo ali dispergiramo v talini voska, maščobnih kislin ali drugih lipofilnih snovi, nato pa razpršujemo v komoro. Temperatura tališča zmesi mora biti višja od temperature zraka v komori, kar povzroči nastanek trdnih delcev. Nastale pelete niso porozne, prav tako med izdelavo ne pride do izhlapevanja topila.
- **Izdelava s taljenjem:** je postopek, kjer so sferični delci oz. aglomerati rezultat dodajanja taline veziva k praškastim sestavinam. Oprema za ta proces so različni hitrovrteči mešalci in naprave za iztiskanje z odrezavanjem in ohlajanjem delcev (8, 9).

## 1.2 EMULZIJE

Emulzija je disperzija, kjer sta dve nemešajoči se tekočini stabilizirani z dodatno snovjo, ki ji rečemo emulgator (11). Po velikosti delcev sodijo emulzije med grobo disperzne sisteme. Velikost dispergirane faze klasičnih emulzij je 0,1-50  $\mu\text{m}$ . Ena od tekočin je v obliki kapljic homogeno dispergirana v drugi tekočini; slednja predstavlja zunanjo fazo in te je praviloma količinsko več, medtem ko kapljice dispergirane tekočine predstavljajo notranjo

fazo. Ker gre za tekočini s popolnoma različnimi lastnostmi, jih splošno imenujemo »olja« in »vodna« faza; prva ima izrazite lipofilne lastnosti, druga pa hidrofilne (12).

Med emulzije uvrščamo tudi **mikroemulzije**, pri katerih je velikost dispergirane faze pod 140 nm. Za razliko od klasičnih emulzij so mikroemulzije termodinamsko stabilne in transparentne. Za nastanek mikroemulzije ni potrebno dovajati energije in nastajajo spontano (12).

Poznamo dva tipa klasičnih emulzij, in sicer:

- **Emulzija voda v olju (V/O):** vodna (notranja) faza je dispergirana v zunanji oljni fazi.
- **Emulzija olje v vodi (O/V):** oljna faza (OF) je dispergirana v zunanji vodni fazi; ta tip emulzije je pogostejši (3).

Namen izdelave emulzije je, da dobimo sistem, ki je relativno stabilen in homogen (12). Poleg tega emulzije omogočajo prekrivanje neprijetnega okusa učinkovine, njeno zaščito pred procesi oksidacije in, kar je terapevtsko najpomembnejše, z njimi lahko izboljšamo biološko razpoložljivost ZU. Glede na mesto dostave jih lahko uporabljamo peroralno, topikalno in izjemoma ob ustrezni fizikalni stabilnosti ter nadzorovani in ustrezni velikosti kapljic tudi parenteralno (3, 12).

Poznamo tudi bolj **kompleksne (multiple) emulzije**. Te so definirane kot emulzija v emulziji, kjer so drobne kapljice notranje faze dispergirane v večjih kapljicah srednje faze, te pa so razpršene v zunanji fazi. Srednja faza je netopna v notranji in zunanji fazi. Znana tipa kompleksnih emulzij sta olje v vodi v olju (O/V/O) ali voda v olju v vodi (V/O/V) (13). Take sisteme izdelamo s ponovnim emulgiranjem emulzije v ustrezni fazi (3).

### 1.2.1 NESTABILNOST EMULZIJ

Za stabilne emulzije veljajo določene zahteve: kapljice notranje faze morajo biti enakomerno dispergirane v zunanji fazi in ohranjati morajo svoje začetne lastnosti (konstantna medfazna napetost) daljši čas. Porazdelitev velikosti kapljic dispergirane faze se mora prav tako ohranjati skozi definiran rok uporabe izdelka (14). V nasprotnem primeru emulzijo opredelimo kot nestabilno (3). Brez prisotnosti zunanje sile se kapljice notranje faze začnejo zlivati med seboj, saj sistem zaradi velike medfazne napetosti teži k zmanjšanju površine (13). Zato klasično emulzijo opredelimo kot **termodinamsko**

**nestabilen sistem (3).**

Teorija o površinski napetosti pravi, da če se dve kapljici iste faze dovolj približata, medfazna napetost teži k temu, da se združita v večjo kroglico, ki ima površino manjšo, kot je skupna površina obeh manjših kroglic (12).

Vzroki za nestabilnosti so številni. Poznamo kemijsko, fizikalno, mikrobiološko in fotokemično nestabilnost. **Kemijska nestabilnost** se nanaša na oksidacijo oljnih komponent v stiku z atmosferskim kisikom ali na hidrolizo emulgatorjev. Te procese lahko upočasnimo z dodatkom antioksidantov. Pride lahko tudi do interakcij med sestavinami emulzije, kar vodi v razpad emulzije (3). **Mikrobiološka nestabilnost** pomeni prisotnost bakterij ali plesni v emulziji, kar lahko privede do spremembe pH ali vizualnih sprememb emulzije (moten videz). **Fotokemična nestabilnost** pomeni razpad komponent pod vplivom svetlobe. V takem primeru moramo emulzijo zaščititi pred svetlobo (temen vsebnik) ali shranjevati v temnem prostoru.

Najpomembnejši razlog nehomogenosti emulzije je **fizikalna nestabilnost**. Ločimo jih na reverzibilne, kot so sedimentacija, flotacija in flokulacija, in ireverzibilne, kot sta Ostwaldova rast in koalescenca (3, 15). Pri reverzibilnih nestabilnostih se emulzija s stresanjem povrne v prvotno stanje. Pri ireverzibilnih pa pride do poškodbe medfaznega filma površinsko aktivne snovi, zaradi česar so za farmacevtsko rabo nesprejemljive (15).

- **Sedimentacija:** je posledica delovanja gravitacijske ali centrifugalne sile dispergirane faze, pri čemer se kapljice z večjo gostoto gibljejo proti dnu. Značilna je za V/O emulzije, saj je gostota vodnih kapljic praviloma večja od olja.
- **Flotacija:** je proces, podoben sedimentaciji, le da poteka v nasprotni smeri. Kapljice dispergirane faze se zaradi nižje gostote, v primerjavi z disperznim medijem, gibljejo proti površju. Pojavlja se pri O/V emulzijah, kjer se oljne kapljice zbirajo na vrhu (3).

Oba opisana procesa sta povečana, če se poveča velikost kapljic zaradi flokulacije ali koalescence. Velikokrat je zblížanje kapljic zaradi sedimentacije ali flotacije tudi vzrok za začetek ireverzibilnih procesov (koalescenca, popolna ločitev faz) (15).

- **Flokulacija:** je zgodnji proces razpada emulzije, kjer se kapljice reverzibilno združujejo v večje skupke, loči pa jih tanka plast medija. Kapljice kljub združevanju obdržijo svojo integriteto, agregate pa že z rahlim stresanjem lahko redispergiramo. Flokulacija je običajno predhodna faza ireverzibilne koalescence (3, 15, 16).



- **Koalescenca:** je pojav, ko se majhne dispergirane kapljice zaradi poškodbe medfaznega filma površinsko aktivne snovi začnejo zlivati v večje. Začne se z zblíževanjem kapljic, ko pride do odtekanja medfaznega filma, s časom pa se ta pretrga. Nastale kapljice so velike in jih ni mogoče več redispergirati (3, 15, 16).
- **Ostwaldova rast:** je proces rasti velikih kapljic na račun manjših. Molekule notranje faze so na površini kapljice manj energetsko stabilizirane z medmolekulskimi interakcijami v primerjavi z molekulami v notranjosti kapljice, zaradi česar pride do pojava medfazne napetosti. Proces rasti spontano steče, ker imajo velike kapljice ugodnejše razmerje med površino in volumnom, saj se na tak način zmanjša medfazna energija. Tako drobne kapljice s časom izginjajo, velike pa se še povečujejo (3, 18).

### 1.2.2 EMULGATORJI

Mnoge študije so bile narejene na področju emulgiranja emulzij. Ključno vprašanje je, kakšen je mehanizem emulgiranja ter princip doseganja stabilnosti emulzij (12). Pri izdelavi emulzij stremimo k temu, da imajo kapljice določeno velikost in da je porazdelitev velikosti čim bolj homogena. Zadovoljivo stopnjo fizikalne stabilnosti lahko dosežemo z dodatkom površinsko aktivnih snovi (emulgatorjev) (3), redkeje pa tudi z uporabo drugih aditivov, kot so polimeri ali večji proteini (19). V zadnjem času postajajo izredno zanimive t.i. »Pickering« emulzije, ki so stabilizirane s plastjo trdnih delcev na medfazni površini (19). PAS vplivajo tudi na izgled, konsistenco in sproščanje ZU iz emulzije (15). **Površinsko aktivne snovi** (PAS) so amfifilne molekule, ki se porazdeljujejo na medfazni površini lipofilne in hidrofilne faze ter tako znižujejo medfazno napetost. Medfazni film površinsko aktivne snovi med obema fazama tvori stabilno in homogeno emulzijo (15).

Emulgatorje lahko delimo na podlagi več kriterijev. Za praktično uporabo je najbolj smiselna razdelitev glede na kemizem, lahko pa jih delimo tudi glede na izvor, namen in mehanizem delovanja (3, 20). Glede na kemijski naboj molekule poznamo anionske, kationske, neionske in amfoterne emulgatorje. Pri slednjih je naboj odvisen od pH vrednosti pripravka (3, 20). Anionski emulgatorji imajo negativen naboj in pogosto so to soli višjih maščobnih kislin (mila). Kationski emulgatorji pa imajo na površini pozitiven naboj. Pri obeh ionskih tipih je uvedba elektrostatskih odbojnih sil bistvena za stabilizacijo sistema. Neionski emulgatorji v vodi ne disociirajo, sistem pa emulgirajo s steričnimi odbojnimi silami (3, 15, 20, 21).

Pri izbiri emulgatorja se osredotočimo na to, da je kompatibilen z vsemi komponentami emulzije in ne vpliva na učinkovitost ali sproščanje ZU. Prav tako glede na namen (mesto) uporabe in uporabljeno količino ne sme biti toksičen (12). Pri izbiri PAS moramo upoštevati **Bancroftovo pravilo**, ki pravi, da je emulgator bolje topen v zunanji fazi (21). Vodilo pri izbiri emulgatorja je tudi **vrednost HLB**. Gre za hidrofilno-lipofilno ravnotežje (ang. »Hydrophilic-Lipophilic Balance«), ki temelji na deležu hidrofilnih in lipofilnih skupin v molekuli emulgatorja. V praksi ga običajno računamo za neionogene emulgatorje (22), izračunamo pa ga lahko tudi za ionogene (23). Vrednost HLB lahko izračunamo, obravnavamo pa jo predvsem kot empirično število, ki je dodeljeno posameznim površinsko aktivnim snovem. Vrednosti HLB so v razponu od 0 do 20. Nižja kot je vrednost, bolj je emulgator topen v olju (emulzije V/O), in višja kot je vrednost, bolj je topen v vodi (emulzije O/V). Iz tega sledi, da je poznavanje števila HLB izrednega pomena za pripravo emulzije: napovemo lahko tip nastale emulzije, pomembna pa je tudi aditivnost vrednosti HLB, saj s kombiniranjem več PAS lahko dosežemo želeno vrednost HLB (15).

### 1.2.3 IZDELAVA EMULZIJ IN OPREMA ZA HOMOGENIZACIJO

Priprava stabilne emulzije je ključni faktor pri izdelavi končne farmacevtske oblike. Stabilnost emulzije ob dodatku PAS dosežemo s kontinuiranim stresanjem ali intenzivnim mešanjem (16), kar omogočajo različne aparature, namenjene izdelavi emulzij. Tehnologijo izdelave narekujejo tip in količina izdelane emulzije, pričakovana velikost kapljic dispergirane faze, razmerje faz in vrsta emulgatorja (14). Znana sta dva postopka priprave emulzij: izdelava s suspendiranjem ali raztapljanjem emulgatorja v eni od faz. Pri procesu suspendiranja emulgator suspendiramo v notranji fazi, v kateri ni topen. Del zunanje faze vzamemo za izdelavo prvotne emulzije, ki ji kasneje dodamo še preostanek zunanje faze. Pri postopku raztapljanja pa emulgator raztopimo v zunanji fazi ter ji med mešanjem dodamo notranjo fazo (3, 16). Ta postopek smo uporabili tudi mi.

Po izdelavi začetne emulzije z različno velikimi kapljicami notranje faze je za doseganje višje stabilnosti potrebno emulzijo še homogenizirati. Za razbitje velikih kapljic v manjše je potrebno dovajati mehansko energijo, kar dosežemo z uporabo **mešalnikov z visokim strigom** (princip rotorja in statorja) ali **visokotlačnih homogenizatorjev**. Redkeje uporabljamo ultrazvočne homogenizatorje, ki delujejo po principu kavitacije (14). Nastanek bolj homogene emulzije je pogojen s silami, ki se pojavijo med procesom

homogeniziranja (centrifugalna sila, strižna sila mešala, turbulenca, kavitacija) in zaradi česar prihaja do poenotenja velikosti kapljic dispergirane faze (3, 16).

**Mešalnik (rotor-stator homogenizator):** je uporaben v začetni stopnji homogenizacije, saj po uporabi dobimo emulzijo z večjimi kapljicami in širšo porazdelitvijo velikosti notranje faze. Proces homogeniziranja poteka v nastavku za dispergiranje, kjer sta rotor in stator. Sila povleče emulzijo v režo med njima, kjer se rotor premika ob statorju, kar povzroči delovanje močnih strižnih sile na dispergirano tekočino (3). Razbitje kapljic povzroči tudi trčenje tekočine v stene homogenizatorja (16). Različno stopnjo porazdelitve oziroma velikost kapljic končne emulzije lahko dosežemo s prilagajanjem dolžine časa in hitrosti homogeniziranja (3, 16).

**Visokotlačni homogenizator (VTH):** je namenjen homogenizaciji večjih količin emulzij. Homogenizacija se začne z vbrizgavanjem emulzije pod visokim tlakom v tlačni ventil. Hitrost emulzije se ob prehodu skozi režo poveča in ko trči ob udarni obroč, pride do nastanka strižnih sil, turbulence in kavitacije. Rezultat je emulzija z ozko porazdelitvijo oljnih kapljic, nano- in mikrometrskih velikosti (24, 25). Aparatura ima običajno 2 ventila, na katerih nastavimo tlak (26). Drugi ima običajno 10% vrednosti tlaka na prvem (3).

### 1.3 SUHE EMULZIJE

Posebna pozornost je v naši študiji namenjena suhim emulzijam. Gre za razmeroma nov sistem, ki prinaša številne prednosti in novosti na področju tehnologije.

Že leta 1961 sta raziskovalca Siguchi in Obi odkrila, da lahko sproščanje slabo topnih učinkovin povečamo z uporabo trdnih disperzij (27). Poleg že znanih načinov za doseganje boljše topnosti (kot so kompleksacija, nanokristalizacija, zmanjšanje velikosti delcev) je v zadnjem obdobju pozornost posvečena vključevanju ZU v lipidne formulacije (25).

Suhe emulzije lahko opišemo kot trdne FO, sestavljene iz trdnega ogrodja, v katerega so vgrajene lipidne kapljice, ki vsebujejo, praviloma raztopljeno, ZU. Po pripravi emulzije tipa O/V z dodanim topnim ali netopnim nosilcem ogrodja, ki je raztopljen ali dispergirani v vodni fazi, odstranimo vodo (25). Po odstranitvi vodne faze pride do enkapsuliranja lipidne faze v ogrodje. Poznamo številne načine odstranitve topila, kot so evaporacija pod vakuumom, sušenje z razprševanjem, liofilizacija in drugi (25, 28).

Učinkovine, ki jih največkrat vgrajujemo v suhe emulzije, uvrščamo v II. razred klasifikacije BCS. Le-te izkazujejo visoko permeabilnost in slabo topnost, kar se odraža v slabšem raztapljanju in razmeroma slabi biološki uporabnosti (28). Matriks je največkrat hidrofilen, izbira le-tega pa je odvisna od številnih kriterijev, ki jih določajo stabilnost, izkoristek procesa in topnostni parametri učinkovine. Najbolj uporabni so sladkorji, kot so manitol, maltodekstrin, trehaloza, laktoza, sukroza (29, 30), v študijah pa so omenjeni tudi drugi materiali, ki nimajo hidrofilnih lastnosti, npr. magnezijev aluminijev metasilikat (29), koloidni silicijev dioksid in drugi (25). Za večjo stabilnost lahko kot trden nosilec uporabimo v vodi topne polimere, kot sta metilceluloza in HPMC (30). Hidrofilni matriks lahko prispeva k izboljšanju topnosti učinkovine *in vitro* in tudi po peroralni uporabi (25).

Učinkovitost vključevanja oljnih kapljic v ogrodje je pogojena z morfološkimi lastnostmi trdnega nosilca in površinskimi značilnostmi dispergirane faze. Mikrostrukturne značilnosti predstavljajo poroznost nosilca oziroma velikost in obliko por ter razporeditev oljnih kapljic, ki se lahko nahajajo enakomerno po celotnem volumnu obloge ali le ob robu ogrodja. Na morfološke lastnosti delca suhe emulzije vplivajo vsebnost trdnih snovi v emulziji, hitrost sušenja ter sestava in viskoznost adsorbiranega površinskega filma oljne kapljice. Na vključevanje dispergirane faze vplivajo tudi površinske značilnosti in velikosti kapljic dispergirane faze (31). Uporaba PAS je z vidika doseganja homogenosti in stabilnosti nujno potrebna (32). Želimo si, da je vsebnost slednjih minimalna, a zadostna za zagotavljanje ustrezne solubilizacije začetne emulzije, ki jo nanašamo na peletna jedra. Previsoke koncentracije emulgatorja so nezaželene, saj lahko povzročijo toksične učinke, alergične reakcije in poškodbe gastrointestinalne sluznice (33).

Razvoj optimiziranih formulacij, kot so suhe emulzije, prinaša z majhnimi kapljicami oljne faze (reda 0,1  $\mu\text{m}$ ) nekatere **prednosti** v primerjavi s klasičnimi trdnimi FO (30). S terapevtskega vidika lahko v mnogih primerih, zlasti pri slabo topnih ZU, pričakujemo povečanje biološke uporabnosti zdravila (34). Izboljšana biološka uporabnost ob peroralni uporabi je posledica tega, da se pri slabo topnih učinkovinah izognemo kritičnemu parametru, raztapljanju (29). Poleg tega se v primerjavi s klasičnimi emulzijami izognemo tekoči formulaciji, ki je s strani bolnikov zaradi potrebe po volumetričnem odmerjanju slabše sprejeta, dosežemo pa tudi izboljšanje fizikalne stabilnosti sistema ter zaščito pred svetlobo in procesi oksidacije (30, 34).

## 1.4 OBLAGANJE

Oblaganje v vrtinčnoslojnih napravah je zelo pogost tehnološki postopek, predvsem zaradi dobrega nadzorovanja in enostavnosti procesa (8). Naprava omogoča nadzor številnih procesnih in nekaterih konstrukcijskih parametrov, ki vplivajo na proces oblaganja.

Proces oblaganja lahko opišemo s tremi zaporednimi fazami:

- **Faza segrevanja komore in začetnih delcev:** pred oblaganjem je potrebno komoro segreti na ustrezno temperaturo. Sledi vnos začetnih delcev in njihovo segrevanje. S tem želimo preprečiti preveliko omočenje delcev na začetku procesa oblaganja in posledično tvorbo aglomeratov (10). Temperaturo prilagodimo glede na lastnosti sestavin v disperziji in namen obloge.
- **Faza oblaganja:** v tej fazi poteka razprševanje disperzije za oblaganje, pri čemer se kapljice pod vplivom atomiziranega zraka razpršijo v drobne kapljice mikrometrskih velikosti. Velikost slednjih je bistvenega pomena. Premajhne bi izhlapele še preden bi dosegle jedro, prevelike pa lahko vodijo v aglomeracijo (10).
- **Faza sušenja:** ko prenehamo z razprševanjem, se temperatura v komori dvigne. V tej fazi topilo izhlapeva iz delcev in tvori se trdna koherentna obloga (10). Nato lahko filtre še dodatno ročno stresemo, s čimer v komoro prenesemo morebitne adherirane delce ter tako dodatno izboljšamo izkoristek procesa.

Oblagamo lahko s suspenzijami, raztopinami in praškastimi delci. Slednji proces je redkeje uporabljen, zato se bomo osredotočili na oblaganje z disperzijami. Proces poteka z nanosom več plasti obloge na začetna jedra. Ta so lahko nevtralna (peletna) jedra oziroma granule ali kristali učinkovine (24). Gostoto, viskoznost in vizualni izgled kapljevine za oblaganje določajo komponente formulacije, ki so dispergirane ali raztopljene v mediju (8) (3). Izbor sestavin je ključen za doseganje želenih lastnosti obloge in kasneje FO. Obloga je lahko funkcionalna in omogoča pulzirajoče, podaljšano ali zakasnjeno sproščanje (**filmska obloga** za doseganje gastrorezistence) (10), oblagamo pa tudi iz drugih nefunkcionalnih razlogov, ki so omenjeni že v poglavju o uporabi pelet (poglavje 1.1.1).

Med nanosom obloge pride najprej do trka med kapljico disperzije in trdnim delcem, kapljica se enakomerno porazdeli po površini delca in se začne sušiti. V toku toplega zraka začne topilo izhlapevati, istočasno pride do kristalizacije raztopljene snovi oziroma precipitacije v amorfno obliko. Pri tem se tvorijo snovne povezave med delcem in oblogo

ter med posameznimi plastmi obloge. Proces oblaganja se ponavlja, dokler ne dosežemo zelene debeline obloge oziroma vsebnosti ZU v peleti (3, 8).

Oblaganje poteka z večkratnim prehodom trdnih delcev skozi območje razprševanja disperzije za oblaganje. Namen slednjega je nanos čim bolj enakomernega sloja obloge. Hitrost sušenja delcev mora biti pri tem ustrezna, da preprečimo prodiranje topila v začetna jedra (8). Da ne bi prihajalo do neželenega sprijemanja delcev med seboj in tvorbe aglomeratov, je pomembna optimizacija celotnega procesa – od hitrosti razprševanja disperzije do hitrosti vhodnega zraka in številčne gostote delcev ter ostalih dejavnikov.

