

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

**INA KOSMAČ**

**MAGISTRSKA NALOGA**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2017

Univerza v Ljubljani  
Fakulteta *za farmacijo*



**INA KOSMAČ**

**PRETVORBA TEKOČEGA SAMO-MIKROEMULGIRAJOČEGA  
SISTEMA S KARVEDILOLOM V TRDNO OBLIKO S  
TEHNOLOGIJO SUŠENJA Z RAZPRŠEVANJEM**

**MAGISTRSKA NALOGA**

**TRANSFORMATION OF LIQUID CARVEDILOL-LOADED SELF-  
MICROEMULSIFYING SYSTEM INTO SOLID DOSAGE FORM BY  
SPRAY DRYING TECHNOLOGY**

**MASTER'S THESIS**

**ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA**

Ljubljana, 2017

*Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani, na Katedri za Farmaceutsko tehnologijo, pod mentorstvom doc. dr. Alenke Zvonar Pobirk, mag. farm. Kromatografske analize so bile opravljene v podjetju Krka, d.d., Novo mesto.*

### **Zahvala**

*Iskreno se zahvaljujem mentorici doc. dr. Alenki Zvonar Pobirk, mag. farm. za ponujeno priložnost, vse vzpodbudne besede, strokovne razprave in usmerjanje pri nastajanju magistrske naloge.*

*Najlepša hvala Jeleni Mandić, mag. farm. za vse ideje, strokovne nasvete in pomoč pri kromatografskih analizah. Zahvaljujem se izr. prof. dr. Petri Kocbek, mag. farm. za pomoč pri izvedbi analiz z vrstično elektronsko mikroskopijo. Prav tako se zahvaljujem tehničnima sodelavkama Tatjani Hrovatič, ing. kem. teh. in Mojci Keržan, ing. kem. teh., strokovni sodelavki Maji Bjelošević, mag. ind. farm. ter vsem ostalim zaposlenim na Katedri za farmaceutsko tehnologijo, za vedno prijazno pomoč in prijetno vzdušje v laboratoriju.*

*Posebno zahvalo namenjam družini, ki mi je omogočila študij, mi ves čas stala ob strani, nudila neskončno podporo in verjela vame. Hvala tudi vsem prijateljem za nepozabna študentska leta.*

*Na koncu bi se rada zahvalila še podjetju Krka, d.d, Novo mesto, ki je s podelitvijo kadrovske štipendije prispevalo h kvaliteti mojega študija.*

### **Izjava**

*Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom doc. dr. Alenke Zvonar Pobirk, mag. farm.*

*Ina Kosmač*

# KAZALO VSEBINE

---

<b>KAZALO VSEBINE</b> .....	<b>IV</b>
<b>KAZALO SLIK</b> .....	<b>VI</b>
<b>KAZALO PREGLEDNIC</b> .....	<b>VIII</b>
<b>KAZALO ENAČB</b> .....	<b>IX</b>
<b>KAZALO PRILOG</b> .....	<b>IX</b>
<b>POVZETEK</b> .....	<b>X</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XII</b>
<b>SEZNAM UPORABLJENIH OKRAJŠAV</b> .....	<b>XIV</b>
<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 NA LIPIDIH OSNOVANI SISTEMI</b> .....	<b>2</b>
<b>1.2 SAMO-(MIKRO)EMULGIRAJOČI SISTEM – S(M)ES</b> .....	<b>3</b>
1.2.1 Sestava S(M)ES .....	4
1.2.1.1 Kemizem osnovnih sestavin S(M)ES.....	5
1.2.1.2 Vloga sestavin S(M)ES .....	5
1.2.2 (Psevdo)trikomponentni fazni diagram.....	6
<b>1.3 TRDEN SAMO-(MIKRO)EMULGIRAJOČI SISTEM – S-S(M)ES</b> .....	<b>7</b>
1.3.1 Nosilci za pretvorbo S(M)ES v trdno obliko .....	7
1.3.1.1 Silikatni nosilci.....	7
1.3.1.2 Polisaharidni nosilci .....	8
1.3.1.3 Polimerni nosilci .....	8
1.3.1.4 Proteinski nosilci .....	9
1.3.2 Metode pretvorbe S(M)ES v trdno obliko .....	9
1.3.2.1 Polnjenje kapsul s tekočim ali poltrdnim S(M)ES .....	9
1.3.2.2 Adsorpcija na trdne porozne nosilce .....	10
1.3.2.3 Razprševanje s strjevanjem (angl. spray congealing/cooling) .....	10
1.3.2.4 Granuliranje s talinami (angl. melt granulation) .....	10
1.3.2.5 Iztiskanje talin s krogličanjem (angl. extrusion-spheronization) .....	11
1.3.2.6 Metoda superkritičnih fluidov (angl. supercritical fluid-based method).....	11
1.3.2.7 Sušenje z razprševanjem (angl. spray drying).....	12
1.3.2.7.1 Princip sušenja z razprševanjem.....	13
1.3.2.7.2 Vpliv procesnih spremenljivk na lastnosti produkta .....	14
<b>2. NAMEN DELA</b> .....	<b>16</b>
<b>3. MATERIALI IN METODE</b> .....	<b>17</b>
<b>3.1 MATERIALI</b> .....	<b>17</b>
3.1.1 Naprave in pripomočki.....	17
3.1.2 Sestavine za pripravo tekočega SMES.....	18
3.1.3 Nosilci za pretvorbo SMES v trdno obliko .....	20
3.1.4 Modelna učinkovina – karvedilol .....	22
3.1.5 Mediji za sproščanje in analitiko .....	23
<b>3.2 METODE</b> .....	<b>24</b>
3.2.1 Izdelava (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama.....	24

3.2.2	Priprava tekočega SMES in SMES z učinkovino .....	