## 1.5 VRTINČNOSLOJNA TEHNOLOGIJA

Za oblaganje pelet imamo na voljo dva tehnološka postopka, med katerima se odločamo na podlagi funkcionalnosti obloge in lastnosti farmacevtske oblike, ki jo želimo izdelati. Najpogosteje uporabljamo vrtinčnoslojno tehnologijo (ang. »Fluid Bed Technology«) (10).

Vrtinčnoslojna tehnologija nam poleg oblaganja z raztopinami, suspenzijami in praškastimi delci nudi širok nabor procesov, od filmskega oblaganja, sušenja, granuliranja z dograjevanjem, direktno izdelavo pelet do mešanja suhih snovi (3). Bistvo te tehnologije je posebno gibanje trdnih delcev v toku zraka, ki se v mnogih pogledih obnašajo kot tekočina. Temu rečemo potekočinjenje ali fluidizacija. Izraz fluidizacija izvira iz angleške besede za tekočino (»fluid«). Medij za potekočinjenje je plin ali tekočina, v našem primeru poteka fluidizacija z zrakom (8).

Potekočinjenje oziroma fluidizacija je proces, pri katerem se trdni delci obnašajo podobno kot tekočina. Parametri, ki vplivajo na potekočinjenje, so premer in gostota trdnih delcev ter hitrost zraka (9). Ko je hitrost zraka, ki ga vpihavamo v plast delcev majhna, sila teže delcev onemogoča njihovo gibanje. Ob povečevanju hitrosti zraka in posledično sile vzgona preidejo delci iz stacionarnega v fluidizirano stanje – začnejo se gibati in so večino časa ločeni drug od drugega (3). Glede na naraščajočo hitrost zraka lahko gibanje delcev opišemo z naslednjimi fazami potekočinjenja: mehurčkasta faza, faza fluidizacije s čepi, faza turbulentne fluidizacije, hitra fluidizacija, kjer delci preidejo v navidezno lebdeče stanje, in najvišja stopnja potekočinjenja, ki ji rečemo faza pnevmatskega transporta (3, 8).

### 1.5.2 PROCESNA OPREMA ZA OBLAGANJE

Sistem tehnologije z vrtnčenjem je sestavljen iz treh osnovnih enot: vstopne enote za zrak, komore za izvedbo tehnološkega procesa in izstopne enote za zrak. **Vpihovanje zraka** omogoči dvig delcev in njihovo suspendiranje, pri čemer so večino časa delci ločeni drug od drugega. Vstopni zrak je v neposrednem stiku z delci, zato ne sme vsebovati nečistot in prašnih delcev, pred vstopom v komoro pa ga je treba še segreti in uravnati vlažnost. Osrednji del je **komora**, v kateri poteka določen tehnološki proces, na zgornjem delu pa je omejena s **filtri**, ki preprečujejo izstop praškastih komponent in trdnih delcev. Ti se ročno ali samodejno stresajo oziroma spihajo s curkom stisnjenega zraka v določenih časovnih intervalih in s tem preprečijo mašenje ter povečajo izkoristek procesa. V komori je več ključnih elementov, s prilagajanjem katerih lahko nadzorujemo proces: šoba za razprševanje in perforirana distribucijska plošča, za nadzor in opazovanje procesa pa je pomembno tudi okno na komori in sistem za vzorčenje. **Šoba za razprševanje** je navadno dvokanalna, pri čemer je en kanal povezan s črpalko za dovajanje tekočine za oblaganje, drugi pa s kompresorjem za dovajanje stisnjenega zraka. Stisnjen zrak razprši kapljevino na vrhu šobe v drobne kapljice, ki kasneje obložijo delce. Z nadzorom pretoka tekočine in tlaka razprševanja lahko vplivamo na velikost razpršenih kapljic ter posredno na proces oblaganja. **Distribucijska plošča** je na dnu komore in skozi odprtine usmerja tok zraka. Reže so različno velike in razporejene glede na potrebe tehnološkega procesa (3, 8, 10).

Glede na konstrukcijo komore in način razprševanja ločimo tri procesne komore:

- **Komora za razprševanje od spodaj ali Wursterjeva komora** (ang. »bottom spray«)
- **Komora za razprševanje od zgoraj** (ang. »top spray«)
- **Komora za razprševanje od strani ali rotorska komora** (ang. »tangential spray«) (8, 9, 10).

### 1.5.2 WURSTERJEVA KOMORA – »BOTTOM SPRAY« KOMORA

**Wursterjeva komora** je izmed vseh najbolj primerna za oblaganje pelet. Rezultati predhodnega raziskovalnega dela so potrdili, da oblaganje v Wursterjevi komori v primerjavi s »top spray« komoro omogoča izdelavo bolj kakovostne obloge brez prisotnosti por. Oblaganje v Wursterjevi komori je tudi metoda izbora, ko želimo doseči enakomerno debelo plasti obloge, kar je predvsem pomembno pri FO z nadzorovanim

sproščanjem (17). Wursterjeva komora ima obliko prisekanega stožca, pri čemer je najširši del komore zgoraj in ga imenujemo ekspanzijski prostor. Razprševanje kapljevine poteka s spodnje strani. Delci med razprševanjem v toku zraka pospešujejo, ko dosežejo ekspanzijski prostor upočasnijo ter nato zaradi sile teže začno spuščati proti dnu komore zunaj razmejitvenega valja. Proces tako kontinuirano poteka, dokler ne dosežemo želene stopnje obloženosti pelet. Namen oblaganja je tudi doseganje enakomerne debeline plasti obloge na vseh delcih (3, 8, 9).

Posebnost Wursterjeve komore je razmejitveni valj, za kar je bil leta 1953 podeljen tudi patent. Oblika distribucijske plošče v Wursterjevi komori je zasnovana tako, da ima v sredini, pod razmejitvenim valjem, večje in gosteje razporejene odprtine, katerim sledi pas manjših in redkeje razporejenih odprtin. Na zunanem robu je prisoten še pas večjih odprtin, ki zagotavlja večji pretok zraka na obodu komore in tako preprečuje zadrževanje delcev. **Razmejitveni valj (RV)** je postavljen vertikalno nad šobo in omogoča razmejitev med krožečimi delci, ki se gibljejo navzgor po notranji strani valja ter navzdol po zunanji strani (3, 8, 10, 17, 24). Z nastavitvijo velikosti reže uravnavamo tok delcev znotraj RV in posledično vplivamo na sam proces oblaganja. Značilnost Wursterjeve komore je tudi kontinuiran in nadzorovan tok delcev v območju razprševanja (8).

Slabost Wursterjeve komore je nedostopnost šobe za razprševanje. Če se ta med procesom oblaganja zamaši, je potrebno proces prekiniti in šobo očistiti. Oblaganje moramo nato začeti znova, vključujoč tudi temperiranje komore in delcev, kar je časovno in materialno potratno (3). Novejše šobe so zasnovane tako, da je omogočeno samodejno čiščenje med delovanjem naprave, s čimer se izognemo prekinjanju procesa.

### 1.5.3 PROCES OBLAGANJA V WURSTERJEVI KOMORI

Gibanje delcev v Wursterjevi komori lahko razdelimo na 4 področja. Obseg posameznega področja določajo dimenzije komore in nekateri procesni parametri (8).

→ **Področje vertikalnega transporta navzgor:** zrak pospešuje delce navzgor skozi RV, kjer poteka razprševanje kapljevine. Gibanje delcev skozi RV imenujemo pnevmatski transportni proces (8). Tu pride do trka med kapljico obloge in delcem. Adheriranje kapljice na površino delca je odvisna od vlažnosti kapljice, zato je zaželeno, da kapljica čim prej po razpršitvi zadane delec. Po trku sledi močenje površine delca. Ta je odvisna od prodiranja topila v porozne delce in viskoznosti



kapljic (3, 8, 9). Bolj kot so kapljice viskozne, bolj je obloga lepljiva, kar lahko vodi v zlepljanje delcev med seboj, aglomeracijo, lepljenje na stene RV, kar posledično vpliva na vzorec gibanja delcev (3). Zaželeno je, da bi se vsaka kapljica oprijela delca, kar bi vodilo do visokih izkoristkov procesa oblaganja in enakomerno obloženih delcev (8).

- **Področje ekspanzijskega dela komore:** v tem delu se tok vhodnega zraka upočasni, delci pa zaradi sile teže padejo proti dnu komore (3). Zagotovljena mora biti zadostna višina ekspanzijskega dela, da omogoči zaustavljanje delcev, saj bi se sicer zaletavali v filtre (3, 8, 9). Zaletavanje delcev v zgornji del naprave in filtre vodi do krušenja obloge in njene deformacije, vpliva pa tudi na izkoristek (8).
- **Področje vertikalnega vračanja delcev proti dnu:** hitrost zraka je v tem delu pod minimalno, ki omogoča dviganje delcev in je določena z razporeditvijo odprtin v perforirani plošči (8). Delci se tu gibljejo bolj enakomerno in redko trkajo med seboj. Proces, ki tu najintenzivneje poteka, je sušenje obloge. Na spodnjem delu tega področja se vzdržuje rezervoar delcev, ki nato znova vstopajo v proces oblaganja (3, 8, 9).
- **Področje horizontalnega transporta:** delci ob dnu potujejo horizontalno skozi režo med porazdelitveno ploščo in RV. Širina reže določa številčno gostoto delcev, ki preidejo v področje razprševanja. Bistvena pri tem je razlika tlakov med notranjostjo RV in zunaj njega. Hiter pretok zraka znotraj RV povzroči padec tlaka in s tem vlek delcev v to področje (3, 8).

## 2. NAMEN IN NAČRT DELA

Namen našega dela je izdelati in ovrednotiti pelete, obložene s suho emulzijo, ki bi po dispergiranju v vodi ponovno tvorile izhodiščno emulzijo tipa O/V. Za modelno učinkovino smo izbrali ibuprofen, pelete pa bomo izdelali s pomočjo tehnologije zvrtničenih plasti.

Najprej bomo določili topnost izbrane učinkovine v oljni fazi emulzije in jo nato vgradili v disperzijo za oblaganje – emulzijo O/V. Preučevani sistem bodo sestavljali modelna učinkovina ibuprofen, ki izkazuje dobro topnost v oljni fazi, sladkor kot ogrodje suhe emulzije ter površinsko aktivna snov. Formulacijo za oblaganje v obliki klasične emulzije bomo pripravili v različnih razmerjih oljne in vodne faze ter sladkorja. Najustreznejšo sestavo z vidika procesibilnosti v postopku oblaganja in porazdelitve velikosti kapljic oljne faze bomo uporabili kot končno emulzijo za oblaganje. Emulzijo bomo najprej homogenizirali z rotor-stator homogenizatorjem, nato z visokotlačnim homogenizatorjem in na koncu pomerili velikosti kapljic dispergirane oljne faze z raztopljenim ibuprofenom.

Oblaganje pelet bo potekalo z vrtničnoslojno tehnologijo v Wursterjevi komori. Med oblaganjem nevtralnih peletnih jeder z izbrano emulzijo se bo po izhlapevanju vode predvidoma tvoril trden sladkorni matriks, v katerem bodo enkapsulirane oljne kapljice z raztopljeno ZU.

Po oblaganju bomo pelete tudi ovrednotili. Zanima nas predvsem dispergiranje pelet v prečiščeni vodi, saj pričakujemo, da bo po dispergiranju spontano nastala emulzija s primerljivo velikostjo kapljic notranje faze glede na izhodiščno emulzijo. Vrednotenje in porazdelitev velikosti kapljic dispergirane faze emulzije bomo spremljali z lasersko difraktometrijo, velikost in porazdelitev velikosti izdelanih pelet pa s slikovno analizo. Z vrstičnim elektronskim mikroskopom bomo preučevali enakomernost nanesene obloge. Ovrednotili bomo kot močenja simulirane površine pelet z oljno fazo in površinsko aktivno snovjo, pred in med oblaganjem. Simulirano površino pelet bodo predstavljale tablete oziroma ploščice iz manitola in Avicela, ki bodo stisnjene s tabletirko na udarec ali z ročno stiskalnico. Vsebnost učinkovine v peletah bomo določili spektrofotometrično. Izvedli bomo tudi primerjalni preizkus sproščanja učinkovine iz izdelanih pelet in referenčnih, na trgu dostopnih tablet, pri čemer pričakujemo hitrejše sproščanje ZU iz pelet.

### 3. MATERIALI IN METODE

#### 3.1 MATERIALI

→ **Ibuprofen** (Lex, Slovenija)

Ibuprofen ali 2-(p-izobutilfenil)propionska kislina je derivat propionske kisline in ga uvrščamo med nesteroidne protivnetne učinkovine (NSAID) (35). Deluje protivnetno, analgetično in antipiretično, njegov učinek pa je primerljiv z učinkom indometacina (36).

Mehanizem delovanja je povezan z ireverzibilno **inhibicijo ciklooksigenaznega encima (COX)**. Ta sodeluje pri sintezi prostaglandinov, vnetnih mediatorjev, ki nastanejo endogeno iz arahidonske kisline. Sodelujejo pri nastanku bolečine, vnetja in povišane telesne temperature (35). Enkratna uporaba je namenjena predvsem protibolečinski terapiji, medtem ko je kronična uporaba smiselna predvsem pri zdravljenju bolečine, povezane z vnetjem (37). V ta namen ga uporabljamo pri revmatičnih obolenjih in protinu (3).

Glede na indikacijo se lahko odmerjanje razlikuje. Običajen odmerek je 1200-1800 mg na dan v več odmerkih. Pri blagih bolečinskih stanjih apliciramo 400 mg 3- do 4-krat na dan. Pri kronični terapiji ciljamo na majhen vzdrževalni odmerek, ki je še učinkovit. Jemljemo ga skupaj s hrano, če pa želimo hitrejši začetek delovanja, lahko tudi na prazen želodec (ne pri občutljivih osebah) (36).

Ibuprofen ni selektivni zaviralec COX, pri čemer inhibira tudi sintezo prostaglandinov, ki vplivajo na tvorbo zaščitne sluzi na steni želodca. Posledično se kot neželeni učinek lahko pojavljajo krvavitve iz prebavil. Deluje tudi neposredno na agregacijo trombocitov (jo zavre), kar podaljša čas krvavitve. Inhibicija encima COX v ledvicah lahko povzroči zadrževanja vode, natrija in kalija, kar vodi v nastanek edemov. Lahko pa pride tudi do zmanjšane glomerulne filtracije in s tem okvarjene funkcije ledvic (35), zaradi česar je potrebna previdnost pri kroničnih ledvičnih bolnikih (37).

Ibuprofen je optično aktivna spojina, S-izomer pa je biološko aktivnejši tako *in vitro* kot *in vivo*. Je praktično netopen v vodi (1 mg/ml) in dobro topen v organskih topilih, kot je metanol, aceton in diklorometan (35). Zaradi slabe topnosti in dobre permeabilnosti ga uvrščamo v II. razred po klasifikaciji BCS. Za laboratorijsko uporabo je v obliki natrijeve soli ali kot nenabita molekula; slednjo smo za laboratorijsko delo uporabili tudi mi (3). Nahaja se v obliki belega kristaliničnega, zelo kohezivnega praška.

Po peroralni aplikaciji se hitro absorbira, maksimalna plazemska koncentracija je dosežena po 1-2 urah. Biološka uporabnost je 80-90%. Skoraj v celoti (99%) se veže na plazemske beljakovine (35). Biotransformacija poteka s sistemom citokromov P450. Pri tem se večinoma tvorijo oksidacijski presnovki, ki se nato izločijo z urinom (36). Razpolovni čas znaša približno 2 uri (3). Skoraj v celoti se izloči v 24 urah po zadnjem odmerku (36).

→ **Miglyol 812** (Sasol, Nemčija)

Je zmes srednje in dolgoverižnih trigliceridov maščobnih kislin, kot sta kaprinska in kaprilna. Pridobljen je iz kokosovega in palmovega olja (38). Je rumenkasta transparentna tekočina brez okusa in vonja. Pri sobni temperaturi je nekoliko bolj viskozen, strdi se pri 0 °C. V farmaciji ga uporabljamo kot vehikel za tekoče peroralne FO, kot so raztopine, suspenzije ali (mikro)emulzije (3). Uporabljamo ga tudi za izdelavo parenteralnih in dermalnih FO (38).

→ **Tween 20** (Merck, Nemčija)

Tween 20 (polisorbat 20) je kemijsko polioksietilen sorbitan monolavrat. Je prozorna, viskozna površinsko aktivna snov z neionskim značajem (8). Ker je hidrofilne narave, ga uporabljamo kot emulgator in stabilizator emulzij tipa O/V, z vrednostjo HLB 16,7 (39). Površinsko aktivnost izkazuje v območju pH vrednosti od 3 do 10. Zaradi nizke toksičnosti in stabilnosti ga uporabljamo tudi v prehrabni industriji kot vlažilec in biotehnologiji kot solubilizator membranskih proteinov (39). Podobne lastnosti in uporabo ima **Tween 40**.

→ **Span 80** (Merck, Nemčija)

Span 80 (sorbitan monooleat) je neionogena površinsko aktivna snov. Je snov brez barve, z lipofilnim značajem. Uporabljamo ga v kozmetičnih in prehranskih izdelkih ter v farmaciji kot emulgator za emulgiranje emulzij tipa V/O. Ima vrednost HLB 4,3 (40). Pogosto ga kombiniramo z drugimi emulgatorji za doseganje želene vrednosti HLB.

→ **Manitol** (Lek, Slovenija)

Manitol je kemijsko poliol. Najdemo ga v obliki belega, nehigroskopskega, kristaliničnega praška ali granul. Je dobro topen v vodi in slabo topen v etanolu (3). V farmacevtski industriji je široko uporaben, najpogosteje kot polnilo pri direktnem stiskanju tablet

(uporaba ZU občutljivih na vlago) ali pri izdelavi žvečljivih tablet zaradi sladkega okusa (12). Mi smo ga uporabili za tvorbo sladkornega ogrodja suhih emulzij.

→ **Laktoza** (Lek, Slovenija)

Laktoza je disaharid galaktoze in glukoze. Pridobivamo jo iz mleka. Nahaja se v obliki suhega kristaliničnega ali sipkega praška. V farmaciji je zaradi nizke cene, fizikalno-kemijske stabilnosti in dostopnosti široko uporabna. Ima sladek okus in je zato uporabna kot snov za prekrivanja neprijetnega in grenkega okusa ZU (41). Uporabljamo jo kot polnilo pri izdelavi kapsul in tablet, za filmsko oblaganje v obliki suspenzij in raztopin, pri granuliranju pa kot vezivo (12).

→ **Celllets<sup>®</sup> 200** (Harke Pharma GmbH, Nemčija)

Celllets<sup>®</sup> 200 so nevtralna peletna jedra, izdelana iz mikrokristalne celuloze, katerih velikost znaša med 200 in 355  $\mu\text{m}$ . Gre za trdne, okrogle ali skoraj okrogle delce bele barve, ki smo jih uporabili kot nevtralna jedra pri procesu oblaganja (9). Na trgu so na voljo tudi druge velikosti.

→ **Metanol** (za analizo, čistost  $\geq 99,8\%$ ; Merck, Nemčija)

Metanol je brezbarvna, hlapna tekočina, ki se meša z vodo v vsakem razmerju, slabše pa topi olja in ostale lipofilne snovi (3). Je vnetljiv, zato je potrebna pozornost pri rokovanju. Uporabljamo ga kot topilo, mi smo ga uporabili kot topilo pri ekstrakciji ibuprofena.

→ **Pharmacoat 606** (Shin-Etsu, Japonska)

Pharmacoat je zaščiteno ime za HPMC (hidroksipropilmetil celuloza). Je v obliki granul ali belega praška, brez vonja in okusa. Netopna je v večini organskih topil (etanol, eter), topi pa se v zmesih vode in etanola ali etanola in diklorometana. Uporablja se pri izdelavi peroralnih suspenzij in tablet ter za dermalno uporabo (40). Pogosto jo uporabljamo tudi kot vezivo ali za filmsko oblaganje (3). Mi smo jo uporabili kot oblogo pelet z namenom preprečiti njihovo zlepljanje med shranjevanjem.

→ **PEG 6000** (Fluka, Švica)

PEG 6000 je kemijsko polietilen glikol, najdemo ga tudi pod imenom makrogol. Nahaja se v trdnem stanju, v obliki prahu ali kosmičev. Število 6000 pomeni povprečno molekulsko

maso, ki narekuje agregatno stanje. Je bele barve in ima rahlo sladek vonj. Zaradi hidrofilnosti je topen v vodi (8). Uporaba je široka, pri trdnih FO, kjer ga lahko dodajamo kot mazivo ali dodatek vezivom, za filmsko oblaganje kot plastifikator, kot tudi pri parenteralnih, dermalnih, oftalmičnih in drugih formulacijah (40).

→ **Petroleter** (Merck, Nemčija)

Je zmes ogljikovodikov C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>. Nahaja se v obliki prozorne tekočine z močnim vonjem, ki povzroča omotico in zaspanost (42). Je lahko hlapen, zato je nujno rokovanje v digestoriju. Uporabljamo ga kot topilo, vendar se njegovi uporabi zaradi toksičnosti izogibamo. Vrelišče ima že pri 40-70 °C (42). Uporabili smo ga pri ekstrakciji ibuprofena iz pelet.

Ostali materiali, ki smo jih uporabili, so še:

→ **Natrijev lavril sulfat (SDS)** (Sigma Aldrich, Nemčija): anionska PAS

→ **Prečiščena voda:** vodna faza v emulziji, za raztapljanje sladkorja

→ **Avicel PH-200** (Lek, Slovenija): mikrokristalna celuloza, sestavina peletnih jeder; uporabili smo ga za izdelavo ploščice za določanje kota močenja

→ **KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> in NaOH** (Merck, Nemčija): izdelava fosfatnega pufra

→ **Koncentrirana H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>** (Merck, Nemčija): uravnavanje pH fosfatnega pufra

## 3.2 METODE

### 3.2.1 TOPNOST UČINKOVINE

#### 3.2.1.1 UMERITVENA PREMICA

Cilj našega dela je obložiti pelete z oblogo, ki vsebuje ibuprofen. Zato smo razvili metodo za določanje vsebnosti učinkovine v končnem produktu.

→ **Priprava standardne raztopine**

Za izdelavo umeritvene premice smo najprej pripravili standardno raztopino z znano koncentracijo ZU. V 100-ml bučko smo natančno natehtali približno 300 mg ibuprofena ter dopolnili z metanolom do oznake. Naredili smo dve paraleli. Natehti ibuprofena sta bili 300,7 mg in 300,1 mg. Ko se je ves ibuprofen raztopil, smo z uporabo merilnih pipet, bučk in metanola pripravili raztopine s koncentracijami, ki so navedene v preglednici I.

### → Določanje koncentracije ibuprofena z UV/VIS-spektroskopijo

Vzorci z znanimi koncentracijami ibuprofena smo prenesli v kiveto, ki smo jo pred tem dvakrat sprali z metanolom. Nato smo z UV/VIS-spektrofotometrom (HP 8453, Hewlett-Packard, USA) pomerili absorbance vzorcev. Meritve absorbance smo izvedli pri valovni dolžini  $\lambda_{\max}=220$  nm, kjer ima ibuprofen maksimum absorpcije, in jih predstavili v preglednici I. Slepri vzorec je bil metanol, ki smo ga uporabili za brisanje ozadja.

**Preglednica I:** Odvisnost absorbance od koncentracije ibuprofena, raztopljenega v metanolu.

1. paralela		2. paralela	
Koncentracija [mg/ml]	Absorbanca	Koncentracija [mg/ml]	Absorbanca
$4,8106 \times 10^{-3}$	0,20808	$4,8016 \times 10^{-3}$	0,20808
$9,6211 \times 10^{-3}$	0,41616	$9,6032 \times 10^{-3}$	0,41538
$11,5453 \times 10^{-3}$	0,49939	$11,5238 \times 10^{-3}$	0,49907
$15,033 \times 10^{-3}$	0,65024	$15,005 \times 10^{-3}$	0,64903
$19,2422 \times 10^{-3}$	0,83231	$19,2064 \times 10^{-3}$	0,83076

Iz dobljenih točk smo narisali premico in izračunali Pearsonov koeficient korelacije ( $R^2$ ). Slednji znaša  $R^2=0,9989$ . Umeritvena premica je prikazana z enačbo 1:

$$c = 2,3119 \times 10^{-2} \text{ mg/ml} \times A \quad (1)$$

c – koncentracija

A – absorbanca

#### 3.2.1.2 DOLOČANJE NASIČENE TOPNOSTI IBUPROFENA V OLJNI FAZI

Nasičeno topnost ZU ibuprofena v Miglyolu 812 smo določili po postopku, ki so ga uporabili v diplomski nalogi, ki se je ukvarjala s podobnim eksperimentalnim delom kot mi (3). Najprej smo pripravili nasičeno suspenzijo ibuprofena v Miglyolu. Nasičena suspenzija je suspenzija ZU s koncentracijo, ki je večja od nasičene topnosti, zaradi česar v vzorcu ostanejo neraztopljeni delci ZU. V 50-ml bučko smo natehtali 25,006 g ibuprofena, do oznake dopolnili z metanolom in čez noč mešali na magnetnem mešalu. Naslednji dan smo suspenzijo centrifugirali 10 minut pri 3000 rpm. S tem smo izločili trdne neraztopljene delce ZU, ki bi lahko vplivali na analizo z UV/VIS-spektrofotometrom. Vzorce smo redčili z metanolom v razmerju 27:250.000. Naredili smo 4 paralele. Analizno določene koncentracije posameznih paralel so znašale 77,0 mg/ml, 81,4 mg/ml, 87,4 mg/ml in 89,8

mg/ml. Tako določena povprečna vrednost nasičene topnosti pri sobni temperaturi (25 °C) je znašala 83,9 mg/ml.

#### → **Postopek merjenja absorbance z UV/VIS-spektrofotometrom**

Postopek analize vzorcev z UV/VIS-spektrofotometrom je bil enak kot pri analizi vzorcev za umeritveno premico. Tudi absorbanco smo merili pri enaki valovni dolžini. Ker je bilo pri vzorcih za nasičeno topnost prisotno olje (Miglyol 812), ki ga pri izdelavi umeritvene premice nismo upoštevali, je bilo potrebno preveriti še vpliv olja na meritve absorbance. Slep vzorec, ki smo ga uporabili za brisanje ozadja, je vseboval Miglyol 812 in metanol v razmerju 27:250000.

Preverili smo ustreznost analizne metode z vidika točnosti metode v izbranem koncentracijskem območju za določanje vsebnosti ibuprofena v oljni raztopini. Pripravili smo raztopino z znano koncentracijo ibuprofena v Miglyolu. V 25-ml bučko smo natehtali 1003,9 mg ibuprofena in do oznake dopolnili z Miglyolom. Pripravljeno raztopino s teoretično koncentracijo 40,2 mg/ml smo pustili mešati čez noč na magnetnem mešalu. Izračunano vrednost koncentracije, ki izhaja iz zatehte, v magistrski nalogi opredeljujemo kot teoretično vrednost koncentracije. Bistvenih razlik med teoretično in analizno določeno koncentracijo pripravljenega vzorca ni bilo. Analizno določena vrednost je znašala 41,7 mg/ml. To pomeni, da je izbrana metoda za določanje nasičene topnosti dovolj točna.

Izmerjena vrednost nasičene topnosti ZU pri 25 °C je bila 83,9 mg/ml. Ta vrednost je v primerjavi z nasičeno topnostjo ZU, ki je bila v omenjeni diplomski nalogi določena po enakem postopku (3), občutno prenizka. Nasičena topnost ZU v omenjeni diplomski nalogi je pri 25 °C znašala okrog 200 mg/ml. Pomislili smo, da je odstopanje dobljenega rezultata topnosti od rezultatov topnosti iz diplomske naloge (3) lahko posledica uporabe neustrezno shranjenega olja. Slednje je bilo dlje časa odprto, kar bi lahko pomenilo oksidacijo olja in posledično netočne rezultate pri analizi. Zato smo topnost določili tudi v Miglyolu N 812, vzetem iz originalno odprte in ustrezno shranjene embalaže. Pripravili smo suspenzijo s teoretično koncentracijo ibuprofena 160,0 mg/ml z Miglyolom N 812 in jo mešali čez noč na magnetnem mešalu pri 25 °C. Ibuprofen se ni v celoti raztopil, kar pomeni, da je bila nasičena topnost še vedno nizka glede na določeno nasičeno topnost v omenjeni diplomski nalogi (3). Sklepamo, da vzrok za nizko topnost ni staro olje. Nato smo isto oljno suspenzijo učinkovine dali ponovno mešati čez noč, tokrat pri povišani temperaturi, in



sicer 37 °C. Vsa ZU se je raztopila in tudi analiza raztopljenega ibuprofena z UV/VIS-spektroskopijo je dala zelo primerljive rezultate glede na teoretično vrednost vsebnosti ZU v olju. Izmerjena koncentracija ibuprofena je znašala 161,3 mg/ml. S tem smo dokazali, da je metoda točna tudi pri višjih koncentracijah ZU. Točnost metode smo želeli potrditi iz sledečih razlogov. Dokazali smo, da se koncentracije ibuprofena, pridobljene z analizno metodo, skladajo z vsebnostjo ibuprofena v vzorcu, ki izhaja iz natehte. Poleg tega pa je metoda določanja vsebnosti ibuprofena pomembna za oceno uspešnosti oblaganja pelet, saj smo z isto analizno metodo določili tudi vsebnost ZU v končnem produktu.

Naslednja prilagoditev pri določanju nasičene topnosti je bil dodatek PAS, s čimer smo želeli povečati topnost ZU in preveriti vpliv dodatka PAS na stabilnost tako pripravljene raztopine. Najprej smo pripravili večjo količino mešanice Miglyola 812 in **3,5% Tweena 20**. Odstotki površinsko aktivne snovi se nanašajo na maso olja in gre za masno masne (m/m) odstotke. V dve 25-ml bučki smo natehtali 4005,7 mg in 4001,5 mg ibuprofena ter do oznake dopolnili z mešanico Miglyola 812 in Tweena 20. Dobili smo vzorca s teoretičnima koncentracijama 160,2 mg/ml in 160,1 mg/ml. En vzorec smo mešali pri 25 °C, drugega pri 37 °C. V prvem primeru se ZU ni popolnoma raztopila, pri povišani temperaturi pa se je. Po 15625-kratnem redčenju z metanolom smo vzorcu, ki je bil pripravljen pri 37 °C, izmerili absorbanco. Koncentracija, preračunana s pomočjo umeritvene premice, je znašala 161,2 mg/ml. Slepí vzorec, ki smo ga uporabili za brisanje ozadja, je predstavljala 3,5% raztopina Tweena 20 v Miglyolu. Faktor redčenja pri slepem vzorcu je bil enak kot pri pripravi vzorcev s 3,5% Tweena 20.

Ker je v obeh vzorcih (z in brez dodatka Tweena 20) po segrevanju pri 37 °C po nekaj urah na sobni temperaturi prišlo do kristaliziranja ZU, smo pri naslednjem poskusu povečali koncentracijo PAS. Z vizualno primerjavo obeh vzorcev smo ugotovili, da je bil obseg kristalizacije ZU v vzorcu z dodano PAS manj obsežen, kar pomeni, da dodatek PAS lahko izboljša topnost učinkovine. Pripravili smo mešanico Miglyola s **7% Tweena 20** glede na maso olja. V 25-ml bučko smo natehtali 4001,5 mg ibuprofena in do oznake dopolnili s pripravljeno mešanico Miglyola in Tweena 20. Tako pripravljen vzorec s koncentracijo 160,1 mg/ml smo med mešanjem segrevali pri 37 °C. Pri shranjevanju pri 25 °C je čez noč prišlo do minimalnega kristaliziranja ZU. Pripravili smo še vzorca z **10% Tweena 20** (z vsebnostjo ZU 160,0 mg/ml) ter **12% Tweena 20** (z vsebnostjo ZU 159,1 mg/ml). Po enem dnevu shranjevanja raztopine z 12% Tweena 20 pri 25 °C ni bilo videti kristalov ZU.

## 3.2.2 PRIPRAVA IN HOMOGENIZACIJA EMULZIJE ZA OBLAGANJE TER NJENO VREDNOTENJE

### 3.2.2.1 PRIPRAVA EMULZIJE

V manjšo čašo smo natehtali Miglyol 812 in mu med segrevanjem pri 37 °C na magnetnem mešalu dodali ibuprofen. V večjo čašo smo natehtali sladkor, vodo in PAS ter mešali med segrevanjem pri 37 °C. Ko so se vse sestavine raztopile, smo OF dodali k sladkorni fazi (SF) in homogenizirali z ultraturaxsom (Ultra-turrax T25, IKA-Labortechnik, Nemčija).

Pri izdelavi emulzije smo se sprva osredotočili na ponovitev poskusa izdelave obloge suhe emulzije, kjer so kot PAS uporabili SDS (3). Uporabljeno formulacijo smo želeli optimizirati z vidika uporabe neionske PAS v ustrezni koncentraciji ter glede na velikost kapljic dispergirane faze in stabilnost izdelane emulzije. Sledili so poskusi z različnimi m/m odstotki PAS (Tween 20, Tween 40 ter kombinacija Span 80 in Tween 20). Razmerje mas **sladkorna faza:oljna faza** je bilo vseskozi **2,5:1**. Spreminjali smo sledeče faktorje:

→ **površinsko aktivna snov:** SDS, Tween 20, Tween 40, Tween 20 + Span 80.

SDS smo uporabili le pri eni emulziji. Znano je, da SDS poveča prehod skozi tesne stike v intestinalnem epitelju (paracelularna permeabilnost), kar ima lahko toksične učinke (43). Omejili smo se na uporabo neionskih PAS, ki niso toksični (44).

Uporabili smo Tween 20 in 40, ki sta znana kot varna in netoksična emulgatorja (45). Vrednost HLB Miglyola 812 je 15,3 (45). Čeprav vrednost HLB Tweena 40 znaša 15,6 in je bližje vrednosti HLB Miglyola 812 (45), se je pri emulgiranju bolje obnesel Tween 20 z vrednostjo HLB 16,7. Po izdelavi emulzij s 3,5% in 5% Tweena 40 so v njih ostali neraztopljeni delci, zato smo se odločili za uporabo Tweena 20. Kombinacijo Tween 20 in Span 80 (z vrednostjo HLB 4,3) smo uporabili za doseganje optimalne vrednosti HLB (40). Kljub temu so imele kapljice dispergirane faze, merjene z lasersko difrakcijo, manjšo velikost ravno pri uporabi samega Tweena 20.

→ **delež površinsko aktivne snovi:**

Delež PAS smo spreminjali v območju od 1 do 12% (m/m) glede na OF (Preglednica II).

**Preglednica II:** Predstavitev uporabljenih deležev PAS pri izdelavi emulzij.

<b>Površinsko aktivna snov</b>	<b>Odstotek PAS</b>
<b>Tween 40</b>	5%
<b>Tween 20</b>	1%, 2%, 3,5%, 5%, 6%, 7%, 10%, 12%
<b>Tween 20 + Span 80</b>	1%, 2%, 3,5%, 5%, 6%, 7%

### 3.2.2.2 HOMOGENIZACIJA EMULZIJE

Izdelano emulzijo smo homogenizirali z ultraturaksom in VTH (Two stage APV-2000, ZDA). Najprej smo uporabili rotor-stator homogenizator in emulzijo homogenizirali 5 minut pri 8000 rpm, nato še 3 minute pri 10000 rpm. Sledilo je homogeniziranje z dvostopenjskim VTH. Pred uporabo smo aparaturo očistili z etanolom in prečiščeno vodo, nato smo vlili pripravljeno emulzijo v posodo na vrhu VTH. Tlak na prvi stopnji smo nastavili na 20 barov, na drugi pa na 200 barov. Homogenizirano emulzijo smo lovili v čašo in jo znova nalili v posodo na vrhu. Postopek smo ponovili trikrat.

Homogenizaciji emulzije je sledilo vrednotenje velikosti dispergirane faze s pomočjo laserskega difraktometra. Pred tem smo morali pomeriti še refrakcijski indeks (RI) vodne raztopine manitola, gostoto in refrakcijski indeks oljne faze, ki so nam omogočili določanje velikosti oljnih kapljic emulzije in njihovo porazdelitev velikosti.

### 3.2.2.3 DOLOČANJE REFRAKCIJSKEGA INDEKSA

Lomni količnik ali refrakcijski indeks (RI) nam pove razmerje hitrosti svetlobe v zraku in v preskušani snovi. V razredčenih raztopinah je odvisnost RI od koncentracije linearna; večja kot je koncentracija, večji je RI.

Refraktometer smo najprej sprali z izopropanolom in ga do suhega obrisali. Na del za merjenje smo nato kanili nekaj kapljic OF z raztopljenim ibuprofenom. Naredili smo tri ponovitve. Enako meritev smo izvedli z raztopino manitola v prečiščeni vodi, ki predstavlja disperzni medij (DM). Postopek smo ponovili trikrat. Povprečno vrednost smo nato vnesli v računalnik, ki je povezan z laserskim difraktometrom.

### 3.2.2.4 DOLOČANJE GOSTOTE S PIKNOMETROM

S piknometrom določamo relativno gostoto tekočine (določamo jo glede na prečiščeno vodo). Piknometrom smo posušili do suhega in ga stehali. Nato smo ga napolnili malo nad

oznako z OF, v kateri smo raztopili ibuprofen, in ga pustili 10 minut v vodi z 20 °C. Tekočino smo nato izravnali do oznake, piknometrom obrisali in ga stehali. Enak postopek smo ponovili s prečiščeno vodo. Relativno gostoto oljne faze smo izračunali po enačbi 2:

$$\rho_{rel} = \frac{m_{p(OF)} - m_{pr}}{m_{p(V)} - m_{pr}} \quad (2)$$

$\rho_{rel}$  – relativna gostota

$m_{pr}$  – masa praznega piknometra

$m_{p(OF)}$  – masa piknometra, napolnjenega z oljno fazo

$m_{p(V)}$  – masa piknometra, napolnjenega s prečiščeno vodo

### 3.2.2.5 DOLOČANJE VELIKOSTI KAPLJIC NOTRANJE FAZE Z LASERSKO DIFRAKCIJO

Homogeniziranim emulzijam smo **takoj po izdelavi, po 7 in 90 dneh** pomerili velikost kapljic OF in njihovo porazdelitev velikosti. Analiza je potekala z lasersko difrakcijo (Masterseizer S, Malvern Instruments, Velika Britanija). Metoda merjenja temelji na merjenju intenzitete uklona laserskega žarka, ki potuje skozi disperzijo. Kot odboja žarka je obratno sorazmeren z velikostjo kapljic OF, zato imajo večji delci manjši kot odboja.

V posebno dozirno posodo, z vgrajenim mešalom, smo nalili disperzni medij, ki smo ga pred tem pripravili z raztapljanjem 280,00 g manitola v 1600,17 g prečiščene vode pri 37 °C. Da bi dobili čim boljši približek uporabljene emulzije, je imel disperzni medij enako sestavo kot sladkorna faza v emulziji. Obrate mešala smo nastavili na 1500 rpm in nato emulzijo s kapalko dodajali v DM. Zaradi mešanja se je emulzija enakomerno porazdelila v mediju in skozi cev prišla do merilne celice. Po vsaki uporabi in med posameznimi meritvami smo dozirno posodo očistili s prečiščeno vodo in izopropanolom.

Računalnik je meritve obdelal, da smo dobili izrisane grafe številčne gostote kapljic v odvisnosti od njihove velikosti. Rezultati laserske difraktometrije so podani kot  $D(v, 0,1)$ ,  $D(v, 0,9)$  in  $D(v, 0,5)$ . Slednji nam pove, da ima 50% delcev premer pod to velikostjo (3).

Izdelane emulzije smo pokrili s parafilmom in jih shranili v temni omari na sobni temperaturi. Meritve na laserskem difraktometru smo ponovili še čez 7 in 90 dni.

### 3.2.3 OBLAGANJE PELET

#### 3.2.3.1 OBLAGANJE PELETNIH JEDER

Oblaganje smo izvedli v Wursterjevi komori. Uporabili smo vrtinčnoslojno opremo GPCG1 (Glatt GmbH, Nemčija). Ta je sklopljena s kompresorjem, peristaltično črpalko in razvlaževalcem zraka. Za razprševanje smo uporabili dvokanalno šobo z notranjim premerom 0,8 mm. V komoro smo namestili razmejitveni valj in vrečaste filtre.

#### → Priprava pred oblaganjem

Pred začetkom oblaganja smo komoro nekaj minut **segrevali**, dokler temperatura zraka v komori ni dosegla 40 °C. Med tem smo nastavili še tlak razprševanja in hitrost (pretok) vstopnega zraka. Nato smo v komoro dodali približno 200 g peletnih jeder Cellets® 200 in tudi te segrevali do temperature 40 °C. Čašo z emulzijo za oblaganje smo postavili na tehtnico in vanjo namestili cev črpalke. Tehtnico z napolnjeno cevjo in čašo smo starirali. Nastavili smo še hitrost vrtenja črpalke. Ko so jedra dosegla 40 °C, smo pričeli z **razprševanjem** in s štoparico merili čas. Nanašanje obloge je sprva potekalo počasneje, saj so ravno prve minute najbolj kritične in bi ob prehitrem dodajanju obloge lahko prišlo do združevanja delcev v aglomerate. Ko je proces stekel, procesnih parametrov nismo več spreminjali oziroma le po potrebi. Razprševanje smo zaključili, ko smo na jedra nanegli okrog 1800 g emulzije (pri poskusih, ki so bili izvedeni do konca). Sledila je faza **sušenja** produkta pri temperaturi vhodnega zraka 55 °C. Ko je produkt po nekaj minutah dosegel 45 °C, smo sušenje zaključili.

**Preglednica III:** Pregled procesnih parametrov med posameznimi fazami oblaganja.

	T vhodnega zraka [°C]	Hitrost razprševanja [g/min]	Hitrost vhodnega zraka [m/s]	T produkta [°C]	Čas [min]
<b>Segrevanje komore</b>	45	/	6	40	3
<b>Segrevanje peletnih jeder</b>	45	/	6	40	3
<b>Razprševanje</b>	50	5	6	42-36	1.-5.
		7			6.-9.
		10			10.-180.
<b>Sušenje</b>	55	/	6	45	3

## → Poskusi oblaganja

Potek poskusov oblaganja peletnih jeder z rezultati razvoja procesov oblaganja so navedeni v sistemu preglednic IV.

**Sistem preglednic IV:** Sestava disperzije in količine uporabljenih pomožnih snovi in ZU, potrebne za izračun izkoristka pri posameznem poskusu oblaganja.

Oznaka lab. poskusa: P1	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
SF:OF = 2,3:1 w(Tween 20) = 12%	m(ibu) = 16,06 g m(Miglyol) = 92,03 g m(Tween 20) = 13,00 g m(manitol) = 280,09 g <u>m(pr. H<sub>2</sub>O) = 1600,29 g</u> m(ce. disp) = 2001,47 g	w(s.s.) = 20,04%  m(jeder) = 200,06 g m(up. disp) = 66 g m(prod) = /	LOD <sub>z</sub> = 3,78% LOD <sub>k</sub> = /

**Komentar P1:** poskus smo po 9 minutah prekinili, saj je prišlo do sprijemanja delcev med sabo. Vzrok za to je morda emulzija, ki je bila homogenizirana 3 dni pred oblaganjem.

Oznaka lab. poskusa: P2	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
SF:OF = 2,3:1 w(Tween 20) = 12%	m(ibu) = 16,06 g m(Miglyol) = 92,03 g m(Tween 20) = 13,00 g m(manitol) = 280,09 g <u>m(pr. H<sub>2</sub>O) = 1600,29 g</u> m(ce. disp) = 2001,47 g	w(s.s.) = 20,04%  m(jeder) = 200,00 g m(up. disp) = 1750 g m(prod) = 509,48 g	LOD <sub>z</sub> = 3,80% LOD <sub>k</sub> = 0,58%

**Komentar P2:** emulzijo iz prejšnjega poskusa smo znova homogenizirali in uporabili. Poskus smo prekinili po 175 minutah. Izdelane pelete so nekoliko »mastne« na otip.

Oznaka lab. poskusa: P3	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
SF:OF = 2,5:1 w(Tween 20) = 12%	m(ibu) = 16,00 g m(Miglyol) = 92,05 g m(Tween 20) = 12,95 g m(manitol) = 302,41 g <u>m(pr. H<sub>2</sub>O) = 1601,29 g</u> m(ce. disp) = 2024,34 g	w(s.s.) = 20,90%  m(jeder) = 200,02 g m(up. disp) = 1770 g m(prod) = 509,48 g	LOD <sub>z</sub> = 3,62% LOD <sub>k</sub> = 0,64%

**Komentar P3:** zaradi na otip »mastnih« pelet v prejšnjem poskusu smo povečali razmerje SF:OF v prid sladkorni fazi. Po dveh urah oblaganja prihaja do pulzirajočega toka pelet in njihovega neenakomernega kroženja. Znižali smo temperaturo vhodnega zraka.

Oznaka lab. poskusa: P4	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
SF:OF = 2,5:1 w(Tween 20) = 12%	m(ibu) = 8,02 g m(Miglyol) = 46,07 g m(Tween 20) = 6,49 g m(laktoza) = 135,1 g <u>m(pr. H<sub>2</sub>O) = 800,10 g</u> m(ce. disp) = 995,78 g	w(s.s.) = 19,65%  m(jeder) = 200,04 g m(up. disp) = 25 g m(prod) = / g	LOD <sub>z</sub> = 3,57% LOD <sub>k</sub> = /

**Komentar P4:** po 5 minutah oblaganja se pretočnost pelet skozi RV močno zmanjša, zato smo proces ustavili. Sklepamo, da je vzrok za to uporaba laktoze. Možen vzrok je tudi previsok odstotek PAS, ki povzroči zlepljanje delcev.

Oznaka lab. poskusa: P5	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
	m(laktoza) = 135,16 g <u>m(pr. H<sub>2</sub>O) = 800,39 g</u> m(ce. disp) = 935,55 g	w(s.s.) = 14,44% m(jeder) = 200,15 g m(up. disp) = 98 g	LOD <sub>z</sub> = 3,28% LOD <sub>k</sub> = /

**Komentar P5:** da bi preverili vpliv laktoze na oblaganje, smo pripravili raztopino laktoze v prečiščeni vodi. Emulzijo smo razprševali pri 5 rpm. Če smo hitrost razprševanja povečali, pelete niso lepo fluidizirale in prehajale skozi območje RV. Poskus smo po 15 minutah zaključili. Po oblaganju so bile pelete na otip lepljive.

Oznaka lab. poskusa: P6	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
SF:OF = 2,5:1 w(Tween 20) = 6%	m(ibu) = 8,06 g m(Miglyol) = 46,15 g m(Tween 20) = 3,38 g m(manitol) = 135,10 g <u>m(pr. H<sub>2</sub>O) = 800,33 g</u> m(ce. disp) = 993,02 g	w(s.s.) = 19,40%  m(jeder) = 200,04 g m(up. disp) = 876,25 g m(prod) = 340,74 g	LOD <sub>z</sub> = 3,84% LOD <sub>k</sub> = 1,36%

**Komentar P6:** zmanjšali smo odstotek PAS na 6%. Proces je do 35. minute lepo potekal in ni bilo lepljenja jeder na zgornji rob RV. Kasneje so se delci začeli nekoliko lepiti na RV, vendar ni bilo vidnih skupkov delcev, zato poskus nadaljujemo. Številčna gostota delcev je velika, kroženje pa enakomerno. Oblaganje smo zaključili po 93 minutah.

Oznaka lab. poskusa: P7	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
SF:OF = 2,5:1 w(Tween 20) = 9%	m(ibu) = 8,08 g m(Miglyol) = 46,09 g m(Tween 20) = 4,86 g m(manitol) = 135,14 g m(pr. H <sub>2</sub> O) = 800,74 g m(ce. disp) = 994,91 g	w(s.s.) = 19,52%  m(jeder) = 200,06 g m(up. disp) = 800,09 g m(prod) = 322,16 g	LOD <sub>z</sub> = 3,80% LOD <sub>k</sub> = 1,17%

**Komentar P7:** povečali smo odstotek PAS na 9%. Proces je potekal uspešno do 60. minute, ko so se začeli pojavljati manjši aglomerati. Čeprav ni bilo lepljenja jeder na zgornji rob RV in je bilo mašenje filtrov majhno, ocenjujemo, da je bil pretok delcev skozi RV boljši v prejšnjem poskusu (P6).

Oznaka lab. poskusa: P8	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
SF:OF = 2:1 w(Tween 20) = 6%	m(ibu) = 4,02 g m(Miglyol) = 23,04 g m(Tween 20) = 1,67 g m(manitol) = 54,00 g m(pr. H <sub>2</sub> O) = 400,15 g m(ce. disp) = 482,88 g	w(s.s.) = 17,13%  m(jeder) = 200,02 g m(up. disp) = 403,41 g m(prod.) = 228,30 g	LOD <sub>z</sub> = 3,74% LOD <sub>k</sub> = 1,64%

**Komentar P8:** zmanjšali smo razmerje SF:OF. Prvih 15. minut jedra niso enakomerno krožila, nato se pretočnost delcev skozi RV izboljša. Prišlo je do precejšnjega lepljenja delcev na notranjo stran RV. Poskus smo po 46 minutah ustavili.

Oznaka lab. poskusa: P9	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
SF:OF = 2:1 w(Tween 20) = 6%	m(ce. disp) = 1930,83 g w(s.s.) = 17,12%	m(jeder) = 200,06 g m(up. disp) = 1815 g m(prod) = 435,83	LOD <sub>z</sub> = 3,74% LOD <sub>k</sub> = 1,04%

**Komentar P9:** pripravimo dvakrat večjo količino emulzije z enako sestavo kot v prejšnjem poskusu. Prvih 20 minut je kritičnih, saj prihaja do lepljenja delcev na stene RV in neenakomernega kroženja. Kasneje se tok delcev izboljša in postane bolj enakomeren. Prišlo je do mašenja filtrov, kar smo skušali rešiti z povečano odprtostjo lopute za vhodni zrak. V 127. minuti je hitrost zraka tako padla, da smo morali proces ustaviti in zamenjati filtre. Oblaganje smo nato zaključili v 184. minuti.



Oznaka lab. poskusa: P10	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	Dodatna obloga
SF:OF = 2,5:1 w (Tween 20) = 6%	m(ibu) = 16,02 g m(Miglyol) = 92,00 g m(Tween 20) = 6,55 g m(manitol) = 270,13 g m(pr. H <sub>2</sub> O) = 1600,79 g m(ceľ. disp) = 1985,49 g	w(s.s.) = 19,38% m(jeder) = 200,01 g m(up. disp) = 1800,2 g m(prod) = 494,53 g	m(HPMC) = 18,01 g m(PEG 6000) = 2,02g m(pr. H <sub>2</sub> O) = 136,56 g m <sub>s</sub> = 200,18 g
		LOD <sub>z</sub> = 3,79% LOD <sub>k</sub> = 1,05%	m(up. disp) = 100 g

**Komentar P10:** proces oblaganja je potekal dobro, lepljenje na stene RV je bilo minimalno. Nanesli smo 1800,2 g obloge. Ker so se pelete iz prejšnjega poskusa med shranjevanjem zlepile med seboj, smo po oblaganju nanesli še dodatno polimerno oblogo. Pri oblaganju z 9% raztopino HPMC smo dvignili višino RV ter temperaturo in pretok vhodnega zraka, da voda iz disperzije lažje izhlapi.

Poskus P10 predstavlja **prvo fazo oblaganja**, ki se nadaljuje še v poskusih P11 in P12. Pri vseh treh poskusih oblagamo z emulzijo, ki vsebuje 6% Tweena 20 glede na oljno fazo. Sledi nanos obloge iz HPMC (nanašamo 8% raztopino HPMC glede na celotno disperzijo).

Oznaka lab. poskusa: P11	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	Dodatna obloga
SF:OF = 2,5:1 w (Tween 20) = 6%	Enaka kot v P10 w(s.s.) = 19,38%	m(jeder) = 200,09 g m(up. disp) = 1801,25 g m(prod) = 529,00 g	w(HPMC) = 8% m(up. disp) = 110,2 g

**Komentar P11:** vzeli smo 200,09 g produkta iz prejšnjega poskusa in nanje nanesli 1801,25 g obloge. Proces je potekal brez lepljenja delcev na stene komore in stene RV. Ker so začetni delci večji kot v prejšnjem poskusu, imajo boljše pretočne lastnosti in tok delcev skozi RV je enakomernejši. Nanesli smo še 8% disperzijo HPMC. Produkt smo presejali skozi sito z nazivno velikostjo odprtín 1000 µm.

Oznaka lab. poskusa: P12	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	Dodatna obloga
SF:OF = 2,5:1 w (Tween 20) = 6%	Enaka kot v P10 w(s.s.) = 19,38%	m(jeder) = 200,13 g m(up. disp) = 1800,16 g m(prod) = 513,88 g	w(HPMC) = 8% m(up. disp) = 99,80 g

**Komentar P12:** vzeli smo 200,13 g presejanih obloženih pelet iz poskusa P11. Poskus je ves čas potekal dobro ter brez mašenja filtrov. Oblaganje je potekalo 180 minut, nato smo 12 minut nanašali še disperzijo HPMC. Po koncu procesa smo na notranji strani RV opazili velik skupek pelet, ki je najverjetneje posledica slabo naravnane šobe v središče komore.

Oznaka lab. poskusa: P13	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
SF:OF = 2,5:1 w(SDS) = 2,6%	m(ibu) = 17,63g m(Miglyol) = 101,53 g m(SDS) = 3,13 g m(manitol) = 308,02 g m(pr. H <sub>2</sub> O) = 1762,38 g m(cel. disp) = 2192,69 g	w(s.s.) = 19,62%  m(jeder) = 200,09 g m(up. disp) = 1804,7 g m(prod) = 484,45 g	LOD <sub>z</sub> = 3,89% LOD <sub>k</sub> = 1,23%

**Komentar P13:** Tween 20 smo zamenjali s SDS z namenom ponovitve že izvedenega poskusa (3). Proces je dobro potekal, brez tvorbe aglomeratov. Filtri so se mašili bolj kot pri poskusih s Tweenom 20.

Poskus P13 je **prva faza oblaganja** z 2,6% SDS glede na OF. Oblaganje se nadaljuje v poskusih P14 in P15 z enako sestavo emulzije.

Oznaka lab. poskusa: P14	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
SF:OF = 2,5:1 w(SDS) = 2,6%	Enaka kot v poskusu P13 w(s.s.) = 19,59%	m(jeder) = 201,97 g m(up. disp) = 1796,36 g m(prod) = 540,72 g	LOD <sub>z</sub> = 1,22% LOD <sub>k</sub> = 0,54%

**Komentar P14:** vzeli smo 201,97 g pelet iz prejšnjega poskusa P13 in jih stresli v komoro, kjer so popolnoma zamašile odprtine na distribucijski plošči. Tok delcev kljub povečevanju hitrosti vhodnega zraka ni stekel. Peletam smo nato dodali 1% manitola glede na maso suhe snovi in jih intenzivno premešali v vrečki. Ker pelete še vedno niso fluidizirale in je prišlo do tvorbe kanalčkov v nasutju (ang. »channeling«), smo dodali še 2,5% manitola glede na maso suhe snovi in premešali. RV smo zaradi lažjega kroženja dvignili na 20 mm. Oblaganje je potekalo brez lepljenja na stene komore. Po 2 urah in 57 minutah smo proces zaključili. Produkt smo presejali skozi sito z velikostjo por 1000 µm.

Oznaka lab. poskusa: P15	Sestava emulzije za oblaganje	Količine, potrebne za izračun izkoristka	
SF:OF = 2,5:1 w(SDS) = 2,6%	Enaka kot v poskusu P13 w(s.s.) = 19,53%	m(jeder) = 200,01 g m(up. disp) = 1800,14 g m(prod) = 528,29 g	LOD <sub>z</sub> = 0,65% LOD <sub>k</sub> = 0,29%

**Komentar P15:** nadaljevali smo oblaganje iz poskusa P14. Zaradi manjše številčne gostote je proces ves čas dobro potekal. Aglomeratov ni bilo, prav tako ni bilo mašenja filtrov. Oblaganje smo zaključili v 177. minuti.

m – masa	w – masni delež	prod. – produkt
ibu – ibuprofen	s.s. – suha snov v disperziji	LOD <sub>z</sub> – delež vlage v jedrih
pr. H <sub>2</sub> O – prečiščena voda	up. disp. – uporabljena disperzija	LOD <sub>k</sub> – delež vlage v produktu
cel. disp. – celotna disperzija		

### 3.2.4 VREDNOTENJE OBLOŽENIH PELET

Ker niso bili vsi poskusi oblaganja uspešni, smo se omejili na 6 poskusov, v katerih smo na delce uspeli nanesti celotno količino obloge in so imeli tudi najvišji izkoristek. Ovrednotili smo pelete iz treh zaporednih poskusov oblaganja s 6% emulzijo Tweena 20 (poskusi P10, P11 in P12) ter poskusov oblaganja z emulzijo, ki vsebuje SDS (poskusi P13, P14 in P15).

#### 3.2.4.1 IZKORISTEK PROCESA OBLAGANJA

Celokupni izkoristek procesa oblaganja smo izračunali kot razmerje mas nanesene obloge in suhe snovi v porabljeni disperziji za oblaganje. Pri tem smo upoštevali še vlago v jedrih pred začetkom oblaganja (LOD<sub>z</sub>) in vlago v produktu po oblaganju (LOD<sub>k</sub>). Izračun izkoristka predstavlja sistem spodnjih enačb 3:

$$W_{s.s.} = \frac{m_{s.s.}}{m_{cel.disp}} \quad (3-1)$$

$$\eta_{cel} = \frac{m_{obl}}{m_{s.s.}} = \frac{m_{prod} \times \left(\frac{100-LOD_k}{100}\right) - m_j \times \left(\frac{100-LOD_z}{100}\right)}{m_{up.disp} \times W_{s.s.}} \quad (3-2)$$

w <sub>s.s.</sub> – masni delež suhe snovi	η <sub>cel</sub> – celokupni izkoristek oblaganja	m <sub>up.disp</sub> – masa porabljene disperzije
m <sub>s.s.</sub> – masa suhih snovi v disperziji	m <sub>obl</sub> – masa obloge	LOD <sub>k</sub> – delež vlage v produktu
m <sub>cel.disp</sub> – masa celotne (pripravljene) disperzije	m <sub>prod</sub> – masa produkta	LOD <sub>z</sub> – delež vlage v jedrih
	m <sub>j</sub> – masa začetnih jeder	

#### 3.2.4.2 DISPERGIRANJE OBLOŽENIH PELET V PREČIŠČENI VODI

Ena izmed na začetku postavljenih hipotez je bila, da po dispergiranju obloženih pelet v prečiščeni vodi pride do nastanka emulzije s primerljivo velikostjo kapljic OF, kot je bila v emulziji, s katero smo oblagali peletna jedra. Potrditev te hipoteze bi pomenila, da lahko izdelamo in dosežemo večjo stabilnost formulacije in pri tem ohranimo prednosti emulzije.

Cilj dispergiranja je bil dobiti emulzijo z enako sestavo in s primerljivo velikimi kapljicami oljne faze, kot jih je imela izhodiščna emulzija. Potrebno je bilo izračunati, v koliko prečiščene vode je potrebno dispergirati določeno maso pelet z namenom pridobiti

emulzijo izhodiščne sestave. Količino vode, potrebne za dispergiranje ustrezne mase pelet ( $m_p$ ), smo izračunali po naslednjem sistemu enačb 4:

$$m_{obl} = m_{prod} \times \left( \frac{100 - LOD_k}{100} \right) - m_j \times \left( \frac{100 - LOD_z}{100} \right) \quad (4-1)$$

$$m_{obl.p} = m_p \times \frac{m_{obl}}{m_{prod}} \quad (4-2)$$

$$m_{disp.p} = \frac{m_{obl(p)}}{w_{s.s.}} \quad (4-3)$$

$$m_{H_2O} = m_{disp.p} - m_{obl.p} \quad (4-4)$$

$m_{obl}$ – masa obloge	$LOD_k$ – delež vlage v produktu	$m_{disp.p}$ – masa disperzije, potrebne za oblaganje ustrezne mase pelet
$m_{prod}$ – masa produkta	$m_{obl.p}$ – masa obloge v ustrezni masi pelet	$w_{s.s.}$ – masni delež suhe snovi
$m_j$ – masa peletnih jeder (v tem poskusu)	$m_p$ – masa pelet za dispergiranje	$m_{H_2O}$ – masa prečiščene vode
$LOD_z$ – delež vlage v jedrih		

Pri izračunu je pomembno upoštevati, da pri **drugi ali tretji fazi oblaganja** (P11, P12, P14 in P15) masa peletnih jeder ( $m_j$ ) predstavlja maso že obloženih pelet iz predhodne faze oblaganja. Ustrezno je treba preračunati delež nevtralnih peletnih jeder ( $m_{nevt.r.j}$ ) v obloženih peletah iz prejšnje faze, kar ponazarja sistem enačb *PI*, ki je naveden v Prilogi 1. Sledi še izračun mase disperzije in mase vode, ki ju izračunamo z enačbama 4-3 in 4-4. Ustrezno maso pelet smo v preračunani količini vode 5 minut stresali na stresalniku pri 150 stresljajih/min. Dobljeno emulzijo smo previdno odlili v drugo čašo, neraztopljen peletna jedra pa so zaradi večje gostote ostala na dnu čaše.

### 3.2.4.3 DOLOČANJE VELIKOSTI KAPLJIC OLJNE FAZE PO DISPERGIRANJU PELET

Emulzijo, dobljeno po dispergiranju pelet, smo nato ovrednotili z lasersko difraktometrijo. Spremljali smo porazdelitev velikosti dispergirane faze nastale emulzije. Postopek je bil enak kot pri merjenju začetnih emulzij. V dozirno posodo smo nalili disperzni medij, ki smo ga predhodno pripravili z raztapljanjem manitola v prečiščeni vodi pri 37 °C, nato pa vanj vkapavali dobljeno emulzijo. Hitrost vrtenja mešala smo nastavili na 1000 rpm. Rezultate smo dobili v obliki podatkov  $D(v, 0,1)$ ,  $D(v, 0,5)$  in  $D(v, 0,9)$  in grafa, ki prikazuje številčno gostoto kapljic v odvisnosti od velikosti kapljic.

### 3.2.4.4 MERITVE VELIKOSTI PELET S SLIKOVNO ANALIZO IN ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA PREREZOV PELET

#### → Slikovna analiza pelet

Z uporabo optičnega čitalnika Epson Perfection V30 smo izvedli meritve velikosti in porazdelitev velikosti obloženih pelet. Vsak vzorec pelet smo najprej dobro premešali, saj prihaja med shranjevanjem do segregacije delcev. Na stekleno površino optičnega čitalnika smo na manjše področje, velikosti približno 10×5 cm, nanесли pelete. Razporedili smo jih tako, da je bila celotna površina pokrita s peletami, brez večjih vmesnih praznih prostorov. Hkrati smo bili pozorni na to, da se pelete med seboj niso dotikale, saj smo želeli, da programska oprema zazna pelete kot samostojne delce in jih tako ovrednoti (9). Število delcev na površini za analizo se med vzorci razlikuje, saj je odvisno od velikosti pelet.

Slikovno analizo smo izvedli v zatemnjenem prostoru z odprtim pokrovom optičnega čitalnika. Dobili smo sliko pelet na temnem ozadju. Računalniški program je na podlagi dvodimenzionalne slike izračunal ustrezne velikostne parametre pelet. Rezultati meritve za vsak posamezen delec so zajemali podatek o premeru delca in sferičnosti.

#### → Elektronska mikroskopija in prerez pelet

Elektronski mikroskop uporabljamo za preučevanje morfologije in velikosti delcev v mikronskem in submikronskem območju. Delovanje temelji na sipanih elektronih, ki predstavljajo signal za detekcijo. Mi smo uporabili vrstični elektronski mikroskop (ang. Scanning Electron Microscope, SEM) (Supra 35 VP, CarlZeiss, Nemčija). Ta preučuje površino delca s curkom elektronov, ki so v vzorec poslani v vzporednih črtah (od tod izraz »vrstični« mikroskop). Pri stiku elektronov s površino vzorca pride do izbitja sekundarnih elektronov iz vzorca, slednje zaznajo senzorji, računalnik pa preko algoritma prikaže kot sliko. Slika, ki jo dobimo pod mikroskopom, je sivinska. Povečava pri SEM je do 500.000-kratna. Uporabo SEM odlikuje globinska ostrina in tridimenzionalna struktura vzorca (46).

Pelete, ki smo jih preučevali, so bile izdelane v poskusu P12. Najprej smo na kriostatu (Leica Biosystem CM1850, Subsidiary GmbH, Nemčija) naredili prereze pelet. Kriostat je aparatura, namenjena rezanju histoloških in drugih vzorcev, ki jih lahko obdelujemo pri temperaturi do -40 °C. Nekaj pelet smo nanесли na nosilec in jih pričvrstili s fiksirnim sredstvom za krioskopijo. Nosilec smo nato ohladili na -15 °C. Rezanje smo izvedli s

pomikanjem nosilca k rezilu. Ko smo dobili ustrezen prerez, smo nosilec vzeli iz naprave. Ko se je fiksirno sredstvo stalilo, smo polovico pelete oziroma rezino z nosilca prenesli na nosilec za SEM mikroskopijo. Površino pelet smo preučevali pri 140-kratni povečavi.

#### 3.2.4.5 DOLOČANJE STIČNEGA KOTA

##### → Izdelava stisnjenih tablet za določanje močljivosti

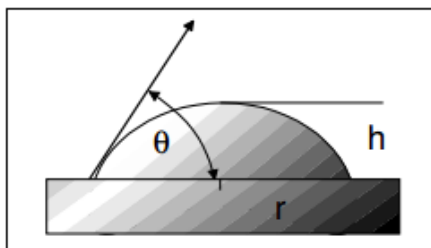
Za stiskanje tablet smo uporabili Avicel PH-200 in manitol. Za vsako tableto smo natehtali približno 500 mg ene od sestavin. Sile stiskanja tablet so bile 2,5 kN, 5 kN, 7,5 kN, 10 kN in 13 kN. Tabletiranje smo izvedli na tabletirki na udarec (IMA Killian SP 300, Nemčija), s premerom pečatov 10 mm.

Najprej smo stisnili tablete iz MCC. Pri vsaki sili stiskanja smo stisnili tri tablete. Nato smo uporabili še manitol, ki ima slabe pretočne lastnosti in slabo stisljivost, zato je prišlo do neponovljivih paralel pri tabletiranju. Pri enakih odmikih pečatov so bile sile stiskanja zelo različne. Izdelane tablete so bile krušljive, prišlo je tudi do razslojevanja. Manitol smo nato stisnili z ročno stiskalnico, kjer dobimo tanke ploščice z gladko površino. Tudi na ročni stiskalnici smo bile ploščice pri najnižji sili stiskanja krhke in krušljive. Zato smo uporabili le ploščice, izdelane pri sili stiskanja 5 kN, pri kateri imamo tudi najboljši približek močenja površine glede na tehnologijo izdelave peletnih jeder in obloženih pelet.

##### → Merjenje stičnega kota

Pri merjenju stičnega kota velja pravilo: če tangenta na gladino kapljevine oklepa s površino trdnine (v našem primeru je to ploščica ali tableta) kot močenja ( $\theta$ ), ki je manjši od  $90^\circ$ , pravimo, da kapljevina moči trdnino. Če je kot močenja  $180^\circ$ , pomeni, da kapljevina ne moči trdnine (47). Želimo si ustrezen kot močenja, ki bo omogočal oblaganje pelet, hkrati pa ne bo prišlo do zlepljanja delcev med sabo.

Z merjenjem močljivosti smo želeli preveriti, kako kot močenja OF vpliva na potek oblaganja peletnih jeder. Tako bi lažje razumeli, zakaj prihaja do aglomeratov in lepljenja delcev na RV. Obenem bi se z optimizacijo formulacije za oblaganje (zamenjava in sprememba deleža PAS v oljni fazi) izognili naštetim težavam.



**Slika 1:** Prikaz stičnega kota ( $\theta$ ) med trdno površino (r) in tekočino.

Merjenje stičnega kota smo izvedli z napravo za določanje stičnega kota (Krüss drop shape analyzer, DSA 100, Krüss GmbH, Nemčija). Na ustrezen nosilec namestimo ploščico ali tableto, ob strani nosilca pa je nameščena kamera, ki posname dotik kapljevine s trdnino. Z računalniško obdelavo posnetka kot rezultat meritve dobimo izmerjen kot močenja.

Določali smo stični kot ploščice in raztopine z dodanim 6%, 9% in 12% deležem Tweena 20 glede na maso OF. Raztopine smo pripravili tako, da smo natehtali približno 2000 mg ibuprofena in približno 11,5 g Miglyola ter dodali Tween 20. Pripravljeno mešanico smo pri 37 °C mešali na magnetnem mešalu, dokler se raztopina ni popolnoma zbistrla. Z brizgo smo na ploščico kapnili kapljico pripravljene raztopine. V trenutku dotika kapljice s ploščico smo posnetek zaustavili in s pomočjo programskih orodij izmerili stični kot.

### 3.2.5 VSEBNOST IBUPROFENA V PELETAH

Da smo lahko določili uspešnost vgradnje ZU tekom procesa oblaganja, je bilo potrebno preveriti vsebnost ibuprofena v obloženih peletah. Uporabili smo umeritveno premico, ki smo jo pripravili pri določanju topnosti ibuprofena (poglavje 3.2.1.1). Vzorce za umeritveno premico pri določanju topnosti ZU smo pripravili z raztapljanjem ibuprofena v metanolu, vsebnost pa smo določali v peletah, v katerih je bila ZU raztopljena v OF. Preverili smo, ali je omenjena metoda primerna tudi za določanje vsebnosti ZU v produktu. Pripravili smo še slepi vzorec z metanolom in nato še z Miglyolom 812, s katerima smo brisali ozadje.

#### 3.2.5.1 METODA ZA DOLOČANJE VSEBNOSTI IBUPROFENA V OBLOŽENIH PELETAH

Preizkusili smo metodo določanja vsebnosti ibuprofena, ki je bila opisana v diplomski nalogi, v kateri so se ukvarjali s podobnim eksperimentalnim delom (3). Ta je obsegala ekstrakcijo ZU, raztopljene v Miglyolu, s petroletrom in nato določanje vsebnosti ZU v ekstrahiranem Miglyolu z UV/VIS-spektrofotometrom.

Najprej smo pripravili **načrt razvoja ekstrakcijske metode in določanja vsebnosti ZU**:

1. Priprava raztopine ibuprofena v Miglyolu z znano koncentracijo, dodamo manitol in Tween 20, raztopljena v vodi, pri tem razmerje SF:OF znaša 2,5:1. Razmerje je enako razmerju izhodiščne emulzije.
2. Ekstrakcija z ekstrakcijskim topilom, ki jo izvedemo v liju ločniku. Kot ekstrakcijsko topilo uporabimo petroleter, saj se ne meša z vodo. Po ekstrakciji odstranimo vodno fazo in prenesemo fazo s petroletrom na rotavapor, kjer odstranimo topilo. Petroleter ima temperaturo vrelišča pri 40-70 °C, zato ga lahko enostavno odstranimo z rotavapiranjem.
3. Preostanek v bučki (Miglyol z raztopljenim ibuprofenom) raztopimo v metanolu.
4. Pripravljenemu vzorcu izmerimo absorbanco z UV/VIS-spektrofotometrom.

Pri pripravi vzorcev in pri sami ekstrakciji smo imeli veliko težav. V mnogih primerih se vodna in petroletrna faza nista dobro ločili, včasih se je na medfazni površini tvorila struktura podobna gelu. Zaradi izjemno nizkega deleža ekstrahirane ZU smo sprva povečali natehto pelet, nato pa še podvojili volumen petroletra. Ker bistvenega izboljšanja ni bilo, smo sklepali, da je vzrok za velike izgube ZU prekratek čas ali premajhna površina izpostavljenosti emulzije ekstrakcijskemu topilu. Vzorec smo na različne načine izpostavili mehanski sili, saj je tako ekstrakcija učinkovitejša. Uporabili smo stresalnik, magnetno mešalo, ultrazvočno kadičko in ultraturaks, vendar noben od poskusov ni uspel.

Nato smo izvedli poskus, pri katerem smo namesto emulzije uporabili le OF, z enako sestavo OF kot pri poskusu P9 (6% Tweena 20). Naredili smo dve paraleli. Natehtali smo približno 13 g Miglyola in 0,9 g Tweena 20. Vzorcema smo nato dodali manitol, da je bilo razmerje SF:OF 2,5:1. S takim načinom priprave smo se izognili uporabi vode. Vzeli smo približno 2,5 g pripravljene OF, ji dodali v prvem vzorcu 6,186 g in v drugem vzorcu 6,808 g manitola ter dopolnili z metanolom do 100 ml. Tako pripravljene vzorce smo za 1 uro dali na magnetno mešalo. Koncentracija ZU v vzorcih je bila 3,0 mg/ml pri prvi paraleli in 3,1 mg/ml pri drugi. Sledilo je centrifugiranje 10 minut na 3500 rpm, odvzem supernatanta in meritev z UV/VIS-spektrofotometrom. Obe analizo določeni koncentraciji sta znašali 3,2 mg/ml. Odstopanja analizo določenih koncentracij ZU so znašala le nekaj odstotkov glede na dejanske koncentracije ZU. Ugotovili smo, da je metoda določanja vsebnosti z metanolom bistveno bolj točna in hitra, izognemo pa se tudi uporabi petroletra.



**Spremenjen postopek razvoja metode ekstrakcije in določanja vsebnosti ZU** v vzorcih je vseboval naslednje korake:

1. Priprava OF, ki vsebuje ibuprofen, Miglyol in 6% Tweena 20 glede na maso ZU in Miglyola. Zatehtane mase so: 1,9 g ibuprofena, 13 g Miglyola in 0,9 g Tweena 20.
2. Tako pripravljeni oljni fazi, ki smo je 2,5 g prenesli v 100 ml merilno bučko, smo dodali manitol, da je bilo razmerje med sladkorjem in oljno fazo 2,5:1. Dodali smo še metanol do oznake na bučki. Vzorec smo 30 minut stresali na stresalniku.
3. Vzorec po stresanju centrifugiramo 10 minut pri 3500 rpm.
4. Odvzamemo supernatant in izmerimo absorbanco z UV/VIS-spektrofotometrom.

→ **Postopek merjenja absorbance z UV/VIS-spektrofotometrom**

Postopek meritev na UV/VIS-spektrofotometru je enak postopku pri določanju topnosti ibuprofena. Kiveto smo najprej dvakrat sprali z metanolom, nato vanjo dali vzorec in mu pomerili absorbanco. Absorbanco smo izmerili pri valovni dolžini  $\lambda_{\max}=220$  nm, nato pa jo s pomočjo umeritvene premice pretvorili v koncentracijo ibuprofena v vzorcu.

→ **Določanje vsebnosti v obloženih peletah**

Ko smo dokazali, da je metoda določanja vsebnosti ZU ustrezna, smo se lotili določanja vsebnosti ibuprofena v obloženih peletah iz poskusov P10, P11 in P12. Peletam smo tako določili vsebnost ZU s postopkom predhodne ekstrakcije z metanolom. Natančno smo natehtali približno 5 g obloženih pelet in ZU ekstrahirali v 100 ml metanola. Pripravljen vzorec smo 30 minut stresali na stresalniku, nato 10 minut centrifugirali pri 3500 rpm in nazadnje odvzeli supernatant. Supernatant smo nato 312,5-krat redčili z metanolom in mu določili absorbanco z UV/VIS-spektrofotometrom.

**3.2.5.2 IZRAČUN TEORETIČNE VSEBNOSTI IBUPROFENA V PELETAH**

Vsebnost smo določili peletam, izdelanim v poskusih P10, P11 in P12. V izračunu smo upoštevali tudi izgubo pri sušenju peletnih jeder ( $LOD_z$ ) in produkta ( $LOD_k$ ). Pomembno je bilo upoštevati tudi oblogo iz HPMC, ki ne vsebuje ZU, doprinese pa k masi produkta. Za teoretični izračun vsebnosti smo uporabili enačbe *P2-P14*, ki so navedene v Prilogi 2.

### 3.2.6 SPROŠČANJE IBUPROFENA IZ PELET V PRIMERJAVI S SPROŠČANJEM IZ REFERENČNIH TABLET

#### → Priprava fosfatnega pufra

Fosfatni pufer s pH 6,8, ki ponazarja črevesni medij, smo pripravili po farmakopejski metodi (6). Najprej smo pripravili osnovni raztopini, tako da smo v 2000 ml bučko natehtali 54,44 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ter v 1000 ml bučko natehtali 8,00 g NaOH. Obe bučki smo do oznake dopolnili s prečiščeno vodo. Nato smo odmerili 1250 ml pripravljene 0,2 M raztopine  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in 560 ml 0,2 M raztopine NaOH. Oboje smo zlili v 5000 ml bučko in dopolnili s prečiščeno vodo. Pripravljen pufer mora imeti pH v območju  $6,8 \pm 0,05$ . Ker je bil pH pufra previsok, smo ga umerili z dodatkom koncentrirane  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

#### → Priprava standardnih raztopin za umeritvene premice

Pripravili smo dve umeritveni premici. Pri prvi smo kot topilo uporabili fosfatni pufer, v katerem smo izvedli preizkus sproščanja. Ker smo pri preizkusu sproščanja nekatere odvzete vzorce 25-krat redčili z metanolom, smo pripravili še umeritveno premico, pri kateri smo kot medij uporabili mešanico fosfatnega pufra in metanola v razmerju 1:25.

Najprej smo pripravili umeritveno premico z uporabo fosfatnega pufra s pH vrednostjo 6,8. Standardno raztopino smo pripravili tako, da smo natančno natehtali približno 300 mg ibuprofena in ga raztopili v 100 ml fosfatnega pufra. Naredili smo dve paraleli. Natehti ibuprofena sta znašali 301,4 mg in 301,3 mg. Z uporabo merilnih pipet, bučk in fosfatnega pufra smo pripravili raztopine z znanimi koncentracijami, pripravljenim vzorcem pa smo nato spektrofotometrično določili absorbance pri valovni dolžini  $\lambda=223$  nm. Meritve absorbanc so predstavljene v preglednici V. Pred vsako meritvijo vzorca smo uporabili slepi vzorec za brisanje ozadja. Slep vzorec je predstavljal fosfatni pufer.

**Preglednica V:** Odvisnost absorbance od koncentracije raztopin ibuprofena, raztopljenih v fosfatnem pufu.

1. paralela		2. paralela	
Koncentracija [mg/ml]	Absorbanca	Koncentracija [mg/ml]	Absorbanca
$5,0219 \times 10^{-3}$	0,22861	$5,1695 \times 10^{-3}$	0,23533
$9,4691 \times 10^{-3}$	0,43106	$9,6589 \times 10^{-3}$	0,43970
$11,6895 \times 10^{-3}$	0,53214	$11,4435 \times 10^{-3}$	0,52094
$14,9398 \times 10^{-3}$	0,68010	$15,1164 \times 10^{-3}$	0,68814
$18,9762 \times 10^{-3}$	0,86385	$19,195 \times 10^{-3}$	0,87381

Z uporabo izmerjenih točk smo narisali umeritveno premico in izračunali Pearsonov koeficient korelacije ( $R^2$ ). Slednji znaša  $R^2 = 0,9998$ , enačba premice 5 pa se glasi:

$$c = 2,1967 \times 10^{-2} \text{ mg/ml} \times A \quad (5)$$

c – koncentracija

A – absorbanca

Umeritveno premico, pripravljeno v raztopini fosfatnega pufru in metanola v razmerju 1:25, smo pripravili po enakem postopku kot umeritveno premico v fosfatnem pufru. Najprej smo pripravili večjo količino raztopine, ki je vsebovala fosfatni pufer in metanol. Standardno raztopino smo pripravili z raztapljanjem približno 300 mg ibuprofena v pripravljene mešanici. Naredili smo dve paraleli, natehti ibuprofena sta bili 300,7 mg in 301,2 mg. Sledila je priprava raztopin z znanimi koncentracijami, pri redčenju smo kot topilo uporabili mešanico fosfatnega pufru in metanola. Vzorce smo spektrofotometrično analizirali pri valovni dolžini  $\lambda = 223 \text{ nm}$ , rezultati meritev pa so prikazani v preglednici VI. Uporabili smo slepi vzorec za brisanje ozadja, ki ga je predstavljala raztopina fosfatnega pufru in metanola v razmerju 1:25.

**Preglednica VI:** Odvisnost absorbance od koncentracije raztopin ibuprofena, raztopljenih v raztopini fosfatnega pufru in metanola v razmerju 1:25.

1. paralela		2. paralela	
Koncentracija [mg/ml]	Absorbanca	Koncentracija [mg/ml]	Absorbanca
$3,9266 \times 10^{-3}$	0,16709	$3,86364 \times 10^{-3}$	0,16441
$9,2686 \times 10^{-3}$	0,39441	$9,2982 \times 10^{-3}$	0,39567
$11,6396 \times 10^{-3}$	0,49530	$11,7791 \times 10^{-3}$	0,50124
$14,9867 \times 10^{-3}$	0,63773	$14,88 \times 10^{-3}$	0,63319
$19,4084 \times 10^{-3}$	0,82589	$19,529 \times 10^{-3}$	0,83102

Iz dobljenih točk smo narisali umeritveno premico. Pearsonov koeficient korelacije znaša  $R^2 = 0,998766$ , enačba premice  $b$  pa se glasi:

$$c = 2,35 \times 10^{-2} \text{ mg/ml} \times A \quad (6)$$

$c$  – koncentracija

$A$  – absorbanca

#### → Izračun odmerka obloženih pelet za test sproščanja

Preden smo začeli s testom sproščanja, smo določili maso obloženih pelet, iz katerih bomo spremljali sproščanje ibuprofena. Določili smo odmerek ibuprofena v peletah, ki bo enak odmerku ibuprofena v tabletah, ki so na voljo na trgu. Ta znaša 200 mg. S pomočjo izračuna vsebnosti ibuprofena v končnem produktu smo izračunali natehto pelet, ki ustreza 200 mg ibuprofena ( $m_{\text{ibu.spr}}$ ). Uporabili smo pelete, izdelane v poskusu P12.

Izračunana vsebnost ibuprofena je znašala 38,7 mg ibuprofena na gram obloženih pelet. Z enačbo 7 smo izračunali maso pelet za test sproščanja:

$$m_{\text{pelet}} = \frac{m_{\text{ibu.spr}}}{m_{\text{ibu.cel3}}} \quad (7)$$

Povprečna masa obloženih pelet, ki smo jih uporabili za test sproščanja, je 5,1733 g. Naredili smo 6 paralel, mase zatehtanih pelet pa so znašale:  $m_1=5,1731$  g,  $m_2=5,1700$  g,  $m_3=5,1693$  g,  $m_4=5,1725$  g,  $m_5=5,1759$  g in  $m_6=5,1726$  g.

#### → Preizkus sproščanja iz obloženih pelet in referenčnih tablet

Preizkus sproščanja smo izvedli v aparaturi, namenjeni preizkusu sproščanja ZU iz trdnih FO, ki jo predpisuje Evropska farmakopeja (6). Uporabili smo napravo 2 (naprava z vesli) (6). Sproščanje poteka v aparaturi s šestimi posodami, od katerih v vsaki poteka sproščanje ZU iz preučevane FO. Po navodilih Evropske farmakopeje smo v vsako namestili veslo in nalili 900 ml fosfatnega pufra s pH 6,8. Medij za sproščanje smo pred začetkom testa ogreli na 37 °C. Hitrost vrtenja vesel smo nastavili na 50 rpm. Čas smo merili s štoparico, sproščanje smo spremljali 120 minut. V vsako od 6 posod smo ob začetku merjenja dali izračunano maso pelet. Vzorce smo iz vseh 6 posod odvezemali skoraj istočasno (z zamikom 15 sekund) s pomočjo 5 ml brizge. Vzorčenje je potekalo v časovnih intervalih: 1, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60 in 120 min. Pri tabletah je bila razlika le v prvih časovnih točkah, vzorce smo odvezeli v časovnih točkah 2, 5, 10 min, sledile so točke kot pri peletah. Razlika v začetnih časovnih točkah pri odvzemu vzorcev pri sproščanju pelet in tablet je posledica

prekratkega časovnega presledka med enim in drugim odvzemom. Pri odvzemu vzorcev odvzetega volumna pufra nismo nadomestili, odvzete volumne pa smo upoštevali pri izračunu sproščene ZU. Po 2 urah sproščanja ZU iz pelet so na dnu posod ostali neraztopljeni delci, ki predstavljajo v pufri netopna peletna jedra, izdelana iz MCC.

Sledila je analiza količine sproščenega ibuprofena v posameznih časovnih točkah. Delež sproščene ZU se nanaša glede na dejansko vsebnost ZU v izbrani FO. Analizo smo izvedli spektrofotometrično. Absorpcijski vrh ZU je bil pri valovni dolžini  $\lambda=223$  nm. Kiveto za vzorec smo pred meritvijo dvakrat sprali s fosfatnim pufrom. Vzorce v časovnih točkah od 10 min naprej smo 25-krat redčili z metanolom. Vzorcev v točkah 1, 3 in 5 min pri peletah ter 2 in 5 min pri tabletah ni bilo potrebno redčiti, saj absorbanca ni presegala vrednosti 0,8. Kot slepa vzorca smo uporabili fosfatni pufer in raztopino fosfatnega pufra v metanolu.

Enak test sproščanja smo izvedli na 6 vzorcih referenčnih tablet z 200 mg ibuprofena (Ibuprofen INN FARM 200 mg, filmsko obložene tablete, INN-FARM d.o.o., Slovenija).

#### → Izračun faktorja različnosti in faktorja podobnosti

Primerjavo profilov sproščanja ZU iz pelet in tablet smo naredili v skladu s smernicami Guidance for industry – dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms (48). Slednje veljajo na industrijskem nivoju pri preučevanju sproščanja ZU.

Glede na pravila smernic smo izračunali faktor različnosti (ang. »Difference Factor«) in faktor podobnosti (ang. »Similarity Factor«), ki sta podana v odstotkih. **Faktor različnosti** -  $f_1$  je merilo za razliko med dvema profiloma sproščanja. **Faktor podobnosti** -  $f_2$  je merilo podobnosti dveh profilov sproščanja. V primeru popolne podobnosti profilov sproščanja je mejna vrednost za  $f_1 = 0$  in za  $f_2 = 100$  (48). Izračunamo ju z enačbama 8 in 9:

$$f_1 = \frac{\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{t=1}^n R_t} \times 100 \quad (8)$$

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[ \left( 1 + \left( \frac{1}{n} \right) \right) \times \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\} \quad (9)$$

$f_1$  – faktor različnosti

$n$  – število časovnih točk

$T_t$  - povprečna vrednost sproščene ZU iz testne FO v časovni točki

$f_2$  – faktor podobnosti

$R_t$  – povprečna vrednost sproščene ZU iz referenčne FO v časovni točki  $t$

$t$  – časovna točka (v min)

## 4. REZULTATI IN RAZPRAVA

### 4.1 TOPNOST IBUPROFENA

Namen našega dela je bil izdelati obložene pelete z ustreznim odmerkom ibuprofena. Za vgradnjo ibuprofena v končno FO je bilo najprej potrebno raziskati, kakšna je topnost ZU v olju (Miglyol 812). S spreminjanjem parametrov, kot sta temperatura in dodatek PAS, smo želeli vplivati na topnost. Da bi ocenili merilno območje analizne metode smo primerjali tudi vrednosti teoretične koncentracije ZU z dejansko izmerjeno vrednostjo. Izračunano koncentracijsko vrednost v magistrski nalogi opredeljujemo kot teoretično vrednost koncentracije. Rezultati meritev so zbrani v preglednici VII.

**Preglednica VII:** Pogoji določanja koncentracij ibuprofena v vzorcu in rezultati analizo določenih koncentracij ibuprofena z UV/VIS-spektrofotometrom.

<b>Pogoji določanja koncentracije ibuprofena v vzorcu</b>			
<b>T [°C]</b>	<b>Olje</b>	<b>Ostali pogoji</b>	<b>Analizno določena koncentracija ZU [mg/ml]</b>
25	Miglyol	Nasičena topnost	83,903
25	Miglyol	Teoretične konc: 40,2 mg/ml	41,7
25	Miglyol 812 N	Teoretične konc.: 160,0 mg/ml	< 160,0
37	(na novo odprt vsebnik)	160,0 mg/ml	161,3
25	Miglyol	Dodatek PAS: 3,5% Tween 20	< 160,2
37		3,5% Tween 20	161,2
37		12% Tween 20	167,4

Analizno določena nasičena topnost ZU v Miglyolu, pripravljena pri sobni temperaturi (25 °C) in določena z uporabo umeritvene premice, je določena kot povprečna vrednost štirih meritev (posamezne vrednosti: 77,0 mg/ml, 81,4 mg/ml, 87,4 mg/ml in 89,8 mg/ml).

Z analizo vzorcev z znano koncentracijo smo dokazali, da je metoda za določanje nasičene topnosti ZU ustrezna in točna. Ob dodatku PAS in povišani temperaturi smo prišli do sledečih zaključkov. Dejstvo je, da povišana temperatura poveča topnost, kar je razvidno tudi iz rezultatov meritev v vzorcu s 3,5% Tweena 20 glede na maso OF. Pri temperaturi 25 °C se ZU ni v celoti raztopila (teoretična vsebnost ibuprofena v pripravljenem vzorcu je

bila 160,2 mg/ml). S povišanjem temperature med pripravo vzorca smo dosegli bistveno izboljšanje topnosti ZU Miglyolu 812. Da bi ocenili delež rekristalizacije učinkovine po izpostavitvi sobni temperaturi, smo pripravili tudi vzorce s 7% in 10% Tweena 20 glede na maso OF. Slednjih nismo analizirali z UV/VIS-spektrofotometrom, preverili smo samo, ali se najprej vsa ZU pri segrevanju na 37 °C raztopi v olju. Izkazalo se je, da se je ves ibuprofen raztopil (teoretična koncentracija ZU je bila ~160 mg/ml). Izkazalo se je, da večji kot je delež PAS, manj ZU je izkristaliziralo med shranjevanjem raztopine pri 25 °C. Pri uporabi 12% Tweena 20 do rekristalizacije ibuprofena pri sobni temperaturi ni prišlo. To potrjuje našo domnevo, da PAS lahko izboljša topnost ZU v izbrani OF.

Analizno določena koncentracija ibuprofena z dodatkom 12% Tweena 20 je bila nekoliko višja od teoretične vrednosti, ki je znašala 159,1 mg/ml. Pri tem smo predpostavili še morebitne napake pri redčenju in pripravi vzorca ter napako analizne metode. Napake pri pripravi vzorca se najpogosteje pojavljajo zaradi nekvantitavnega prenosa raztopin iz ene bučke v drugo. Napake analizne metode obsegajo napake pri izbiri ustrezne valovne dolžine in napake pri delovanju spektrofotometra (49).

Že pri načrtovanju eksperimentalnega dela smo sklenili, da je vgradnja ibuprofena v oblogo pelet smiselna le ob zadostni topnosti ZU v oljni fazi. Izsledki vseh rezultatov meritev nasičene topnosti so privedli do zaključka, da je ibuprofen ob dodatku Tweena 20 ustrezno topen v Miglyolu 812 in zato primeren za vgradnjo v oblogo pelet.

## **4.2 PRIPRAVA IN HOMOGENIZACIJA EMULZIJE**

### **4.2.1 IZBOR USTREZNE PAS IN NJENEGA DELEŽA ZA PRIPRAVO EMULZIJE**

Priprava številnih emulzij z različnim naborom in deleži PAS ter vsi zapleti, ki so bili prisotni pri pripravi omenjenih emulzij, so prispevali k boljšemu razumevanju o nujnosti priprave optimalne emulzije za proces oblaganja. Kot najprimernejša PAS se je izkazal Tween 20. Kljub temu da je vrednost HLB Tweena 40 bližje zahtevani vrednosti HLB Miglyola 812, se ta ni izkazal za ustreznega, saj je po 24 urah shranjevanja emulzij s 3,5% in 5% Tweena 40 v temni omari prišlo do obarjanja delcev. Vzrok za to je lahko nastanek kristalov ZU, kar pa pri oblaganju peletnih jeter s tako emulzijo ni zaželeno. Pri kombinaciji Spana 80 in Tweena 20, s katero smo dosegli vrednost HLB enako zahtevani vrednosti HLB Miglyola 812, ni bilo razlik pri določanju nasičene topnosti ZU v primerjavi z eno samo uporabljen PAS. Poleg tega je priprava emulzije s kombinacijo

dveh PAS tudi tehnološko bolj zahtevna. Za nadaljnje delo smo izbrali Tween 20. Optimalen delež Tweena 20 v emulziji, ki smo jo uporabili za oblaganje, smo določili šele po vrednotenju vseh izdelanih emulzij. Preverili smo porazdelitev velikosti kapljic OF vseh emulzij in izločili emulzije s široko porazdelitvijo velikosti dispergiranih kapljic. Sledila je še vizualna kontrola emulzij po nekajdnevem shranjevanju v temni omari. Kljub homogenizaciji emulzij je bilo moč opaziti, da sta se fazi v emulzijah z nizkim odstotkom PAS s časom ločili. Odločili smo se za uporabo višjih koncentracij PAS.

#### 4.2.2 DOLOČANJE REFRAKCIJSKEGA INDEKSA, GOSTOTE IN PORAZDELITVE VELIKOSTI KAPLJIC OLJNE FAZE

Za vrednotenje izdelanih emulzij je bilo potrebno predhodno določiti refrakcijski indeks in gostoto OF ter DM. OF smo pripravili z raztapljanjem ZU v Miglyolu 812, brez dodatka PAS. DM predstavlja manitol, raztopljen v prečiščeni vodi. RI smo izmerili z refraktometrom, relativno gostoto pa z uporabo piknometra. Oba parametra smo vnesli v program pred meritvijo z laserskim difraktometrom. Podatki o gostoti OF ter lomna količnika DM in OF služijo za natančnejši izračun porazdelitve velikosti kapljic notranje faze emulzije. V preglednici VIII so zbrane meritve RI in gostote posameznih faz emulzije.

**Preglednica VIII:** Refrakcijski indeks in gostota, določena s piknometrom, posameznih faz emulzije.

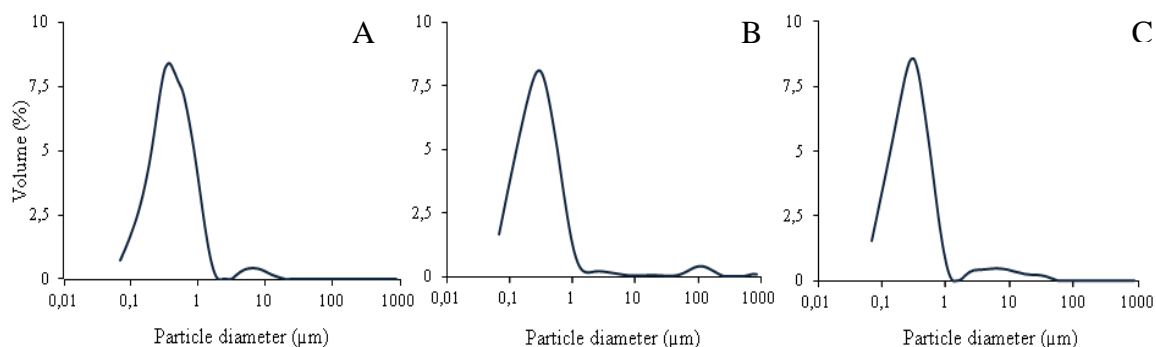
	Refrakcijski indeks	Relativna gostota
<b>Oljna faza (ibuprofen + Miglyol)</b>	1,457	0,9538
<b>Disperzni medij (manitol + preč. voda)</b>	1,354	1,0532

Rezultati meritev laserske difraktometrije so predstavljeni v obliki diagramov volumskega deleža kapljic v odvisnosti od velikosti kapljic oljne faze in preglednice s podatki o  $D(v, 0,1)$ ,  $D(v, 0,5)$  in  $D(v, 0,9)$ . Na sliki 2 smo prikazali le rezultate izmerjene pri emulziji, ki je bila kasneje uporabljena za oblaganje peletnih jeter v poskusih P10, P11 in P12. Razmerje SF:OF je znašalo 2,5:1, delež Tweena 20 pa je bil 6%. V preglednici IX so predstavljene velikosti kapljic, določili takoj po izdelavi, po 7 in 90 dneh.

**Preglednica IX:** podatki o  $D(v, 0,1)$ ,  $D(v, 0,5)$  in  $D(v, 0,9)$  v emulziji s SF:OF 2,5:1 in 6% deležem Tweena 20 takoj po izdelavi, po 7 in 90 dneh.



	<b>D(v, 0,1) [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	<b>D(v, 0,5) [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	<b>D(v, 0,9) [<math>\mu\text{m}</math>]</b>
<b>Takoj po izdelavi</b>	0,14	0,36	0,90
<b>Po 7 dneh</b>	0,10	0,26	0,69
<b>Po 90 dneh</b>	0,10	0,26	0,70



**Slika 2:** Porazdelitev kapljic oljne faze takoj po homogenizaciji emulzije (A), po 7 dneh (B) in po 90 dneh (C).

→ **Meritve takoj po izdelavi:**

Meritve takoj po izdelavi so pokazale homogenost porazdelitve velikosti dispergirane faze emulzije. Pri vseh emulzijah je pri velikosti okrog 0,1-1  $\mu\text{m}$  opazen visok unimodalni vrh, kar pomeni, da ima večina kapljic premer v tem območju. Ker je cilj našega dela oblaganje pelet, je bilo potrebno ugotoviti, katera izmed emulzij je najprimernejša za oblaganje. Izbor emulzije je temeljil na dveh parametrih; nasičena topnost pri 25 °C in velikost, pod katero se nahaja 50% kapljic dispergirane faze,  $D(v, 0,5)$ . Topnost ZU je bila najvišja pri emulziji z 12% Tweena 20,  $D(v, 0,5)$  pa je znašal 0,30  $\mu\text{m}$ . Na podlagi tega smo začetne poskuse oblaganja izvedli z emulzijo z 12% Tweena 20 (pri prvih 4 poskusih oblaganja).

→ **Meritve po 7 dneh:**

Emulzije smo ponovno ovrednotili po 7 dneh. Izkazalo se je, da se velikosti oljnih kapljic skoraj niso spremenile, kar pomeni, da ni prišlo do bistvenih sprememb stabilnosti. Na diagramu izbrane emulzije s 6% Tweena 20 (slika 3) je viden unimodalni pik v območju med 0,1 in 1  $\mu\text{m}$ , z manjšim vrhom pri 100  $\mu\text{m}$ , kar bi lahko kazalo na zlivanje kapljic OF.

→ **Meritve po 90 dneh:**

Merili smo velikost kapljic vseh emulzij, ki smo jih na začetku pripravili (uporaba Tweena 20 v odstotnih deležih od 1% do 12% ter kombinacije Tweena 20 in Spana 80 v m/m

odstotnih deležih od 1% do 7%). Po 90 dneh shranjevanja emulzij, pokritih s parafilmom v zaprti omari pri 25 °C, se je izkazalo, da so nekoliko bolj stabilne emulzije, ki vsebujejo samo Tween 20 (glede na tiste v kombinaciji s Spanom 80). Emulzija s 6% Tweenom 20 ima poleg vrha v območju med 0,1 in 1  $\mu\text{m}$  opazen manjši vrh pri velikosti 1-100  $\mu\text{m}$ , kar pomeni, da je s časom prišlo do zlivanja kapljic.

### 4.3 OBLAGANJE PELET

Preden smo pelete začeli oblagati, je bilo ključnega pomena določiti optimalno sestavo emulzije z vidika njene stabilnosti. Izvedli smo 15 poskusov oblaganja, pri katerih smo spreminjali delež PAS (Tweena 20) med 6%, 9% in 12% ter razmerje SF:OF med 2:1, 2,3:1 in 2,5:1. V večini poskusov smo kot sladkor uporabili manitol in pri enem laktozo (poskus P5). Oblaganje z laktozo ni bilo uspešno, saj so se jedra med seboj sprijemala, po prekinitvi procesa pa smo opazili, da so obložena jedra na otip lepljiva. Sklepamo, da tak produkt med shranjevanjem ne bi bil obstojen, ker bi pelete med seboj aglomerirale.

Naš namen je bil najprej uporabiti emulzijo z 12% deležem Tweena 20, ki se je izkazala za stabilno skozi daljše obdobje, hkrati pa je izkazovala najvišjo nasičeno topnost ibuprofena v Miglyolu. Pri oblaganju z omenjeno emulzijo (poskusi P1-P4) je prišlo do zlepljanja delcev med seboj, zaradi česar smo se odločili uporabiti emulzijo s nižjim deležem Tweena 20. Procesibilnost med poskusi oblaganja je tako bila pri višjem odstotku PAS slabša, kar je rezultiralo v nastanku skupkov. S tem pa sovpadajo tudi rezultati meritev stičnega kota pri OF z 12% Tweena 20. Izkazalo se je, da večji stični kot pomeni manjše močenje površine in s tem zadrževanje kapljic disperzije na površini delca. Med oblaganjem, ko so delci v stiku drug z drugim, pride do nastanka sladkornih snovnih mostičkov med delci in s tem do aglomeracije. Kot najbolj ustrezna se je izkazala emulzija s 6% Tweena 20 in razmerjem SF:OF 2,5:1 (poskusi P6, P10-P12). Razmerje SF:OF pomembno vpliva na proces oblaganja. Želimo doseči čim bolj ugodno razmerje SF:OF, saj je od tega odvisno, kako in koliko oljne faze z ibuprofenom se bo vgradilo v ogrodje. Poskusili smo z razmerjem SF:OF=2:1 (poskusa P8 in P9). Poskusa nista bila uspešna, saj je prišlo do mašenja filtrov in lepljenja jeder med sabo ter na steno komore. Sklepamo, da manjše razmerje SF:OF pomeni preveliko količino OF, ki se po razprševanju ne uspe vgraditi v ogrodje, zaradi česar pride do razlivanja po površini pelet, posledično pa do aglomeratov.

Poleg ustrezne formulacije na proces oblaganja vplivajo tudi procesne in konstrukcijske spremenljivke. Nekatere med njimi so večino časa in pri vseh poskusih konstantne. To so masa začetnih jeder, premer šobe, velikost in porazdelitev luknjic na distribucijski plošči, temperatura vhodnega zraka med oblaganjem in pri sušenju. Nekatere spremenljivke smo prilagajali pri vsakem poskusu posebej. To so višina RV, hitrost razprševanja, odprtost lopute za zrak, hitrost vhodnega zraka, temperatura produkta in masa nanesene emulzije.

Proces oblaganja je bil najobsežnejši in najzahtevnejši del eksperimentalnega dela. Srečali smo se z mnogimi težavami, ki so oteževale ali preprečile uspešno izpeljan postopek oblaganja. Največkrat je bil razlog za neuspeh poskus oblaganja lepljenje delcev med seboj, na steno komore ali na steno RV. Neustrezne formulacije so se, kot že omenjeno, odražale v različno velikih aglomeratih ali pa procesa oblaganja zaradi neustreznega pretoka delcev skozi območje razprševanja nismo mogli izpeljati do konca.

## **4.4 VREDNOTENJE OBLOŽENIH PELET**

### **4.4.1 IZKORISTEK PROCESA OBLAGANJA IN DELEŽ AGLOMERATOV**

Izkoristke smo izračunali na podlagi enačb in računov, predstavljenih v poglavju 3.2.4.1. Upoštevali smo izgube pri sušenju jeder pred začetkom oblaganja in obloženih produktov v posameznih fazah oblaganja. Iz preglednice X je razvidno, da so vsi izkoristki nad 80%, nekoliko višji so pri poskusih, kjer smo kot PAS uporabili SDS. Izkoristki so povezani s potekom procesa oblaganja. Manj kot je bilo sprijemanja pelet med seboj ali na stene komore in RV ter manj kot je bilo prašenja in nanašanja obloge na stene RV, komore in filtre, večji je bil izkoristek. Za primerjavo smo v tabelo dodali še delež aglomeratov. Te smo določili s sejanjem produkta skozi sito z velikostjo por 800  $\mu\text{m}$  pri poskusih P10 in P13, 1250  $\mu\text{m}$  pri poskusih P11 in P14 ter 1500  $\mu\text{m}$  pri poskusih P12 in P15. Razlika mas praznega sita in sita z aglomerati nam poda maso aglomeratov. Z deležem aglomeratov lahko pojasnimo potek procesa razprševanja emulzije v posamezni fazi oblaganja. Delež aglomeratov je pri poskusih z uporabljenim SDS nižji kot pri poskusih s Tweenom 20. Morebiten vzrok za to je viskozna konsistenca Tweena 20, ki bi lahko povzročil sprijemanje delcev med oblaganjem, medtem ko je SDS pri sobni temperaturi v obliki prahu in zaradi tega ne povzroča aglomeriranja. Navedena razlaga je sicer malo verjetna, saj je delež PAS v naši formulaciji zelo nizek. Za primerjavo: formulacije samo-

mikroemulgirajočih sistemov, ki se uporabljajo kot metoda za povečevanje topnosti lipofilnih učinkovin, običajno vsebujejo 30-60% emulgatorjev in koemulgatorjev (50, 51).

**Preglednica X:** Izračunani izkoristki procesa oblaganja, deleži aglomeratov in količina prečiščene vode, potrebne za dispergiranje 3 g obloženih pelet.

	<b>Izkoristek procesa oblaganja [%]</b>	<b>Delež aglomeratov [%]</b>	<b>Količina vode za dispergiranje [g]</b>
<b>P10</b>	85,10	6,28	7,493
<b>P11</b>	94,22	5,11	10,597
<b>P12</b>	89,59	1,69	10,605
<b>P13</b>	80,82	0,117	7,261
<b>P14</b>	96,13	0,37	10,497
<b>P15</b>	93,31	0,021	10,600

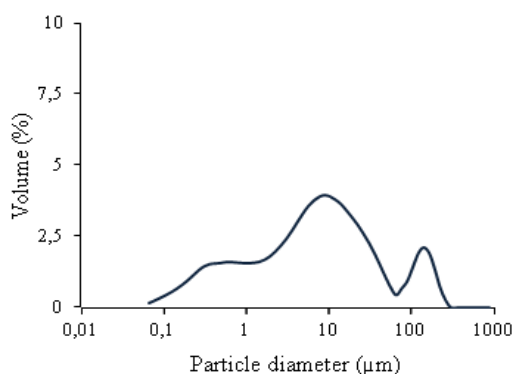
#### 4.4.2 DISPERGIRANJE OBLOŽENIH PELET V PREČIŠČENI VODI

Obložene pelete smo po izdelavi dispergirali v prečiščeni vodi. Namen tega je bil ugotoviti, ali se po dispergiranju znova tvori emulzija. Naša predpostavka je bila, da izdelane pelete z oblogo v obliki suhe emulzije, dispergirane v prečiščeni vodi, tvorijo emulzijo, ki je po sestavi enaka emulziji, s katero smo oblagali pelete ter ima primerljivo velikost kapljic dispergirane faze. Da bi dobili emulzijo z enako sestavo, kot jo ima izhodiščna emulzija, smo morali izračunati potrebno količino vode, v kateri bomo dispergirali določeno količino obloženih pelet. Določili smo odmerek pelet, ki je znašal 3 g. Količina vode, ki je potrebna za dispergiranje pelet v posamezni fazi oblaganja, je navedena v preglednici X. Količina prečiščene vode opazno naraste po 2. in 3. stopnji oblaganja, saj je delež obloge iz faze v fazo oblaganja višji. Z vsakim novim nanosom obloge je delež začetnih nevtralnih jeder manjši, delež obloge pa naraste. V produktu prve stopnje oblaganja (P10) predstavlja delež nevtralnih peletnih jeder 40,44%, v peletah po tretji stopnji (P12) pa le še 14,56%.

#### 4.4.3 DOLOČANJE VELIKOSTI KAPLJIC OLJNE FAZE PO DISPERGIRANJU PELET

Podobno kot pri določanju porazdelitve velikosti kapljic OF v emulziji za oblaganje smo tudi po dispergiranju pelet analizirali nastalo emulzijo. Natehtan odmerek pelet smo v izračunani količini vode 5 minut stresali na stresalniku s frekvenco 150 streslajev/min.

Dobili smo emulzijo mlečno bele barve z neraztopljenimi celuloznimi jedri na dnu. Površina emulzije je bila prekrita z vidnimi drobnimi oljnimi madeži, zato smo sklepali, da so kapljice OF večje kot pri izhodni emulziji. Jedra smo ločili od emulzije in slednjo analizirali s pomočjo laserskega difraktometra. Meritve so pokazale, da je po dispergiranju res spontano nastala emulzija. Na sliki 3 je prikazana porazdelitev velikosti oljnih kapljic nastale emulzije po dispergiranju končnega produkta (iz poskusa P12) v prečiščeni vodi. Vidna sta dva delno združena vrhova v območju med 0,1 in 1,0  $\mu\text{m}$  ter v območju 10  $\mu\text{m}$ . Prvi vrh se nahaja v enakem območju kot vrh začetne emulzije (Slika 2). Drugi vrh potrjuje domnevo, da je po dispergiranju pelet prišlo do koalescence in nastanka večjih oljnih kapljic. Po prvi in tretji stopnji oblaganja pelet je viden še dodaten vrh, v območju do 1000  $\mu\text{m}$ , ki je najverjetneje posledica večjega zlivanja kapljic.



**Slika 3:** Porazdelitev kapljic OF po dispergiranju obloženih pelet iz tretje faze oblaganja (Poskus P12).

#### 4.4.4 MERITEV VELIKOSTI PELET S SLIKOVNO ANALIZO IN SLIKANJE PREREZOV PELET Z UPORABO ELEKTRONSKEGA MIKROSKOPA

##### → Slikovna analiza pelet

Velikost obloženih pelet po vsakem procesu oblaganja smo ovrednotili s slikovno analizo z uporabo optičnega čitalnika, ki na podlagi dvodimenzionalne slike posamezne pelete izračuna njen faktor sferičnosti in premer. Rezultati so prikazani v preglednici XI.

**Preglednica XI:** Povprečna sferičnost, povprečni premer in porazdelitev velikosti pelet.

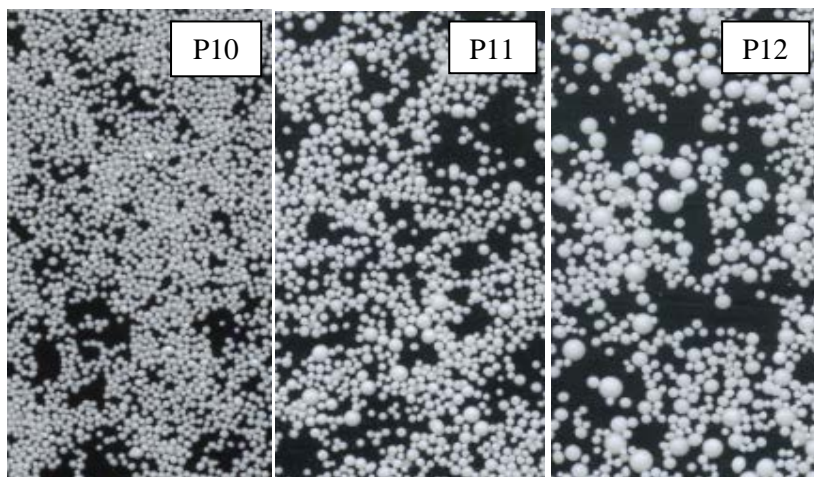
Oznaka lab. poskusa	Povprečen faktor sferičnosti	Povprečen premer [ $\mu\text{m}$ ]	Porazdelitev velikosti pelet	
			d (min) [ $\mu\text{m}$ ]	d (max) [ $\mu\text{m}$ ]
<b>P10</b>	0,961	394,40	268,76	580,32
<b>P11</b>	0,965	465,54	276,22	1066,29
<b>P12</b>	0,975	552,73	276,48	1435,30
<b>P13</b>	0,966	433,52	270,35	704,71
<b>P14</b>	0,969	528,11	267,75	1219,84
<b>P15</b>	0,979	764,07	321,54	1296,19

Podatki kažejo, da so pelete pri vseh šestih vzorčenjih skoraj pravilne okrogle oblike. Faktor sferičnosti ( $F_s$ ), ki opisuje obliko pelet, ima pri popolnoma okroglem delcu vrednost 1. Vse obložene pelete so imele  $F_s$  nad 0,96. Prav tako ni bilo vidnih eliptičnih delcev, kar pomeni, da je bil proces oblaganja nadzorovano izveden. Menimo, da  $F_s$  napoveduje enakomerno oblogo po celotni površini jedra. Vendar tega ne moremo zagotovo trditi, saj nismo izmerili  $F_s$  jedrom.

Velikost pelet predstavljamo s povprečnim premerom. Če primerjamo poskuse P10, P11 in P12, je povprečni premer pelet iz prve stopnje oblaganja pričakovano najmanjši, z nanosom obloge pa narašča. Enako velja za sklop poskusov P13, P14 in P15. V zadnji fazi oblaganja (poskus P12) so pelete dosegle premer skoraj 1,5 mm. Pri slednjih smo dosegli visoko stopnjo obloženosti in, če predpostavimo enakomerno porazdelitev oljnih kapljic po volumnu obloge, tudi visok delež vsebnosti ibuprofena.

Pri interpretaciji povprečnega premera pelet se moramo zavedati, da lahko celostno sliko o velikosti pelet dobimo le skupaj s podatkom o porazdelitvi velikosti. Opazimo lahko, da je porazdelitev velikosti delcev z vsakim novim nanosom obloge širša, kar nakazuje na neenakomerno oblaganje med delci. Najmanjši premer pelet se pri vseh treh fazah oblaganja s Tweenom 20 (poskusi P10, P11 in P12) giblje okrog vrednosti 270-280  $\mu\text{m}$ . Sklepamo, da se je med oblaganjem en del pelet zadrževal v spodnjem delu ob robu komore, zato na teh peletah ni prišlo do rasti obloge. Dokazano je bilo tudi, da pri uporabi Wursterjeve komore manjši delci prejmejo manj obloge kot večji (52). Poskusi s SDS (poskusi P13, P14 in P15) imajo še širšo porazdelitev velikosti pelet. Izstopa le tretja

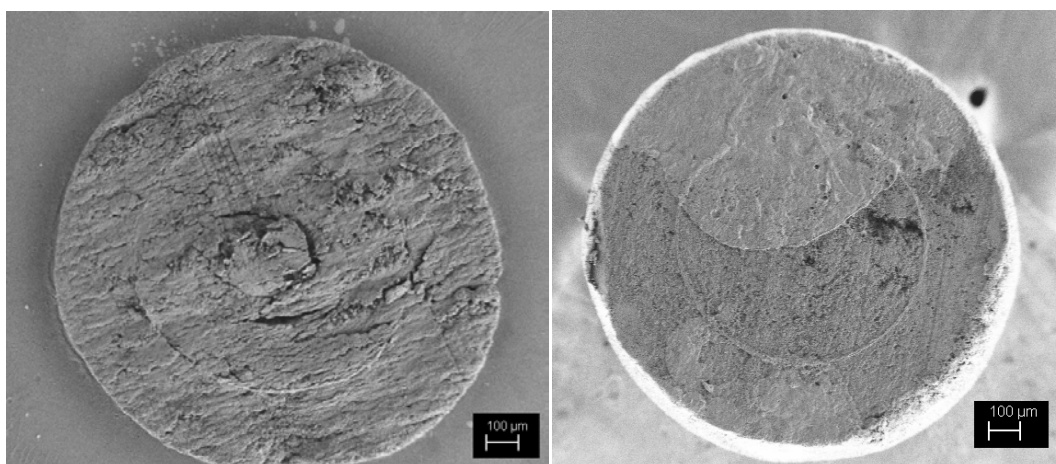
stopnja oblaganja, kjer je zgornja meja velikosti pelet presenetljivo nizka. Razlog za to je najverjetneje slabo premešan vzorec pred nanosom na optični čitalnik.



**Slika 4:** Prikaz porazdelitve velikosti obloženih pelet iz poskusov P10, P11 in P12 s slikovno analizo.

→ **Elektronska mikroskopija in prerezi pelet**

Za preučevanje notranje strukture obloženih pelet iz poskusa P12 smo uporabili vrstični elektronski mikroskop (Supra 35 VP, CarlZeiss, Nemčija). Zanimalo nas je, ali je obloga enakomerno nanesena. Slike smo naredili pod 140-kratno povečavo.



**Slika 5:** Prereza pelet iz poskusa P12 pod SEM mikroskopom pri 140-kratni povečavi.

Na obeh slikah vidimo skoraj popolnoma okrogel prerez pelete. To nam pove, da je oblaganje potekalo enakomerno okrog peletnega jedra. Jedro predstavlja najmanjši krog v sredini (velik približno 200-350  $\mu\text{m}$ ), ki je nekoliko dvignjen iz ravnine slike (slika na levi). Sklepamo, da je jedro, ki je trše od obloge, rezilo med izdelavo prereza potegnilo nad

ravnino reza. Okrog jedra je enakomerno nanesen približno 500  $\mu\text{m}$  debel sloj obloge. Opazimo lahko, da oblogo predstavljata dve plasti. Po naših sklepanjih mejo med njima predstavlja tanka plast polimerne obloge (HPMC), ki smo jo nanесли po vsakem oblaganju.

#### 4.4.5 DOLOČANJE STIČNEGA KOTA

Tekom procesa nanosa suhe emulzije prihaja do stika med OF emulzije in površino pelete. Ker so kapljice OF v začetku procesa oblaganja v stiku samo s površino peletnih jeder, izdelanih iz MCC, kasneje pa tudi s plastjo že nanesene suhe emulzije, smo kot močenja preučevali tudi v stiku z manitolom. Meritve kota močenja smo izvedli na predhodno stisnjenih ploščicah, izdelanih z uporabo tabletirke na udarec (Killian SP 300, IMA) in ročne stiskalnice pri sili 5 kN. Preverjali smo kot močenja med OF in MCC (Avicel) ter OF in manitolom, ki pri oblaganju tvori ogrodje obloge. Želimo si, da bi bil kot močenja dovolj majhen, da olje omoči površino pelete, obenem pa da ne pride do aglomeracije delcev zaradi razlivanja oljnih kapljic po površini. Rezultati meritev stičnega kota OF z različnimi deleži PAS na ploščicah iz Avicela in manitola so prikazani v preglednici XII.

**Preglednica XII:** Stični kot oljne faze z različnimi deleži Tweena 20 na ploščicah iz Avicela in manitola.

		Stični kot [°]
<b>Avicel</b>	<b>6% Tween 20</b>	42,4
	<b>9% Tween 20</b>	36,3
	<b>12% Tween 20</b>	48,2
<b>Manitol</b>	<b>6% Tween 20</b>	29,9
	<b>9% Tween 20</b>	52,5
	<b>12% Tween 20</b>	37,7

**Manitol** v izdelanih peletah predstavlja sladkorno ogrodje v oblogi iz suhe emulzije. Ker emulzija za oblaganje že po nekaj slojih nanesene obloge na jedra ne prihaja več v stik z Avicelom, smo se osredotočili predvsem na preučevanje obnašanja OF v stiku z manitolom. Iz preglednice XII lahko opazimo, da tvori OF s 6% m/m deležem Tweena 20 na ploščici iz manitola najmanjši stični kot. Tudi poskusi oblaganja pelet so potrdili, da je bila z vidika vodenja procesa oblaganja emulzija s 6% Tweena 20 najprimernejša (delež aglomeratov v zadnji fazi oblaganja s 6% Tweena 20 je bil 1,69%). Povezavo med



velikostjo stičnega kota OF in površine manitola ter vodenjem procesa oblaganja lahko opišemo s tem, da manjši stični kot predvidoma vodi do dobrega močenja površine manitola in posledično k tanjšemu in enakomernejše razporejenemu sloju OF po površini pelet, kar se kaže z nižjo stopnjo aglomeratov. Pri istem pretoku zraka je sušenje OF z manjšim stičnim kotom bolj učinkovito v primerjavi s sušenjem kapljic OF, ki imajo na površini manitola večji kot. V primeru visokih vrednosti kota močenja predvidevamo, da se na površini delca lahko pojavijo posamezne kapljice OF, kar bi ob stiku z sosednjimi delci lahko vodilo do tvorbe tekočinskih mostičkov in posledično do združevanja delcev.

Predpostavljamo, da so rezultati meritev kota močenja ploščic iz **Avicela** manj pomembni z vidika napovedovanja vodenja procesa oblaganja, saj je disperzija za oblaganje v stiku z Avicelom le v začetku procesa oblaganja. Težavnost procesa takrat označujejo predvsem tribo električne (elektrostatske) sile, ki so pomembne zlasti pri majhnih delcih (200  $\mu\text{m}$  in manj) in vodijo do zastajanja delcev na kovinskih in steklenih površinah procesne komore.

#### **4.5 VSEBNOST UČINKOVINE V PELETAH**

Naš cilj je bil vgraditi čim večji odmerek ibuprofena v oblogo pelet. Preden smo se lotili izračuna vsebnosti ibuprofena v peletah, smo ga morali ekstrahirati iz obloge. Pri tem smo imeli številne težave, zaradi katerih smo morali bistveno spremeniti začetni načrt ekstrakcije in določanja vsebnosti ZU v peletah. Glavna težava, s katero smo se srečali, je bila nepopolna ekstrakcija ZU. Možen razlog za to je premajhna stična površina med oljem in ekstrakcijskim topilom, zaradi česar smo povečali količino petroletra. Upali smo, da bo s tem ekstrakcija uspešnejša, vendar ni bilo tako. Naslednji poskus izboljšanja ekstrakcije je bil uvedba mehanske sile, ki bi povzročila intenzivno mešanje organske in vodne faze. V ta namen smo uporabili ultrazvočno kadičko, stresalnik in magnetno mešalo, vendar tudi te prilagoditve postopka ekstrakcije niso prinesle želenega učinka. Možen razlog za nizko stopnjo ekstrakcije je premajhna natehta pelet in posledično majhna celokupna masa ZU. Določanje zelo majhne količine ibuprofena je težavno, ker je pri pripravi takih vzorcev relativna napaka velika in takšni rezultati niso relevantni. Posebno pozornost pri ekstrakciji je pritegnil nastanek prozorne faze z večjo viskoznostjo na meji med organsko in vodno fazo. Do spremembe načrta metode ekstrakcije je prišlo, ko smo ugotovili, da je možna tudi ekstrakcija ibuprofena iz OF z uporabo metanola. Navedena metoda je tudi bolj uspešna z vidika ekstrakcije.

Vsebnost ZU smo določili peletam, izdelanim tekom poskusov P10, P11 in P12, pri katerih smo kot PAS uporabili Tween 20. Ekstrahirane vzorce iz pelet smo centrifugirali, odvzeli supernatant in ustrezno redčili z metanolom. Vsebnost ZU v peletah smo določili spektrofotometrično. Dobljeno vrednost po analizi smo primerjali s teoretično vsebnostjo ZU. Teoretična vsebnost ZU v peletah je bila izračunana s pomočjo enačb, ki so navedene v poglavju 3.2.5.2. Rezultati meritev vsebnosti ZU v peletah so zbrani v preglednici XIII.

**Preglednica XIII:** Teoretični izračun vsebnosti ibuprofena v jedrih, v nanoseni oblogi, celokupna masa ibuprofena, teoretično izračunana vsebnost ibuprofena na gram produkta ter spektrofotometrično določena vsebnost ibuprofena na gram produkta.

Oznaka lab. poskusa	$m_{\text{ibu.j}}$	$m_{\text{ibu.obl}}$	$m_{\text{ibu.cel}}$	$m_{\text{ibu/g}}^T$	$m_{\text{ibu/g}}^D$
<b>P10</b>	0 mg	12364 mg	12364 mg	25,002 mg/g	22,832 mg/g
<b>P11</b>	4813,4 mg	13732 mg	18545 mg	35,057 mg/g	33,002 mg/g
<b>P12</b>	6822,0 mg	13046 mg	19868 mg	38,663 mg/g	33,098 mg/g

$m_{\text{ibu.j}}$  – teoretična masa ibuprofena v jedrih (v oblogi iz prejšnje faze oblaganja)

$m_{\text{ibu.obl}}$  – teoretična masa ibuprofena v nanoseni oblogi

$m_{\text{ibu/g}}^T$  – teoretična vsebnost ibuprofena na gram produkta

$m_{\text{ibu.cel}}$  – teoretična celokupna masa ibuprofena v produktu

$m_{\text{ibu/g}}^D$  – dejanska vsebnost ibuprofena na gram produkta

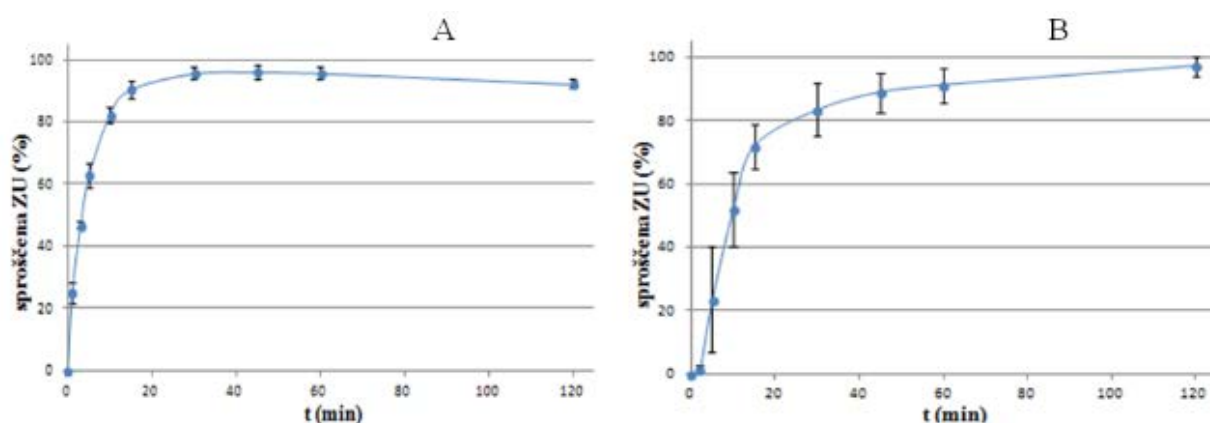
Ugotovili smo, da je izmerjena vsebnost primerljiva s teoretično ter znaša 91,32% od teoretične vrednosti pri poskusu P10, pri poskusu P11 je ta delež 94,14% in 85,61% pri poskusu P12. Rezultati nekoliko variirajo in odstopanja izmerjene vrednosti glede na teoretično lahko pripišemo napakam pri pripravi vzorca (redčenje) ali izgubam med ekstrakcijo. Vprašljiva je tudi reprezentativnost, ki jo je težje izvesti pri širši porazdelitvi delcev. To pa se najbolj odraza ravno v tretji stopnji oblaganja. Med ekstrakcijo se večina izgub pojavi, ker se iz pelet ne izluži vsa ZU, do tega pa pride, če se vsa obloga pelet ne raztopi v metanolu. Do izgub prihaja tudi na račun prenosa vzorca iz centrifugirke v bučko pri pripravi vzorca za spektrofotometrično analizo. Manjšo vsebnost ibuprofena v peletah lahko pripišemo tudi izgubam ZU med oblaganjem peletnih jeder. Izmerjena vsebnost ibuprofena v končnem produktu (produkt iz poskusa P12) kaže, da bi za 200 mg odmerok ibuprofena, potrebovali 6,043 g obloženih pelet.

#### 4.6 SPROŠČANJE ZU IZ PELET V PRIMERJAVI S SPROŠČANJEM ZU IZ REFERENČNIH TABLET

##### → Preizkus sproščanja ZU iz pelet in tablet

Preučevali smo sproščanje ZU iz obloženih pelet in ga želeli primerjati s profilom sproščanja ZU iz tablet. Za sproščanje ZU iz pelet smo določili odmerek ibuprofena 200 mg in ob upoštevanju vsebnosti ZU izračunali natehto pelet. Referenčno FO so predstavljale filmsko obložene tablete z 200 mg ibuprofena, ki smo jih kupili v lekarni (Ibuprofen INN FARM 200 mg, INN-FARM d.o.o., Slovenija).

Pri obeh FO smo se odločili za uporabo naprave 2 (naprava z vesli). Test sproščanja smo izvedli na 6 paralelah, povprečna natehta pelet je znašala 5,1733 g in povprečen odmerek ibuprofena v peletah 200,0 mg. Časovne točke pri sproščanju ZU iz pelet so bile 1, 3, 5, 10, 15, 30, 45, 60 in 120 min, pri tabletah pa 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60 in 120 min. Profila sproščanja ZU iz pelet in tablet sta prikazana na sliki 6.



**Slika 6:** Profil sproščanja ibuprofena iz obloženih pelet (A) in iz referenčnih tablet (B).

Profil sproščanja izdelanih pelet je precej enoten pri vseh 6 paralelah, kar lahko vidimo na sliki 6. Največja standardna deviacija (SD) se pojavi v časovni točki 5 min, kar je lahko posledica rahlega časovnega zamika pri ročnem odvzemu vzorcev. Ko sproščanje doseže plato (po 45 minutah) opazimo, da je relativna SD 2,2 % ali manj. Največje odstopanje od pričakovanega profila sproščanja se pojavi v 120 minuti. Opazimo, da v tej točki koncentracija ibuprofena pade. Vzrok za to je najverjetneje ta, da smo meritve zadnjih vzorcev zaradi tehničnih težav opravili šele naslednji dan. Vzorce smo po odvzemu pokrili

s parafilmom in jih shranili v temni omari pri 25 °C. Kljub temu je možno, da je med shranjevanjem prišlo do razpada ZU in posledično nižje izmerjene koncentracije ZU.

Opazno je, da profil sproščanja ZU iz tablet (Slika 6) izkazuje večjo variabilnost v primerjavi s sproščanjem ZU iz pelet. Vzroki za variabilnost rezultatov tablet v posamezni točki so lahko napake pri spektrofotometrični analizi ali napake pri pripravi vzorca. Zelo verjetne so tudi majhne, a zaznavne razlike v volumnih odvzetih vzorcev pri posamezni paraleli. Te so se pojavile pri odvzemu z injekcijskimi brizgami in znašajo približno 0,5 ml, kar pri izračunu deleža sproščene ZU lahko prispeva tudi do 1%.

Povprečna vrednost sproščene ZU v prvih 15 minutah iz pelet znaša  $90,53 \pm 2,93\%$ , pri tabletah pa  $77,80 \pm 6,91\%$ , pri obeh FO pa smo po koncu preizkusa sproščanja dosegli zelo visok odstotek sproščene ZU (skoraj 100%). Iz profilov sproščanja ZU je razvidno, da je sproščanje ZU iz pelet hitrejše v primerjavi s sproščanjem ZU iz tablet. Zavedati pa se moramo, da je učinkovina, ki jo navajamo kot sproščeno, v primeru pelet v bistvu kumulativna vrednost ibuprofena raztopljenega v pufri in kapljicah oljne faze.

#### → **Primerjava profilov sproščanja ZU z metodo računanja faktorjev podobnosti**

Za primerjavo profilov sproščanja ZU in interpretacijo rezultatov smo se osredotočili na smernice Guidance for industry – dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms (48). Ta za primerjavo profilov sproščanja dveh FO priporoča izračun faktorja različnosti ( $f_1$ ) in faktorja podobnosti ( $f_2$ ). Vrednost le-teh nam pove, v kolikšni meri sta si profila podobna oziroma različna (48). V primeru popolnega ujemanja profilov znaša vrednost faktorja  $f_1 = 0$  ter  $f_2 = 100$ . Dovoljena so manjša odstopanja, zato je **podobnost profilov** zagotovljena že, ko je vrednost  $f_1$  med 0 in 15 ter vrednost  $f_2$  med 50 in 100.

Pogoji za uporabo navedene metode so sledeči:

- SD v časovnih točkah do 15. minute ne sme presegati 20%, kasneje pa ne več kot 10%;
- določamo razliko med profiloma sproščanja testne in referenčne FO, pri čemer pri vsaki upoštevamo meritve 12 ponovitev;
- $f_1$  in  $f_2$  računamo vsaj v 3-4 časovnih točkah;
- le v eni časovni točki je lahko odstotek sproščene ZU iz obeh FO nad 85%.

Uporabljene pogoje in rezultate navedene metode izračuna smo navedli v preglednici XIV.

**Preglednica XIV:** Pogoji, ki smo jih upoštevali pri metodi faktorjev podobnosti in različnosti, ter rezultati izračuna.

<b>Referenčna farmacevtska oblika</b>	Pelete
<b>Testna farmacevtska oblika</b>	Tablete
<b>Število paralel</b>	6
<b>Časovne točke</b>	5, 10, 15 in 30 min
<b>Faktor različnosti</b>	$f_1=25,40$
<b>Faktor podobnosti</b>	$f_2=18,77$

Na podlagi izračunanih faktorjev lahko povzamemo, da profila sproščanja nista podobna. S tem lahko potrdimo našo hipotezo, da se ZU iz pelet sprošča hitreje kot iz tablet, kar je razvidno tudi iz profilov sproščanja ZU.

## 5. SKLEP

V naši študiji smo se osredotočili na oblaganje peletnih jeder s suho emulzijo, ki nudi potencialne biofarmaceutске prednosti pred oblaganjem z disperzijami za oblaganje. S terapevtskega vidika je pomembno možno povečanje biološke razpoložljivosti v vodi slabo topne ZU, vgrajene v sistem osnovan na lipidih (53). Zanimalo nas je, kako izbor tvorilca ogrodja in delež PAS vplivata na vgradnjo oljne faze z raztopljenim ibuprofenom v oblogo pelet. Oblaganje smo izvedli z vrtničnoslojno tehnologijo v Wursterjevi komori. Eksperimentalno delo je zajemalo tudi preučevanje izdelanih pelet z vidika vsebnosti ZU in porazdelitve velikosti oljnih kapljic po dispergiranju pelet v manjšem volumnu prečiščene vode. Z namenom preučevanja porazdelitve velikosti izdelanih pelet smo izvedli še slikovno analizo in mikroskopske posnetke prereзов pelet. Sledila je primerjava profilov sproščanja ZU iz pelet in referenčne farmaceutске oblike (tablet). Pri tem smo prišli do številnih pomembnih spoznanj:

- Uporaba PAS in povišana temperatura povečata topnost ibuprofena v olju. Najvišjo topnost ibuprofena v Miglyolu 812 smo dosegli z dodatkom 12% Tweena 20.
- Uspešnost poskusov oblaganja je odvisna od sestave emulzije, s katero oblagamo. Najboljše rezultate oblaganja smo dosegli z emulzijo s 6% Tweena 20, pri kateri je bilo razmerje SF:OF = 2,5:1 (poskusi P10, P11 in P12).
- Med zaporednimi stopnjami oblaganja je bilo pelete potrebno obložiti še s plastjo HPMC, da smo preprečili zlepljanje pelet med shranjevanjem.
- Emulzija, ki je nastala po dispergiranju pelet v prečiščeni vodi, kaže znake delne nestabilnosti, kar sklepamo iz porazdelitve velikosti kapljic OF.
- Kot močenja OF na ploščicah iz manitola se je spreminjal v odvisnosti od deleža Tweena 20. Z vidika procesibilnosti je bila najugodnejša disperzija z najmanjšim kotom močenja, to je emulzija s 6% Tweena 20.
- Vsebnost ZU je v izdelanih peletah z oblogo iz suhe emulzije razmeroma majhna. Za doseganje enkratnega odmerka 200 mg ibuprofena je potrebno 6,043 g pelet.
- Sproščanje ZU iz izdelanih pelet z oblogo v obliki suhe emulzije je hitrejše v primerjavi s sproščanjem ZU iz referenčnih tablet z enakim odmerkom ibuprofena.

## 6. LITERATURA

1. Augsburger LL, Hoag SW, editors. *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*. 3rd Ed. Boca Raton: CRC Press; 2008.
2. Ilić I, Kerč J. Tabletiranje obloženih pelet – večnotne farmacevtske oblike. *Farm Vestn.* 2009; 60: 271–278.
3. Luštrik M. Razvoj in izdelava pelet s suhimi emulzijami z uporabo tehnologije z vrtinčenjem. Diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. Ljubljana. 2007.
4. Ramu S et al. Multiple Unit Drug Delivery System: Pelletization Techniques. *Am J Adv Drug Deliv.* 2013; 1: 11–21.
5. *Formularium Slovenicum 3.0*. Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP). Ljubljana; 2015.
6. *European Pharmacopoeia 8th Ed.* Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe (EDQM). Strasbourg; 2014.
7. Zvonar A., Gašperlin M. Pregled metod izdelave mikrokapsul za farmacevtsko uporabo. *Farm Vestn.* 2011; 62: 131–138.
8. Luštrik M. Razvoj metod in vrednotenje lokalnih karakteristik toka trdnih delcev v vrtinčnoslojnih napravah za oblaganje ter njihov vpliv na enakomernost obloge delcev. Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. Ljubljana. 2011.
9. Žagar B. Razvoj laboratorijske metode za slikovno analizo pelet. Diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. Ljubljana. 2012.
10. Korasa K. Študija uporabnosti meritev “v napravi” za spremljanje procesa oblaganja. Diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. Ljubljana. 2013.
11. Rosdi MRH et al. Optimizing homogenization parameters for improving ethylene vinyl acetate emulsion stability in pour point depressant application. *Journal of King Saud University - Engineering Sciences.* 2016. DOI: 10.1016/0009-2509(93)80021-H.
12. Allen LV, Ansel HC, editors. *Ansel. Ansel’s Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. Baltimore: Wolters Kluwer; 2001.
13. Vladislavljević GT. Recent advances in the production of controllable multiple emulsions using microfabricated devices. *Particuology.* 2016; 24: 1–17.
14. Aulton ME, Taylor KMG, editors. *Aulton’s Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines*. 4th Ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, Elsevier; 2013.
15. Gojkovič T. Načrtovanje sestave in preučevanje stabilnosti krem s polhovim oljem. Magistrsko delo, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. Ljubljana. 2014.
16. Khan BA et al. Basics of pharmaceutical emulsions: A review. *Afr J Pharm Pharmacol.* 2011; 5(25): 2715–2725.
17. Srivastava S, Mishra G. Fluid Bed Technology: Overview and Parameters for Process Selection. *Int J Pharm Sci Drug Res.* 2010; 2(4): 236–246.
18. Baldan A. Review: Progress in Ostwald ripening theories and their applications to nickel-base superalloys Part I: Ostwald ripening theories. *J Mater Sci.* 2002; 37: 2717-2202.

19. Teskač K, Gašperlin M. Emulzije, stabilizirane s trdnimi delci - Pickering emulzije. *Farm Vestn.* 2009; 60: 14–20.
20. Gašperlin M. Površinsko aktivne snovi (PAS). Gradivo za vaje pri predmetu Kozmetični izdelki 1. Fakulteta za farmacijo. Ljubljana.
21. Gosenca M. Tekoče in poltrdne farmacevtske oblike. Gradivo za vaje pri predmetu Farmacevtska tehnologija 1. Fakulteta za farmacijo. 2014.
22. Griffin WC. Calculation of HLB values of non-ionic surfactants. *J Od Soc Cosmet Chem.* 1954; 249–256.
23. Davies JT. A quantitative kinetic theory of emulsion type. I. physical chemistry of the emulsifying agent. *GasLiquid Liq Interfaces Proc 2 Nd Int Congr Surf Act.* 1957; 426–438.
24. Luštrik M et al. Primerjava in razvoj naprav za oblaganje delcev. *Farm Vestn.* 2010; 61: 155–161.
25. Mehanna MM et al. Optimization, physicochemical characterization and in vivo assessment of spray dried emulsion: A step toward bioavailability augmentation and gastric toxicity minimization. *Int J Pharm.* 2015; 496: 766–779.
26. KU Leuven LFT. High pressure homogenization. 2015.
27. Ho H et al. The preparation and characterization of solid dispersions on pellets using a fluidized-bed system. *Int J Pharm.* 1996; 139: 223–229.
28. Christensen KL et al. Technical optimisation of redispersible dry emulsions. *Int J Pharm.* 2001; 212: 195–202.
29. Hansen T et al. Process characteristics and compaction of spray-dried emulsions containing a drug dissolved in lipid. *Int J Pharm.* 2004; 287: 55–66.
30. Dange V et al. A Review: Dry Emulsion. *Asian J Pharm Res Health.* 2015; 5(4): 208–210.
31. Munoz-Ibanez M et al. The microstructure and component distribution in spray-dried emulsion particles. *Food Struct.* 2016; 8: 16–24.
32. Cui F et al. Preparation of redispersible dry emulsion using Eudragit E100 as both solid carrier and unique emulsifier. *Colloids Surf A.* 2007; 307: 137–141.
33. You X et al. Optimizing surfactant content to improve oral bioavailability of ibuprofen in microemulsions: just enough or more than enough? *Int J Pharm.* 2014; 471: 276–284.
34. Sauer D. Dry powder coating of pharmaceuticals: A review. *Int J Pharm.* 2013; 457: 488–502.
35. Wikipediija.org [Internet]. Ibuprofen. [Updated 19 Nov 2015; cited 26 Jun 2016]. Available from: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Ibuprofen>.
36. Povzetek glavnih značilnosti zdravila. Zdravilo Brufen, 200/400/600 mg filmsko obložene tablete. Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke (JAZMP). Zadnja revizija besedila: 26.10.2015.
37. Kerec Kos M. Zdravila za zdravljenje bolečine. *Farm Vestn.* 2012 ;63: 6–9.
38. Meke A. Izdelava in vrednotenje lipidnih nanosistemov z resveratrolom. Magistrska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. Ljubljana. 2014.



39. Wikipedia.org [Internet]. Polysorbate 20. [Updated 25 Jul 2016; cited 27 Jun 2016]. Available from: [https://en.wikipedia.org/wiki/Polysorbate\\_20](https://en.wikipedia.org/wiki/Polysorbate_20).
40. Rowe RC et al, editors. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6<sup>th</sup> Ed. Washington: RPS Publishing; 2009.
41. Vidovič S. Proučevanje vpliva vrste škroba in laktoze na lastnosti tablet izdelanih z direktnim tabletiranjem. Diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. Ljubljana. 2013
42. Varnostni list-petroleter. Kemika. Datum izdaje: 24.5.2004.
43. Tripar A. Vrednotenje dveh različnih označevalcev paracelularnega prehoda pri poskusih permeabilnosti na izoliranem črevesju podgane. Diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. Ljubljana. 2011.
44. Evaluation Report of Food Additives, Polysorbates (Polysorbates 20, 60, 65 and 80). Food Safety Commission; 2003.
45. Cowick et al. Publication: Span and Tween. East Yorkshire: Croda Europe Ltd; 2009.
46. Biotehniška fakulteta Ljubljana [Internet]. Mikroskop-vrstični mikroskop. [Updated 2006; cited 21 Sept 2016]. Available from: <http://web.bf.uni-lj.si/bi/mikroskopija/mikroskop-sem.php>.
47. Planinšek O, Lavrič Z. Fizikalna farmacija-vaje, 3. vaja: Močenje, medfazna napetost, prosta površinska energija in koeficient razprostiranja. Gradivo za vaje pri predmetu Fizikalna farmacija. Fakulteta za farmacijo. Ljubljana. 2009.
48. Guidance for industry - dissolution testing of immediate release solid dosage forms. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). 1997.
49. Mikec S. Priprava načrta in uvedba kontrole kakovosti plinske analize krvi na osnovi ocene obvladovanja tveganja. Magistrska naloga, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo. Ljubljana. 2015.
50. Krupa A et al. Preparation of solid self-emulsifying drug delivery systems using magnesium aluminometasilicates and fluid-bed coating process. Powder Technol. 2014; 266: 329–339.
51. Muzzio FJ et al. Powder technology in the pharmaceutical industry: the need to catch up fast. Powder Technol. 2002; 128: 1–7.
52. Luštrik M et al. Comparative study of the uniformity of coating thickness of pellets coated with a conventional Wurster chamber and a swirl generator-equipped Wurster chamber. Pharm Dev Technol. 2012; 17 (3): 268–276.
53. Kalepu S. et al. Oral lipid-based drug delivery systems – an overview. Acta Pharm Sin B. 2013; 3: 361–372.

## 7. PRILOGE

### Priloga 1

Sistem enačb *P-1* za izračun deleža nevtralnih peletnih jeder v obloženih peletah v drugi in tretji fazi procesa oblaganja:

$$\begin{aligned}
 m_{nevt.j} &= m_{j2} \times \left( \frac{100 - LOD_{z2}}{100} \right) - m_{obl2} = \\
 &= m_{j2} \times \left( \frac{100 - LOD_{z2}}{100} \right) - \left( \frac{m_{obl1}}{m_{prod1} \times \left( \frac{100 - LOD_{k1}}{100} \right)} \times m_{j2} \times \left( \frac{100 - LOD_{z2}}{100} \right) \right) \\
 m_{cel.obl} &= m_{obl2} + m_{obl1} = \\
 &= \left( m_{prod2} \times \left( \frac{100 - LOD_{k2}}{100} \right) - m_{j2} \times \left( \frac{100 - LOD_{z2}}{100} \right) \right) + \left( m_{j2} \times \left( \frac{100 - LOD_{z2}}{100} \right) - m_{nevt.j} \right)^* \\
 m_{obl.p} &= m_p \times \frac{m_{cel.obl}}{m_{prod2}} \quad (P-1)
 \end{aligned}$$

\*Pri **tretji fazi** oblaganja upoštevamo, da masa obloge iz prejšnje faze oblaganja ( $m_{obl1}$ ) predstavlja maso celokupne obloge v drugi fazi oblaganja ( $m_{cel.obl}$ ).

$m_{nevt.j}$  – masa nevtralnih peletnih jeder

$m_{j2}$  – masa obloženih pelet iz 1. faze oblaganja

$m_{obl1}$  – masa obloge iz 1. faze oblaganja

$m_{obl2}$  – masa obloge v 2. fazi oblaganja

$m_{prod1}$  – masa produkta iz 1. faze oblaganja

$m_{prod2}$  – masa produkta

$m_{cel.obl}$  – masa celokupne obloge v 1. fazi oblaganja

$LOD_{z2}$  – delež vlage v začetnih jedrih iz 2. faze oblaganja

$LOD_{k1}$  – delež vlage v produktu iz 1. faze oblaganja

$LOD_{k2}$  – delež vlage v produktu

$m_{obl.p}$  – masa obloge v ustrezni masi pelet

$m_p$  – masa pelet za dispergiranje

## Priloga 2

Teoretični izračun vsebnosti ibuprofena v obloženih peletah je predstavljen s sledečimi enačbami:

$$m_{obl} = m_{prod} \times \left( \frac{100-LOD_k}{100} \right) - m_j \times \left( \frac{100-LOD_z}{100} \right) \quad (P2)$$

$$W_{obl} = \frac{m_{obl}}{m_{prod} \times \left( \frac{100-LOD_k}{100} \right)} \quad (P3)$$

Maso ibuprofena v obloženih peletah dobimo tako, da najprej izračunamo delež ibuprofena v suhi snovi emulzije, slednjega pa nato pomnožimo z maso obloge.

$$W_{ibu} = \frac{m_{ibu.emu}}{m_{s.s.}} \quad (P4)$$

$$m_{ibu} = W_{ibu} \times m_{obl} \quad (P5)$$

Upoštevamo tudi oblogo iz HPMC. Ta podatek upoštevamo pri izračunu vsebnosti ZU v peletah obložene v poskusih P11 in P12.

$$m_{HPMC1} = m_{prod.sk} - m_{prod.brez\ HPMC} \quad (P6)$$

$$W_{HPMC1} = \frac{m_{HPMC1}}{m_{prod.sk} \times \left( \frac{100-LOD_k}{100} \right)} \quad (P7)$$

Pri **drugi fazi oblaganja (P11)** je izračun vsebnosti ibuprofena nekoliko prirejen, saj moramo upoštevati, da masa jeder ( $m_{j2}$ ) v 2. fazi predstavlja maso obloženih pelet iz 1. faze oblaganja ter da so jedra iz 1. faze obložena še z oblogo HPMC, ki jo je potrebno odšteti od mase obloge. Uporabimo sistem enačb *P8 (P8-1 do P8-4)*.

$$m_{HPMC.j2} = W_{HPMC1} \times m_{j2} \times \left( \frac{100-LOD_{z2}}{100} \right) \quad (P8-1)$$

$$m_{obl.brez\ HPMC} = m_{j2} \times \left( \frac{100-LOD_{z2}}{100} \right) - m_{HPMC.j2} \quad (P8-2)$$

$$m_{obl.j2} = W_{obl1} \times m_{obl.brez\ HPMC} \quad (P8-3)$$

$$m_{ibu.j2} = W_{ibu1} \times m_{obl.j2} \quad (P8-4)$$

Z uporabo enačb *P2*, *P4* in *P5* izračunamo še maso ibuprofena v oblogi iz 2. stopnje ( $m_{ibu2}$ ). Sledi izračun skupne vsebnosti ibuprofena v produktu iz 2. faze oblaganja.

$$m_{ibu.cel2} = m_{ibu2} + m_{ibu.j2} \quad (P9)$$

$$W_{ibu.cel2} = \frac{m_{ibu.cel2}}{m_{prod2} \times \left( \frac{100-LOD_{k2}}{100} \right)} \quad (P10)$$

Vsebnost ibuprofena v **tretji fazi oblaganja** izračunamo podobno kot v prejšnji fazi. Uporabimo enačbi *P4* in *P5*, da dobimo vsebnost ZU v oblogi iz 3. faze ( $m_{ibu3}$ ). Za izračun vsebnosti v začetnih jedrih 3. faze ( $m_{ibu,j3}$ ) uporabimo enačbi *P8-1* in *P8-2*. Pri tem moramo upoštevati vsebnost HPMC iz 2. faze oblaganja, kar izračunamo z enačbami *P6*, *P7* in *P10*. Maso ibuprofena izrazimo z enačbo *P12*.

$$m_{HPMC2} = m_{prod2} - m_{prod.brez\ HPMC2} \quad (P11)$$

$$W_{HPMC2} = \frac{m_{HPMC2}}{m_{prod.sk2} \times \left( \frac{100 - LOD_{k2}}{100} \right)} \quad (P7)$$

$$m_{ibu,j3} = W_{ibu.cel2} \times m_{obl.brez\ HPMC2} \quad (P12)$$

Skupna masa ibuprofena v končnem produktu je izračunana po enačbi *P13*. Izračunamo še vsebnost ibuprofena na gram produkta (enačba *P14*).

$$m_{ibu.cel3} = m_{ibu3} + m_{ibu,j3} \quad (P13)$$

$$W_{ibu.cel3} = \frac{m_{ibu.cel3}}{m_{prod3.brez\ HPMC} \times \left( \frac{100 - LOD_{k3}}{100} \right)} \quad (P14)$$

$m_{obl}$ – masa obloge	$m_{prod.brez\ HPMC}$ – masa produkta v 1. fazi brez obloge iz HPMC	$m_{ibu.cel2}$ – masa celokupnega ibuprofena v 2. fazi oblaganja
$m_{prod}$ – masa produkta (izdelanih pelet)	$W_{HPMC1}$ – masni delež nanesene obloge iz HPMC v 1. fazi oblaganja	$m_{HPMC2}$ – masa obloge iz HPMC na jedrih v 3. fazi oblaganja
$LOD_k$ – delež vlage v produktu	$m_{HPMC,j2}$ – masa obloge iz HPMC iz 1. faze na jedrih v 2. fazi oblaganja	$m_{prod2}$ – masa produkta v 2. fazi oblaganja
$m_j$ – masa peletnih jader	$m_{j2}$ – masa jader v 2. fazi oblaganja (z oblogo iz 1. faze)	$m_{prod.brez\ HPMC2}$ – masa produkta v 2. fazi oblaganja brez obloge iz HPMC
$LOD_z$ – delež vlage v začetnih jedrih	$LOD_{z2}$ – delež vlage v začetnih jedrih v 2. fazi oblaganja	$W_{HPMC2}$ – masni delež obloge iz HPMC na jedrih v 3. fazi oblaganja
$w_{obl}$ – masni delež obloge	$m_{obl.brez\ HPMC}$ – masa obloge brez HPMC iz 1. faze oblaganja na jedrih v 2. fazi oblaganja	$m_{prod.sk2}$ – masa produkta v 2. fazi oblaganja z oblogo iz HPMC in z oblogo z ibuprofenom
$w_{ibu}$ – masni delež ibuprofena v suhi snovi emulzije	$m_{obl,j2}$ – masa obloge z ibuprofenom iz 1. faze oblaganja na jedrih v 2. fazi oblaganja	$LOD_{k2}$ – delež vlage v produktu v 2. fazi oblaganja
$m_{ibu.emu}$ – masa ibuprofena v emulziji	$m_{ibu,j2}$ – masa ibuprofena v oblogi iz 1. faze oblaganja na jedrih v 2. fazi oblaganja	$m_{ibu,j3}$ – masa ibuprofena v oblogi na jedrih v 3. fazi oblaganja
$m_{s.s.}$ – masa suhe snovi v emulziji		$W_{ibu.cel2}$ – masni delež celokupnega ibuprofena v 2. fazi oblaganja
$m_{ibu}$ – masa ibuprofena v obloženih peletah		
$m_{HPMC1}$ – masa obloge iz HPMC v 1. fazi oblaganja		
$m_{prod.sk}$ – masa produkta z oblogo z ibuprofenom in oblogo iz HPMC v 1. fazi oblaganja		

$m_{obl.brez\ HPMC2}$  – masa obloge brez HPMC iz 2. faze oblaganja na jedrih v 3. fazi oblaganja

$m_{ibu.cel3}$  – masa celokupnega ibuprofena v 3. fazi oblaganja

$m_{ibu3}$  – masa ibuprofena v oblogi v 3. fazi oblaganja

$w_{ibu.cel3}$  – masni delež celokupnega ibuprofena v 3. fazi oblaganja

$m_{prod.brez\ HPMC3}$  – masa produkta v 3. fazi oblaganja brez obloge iz HPMC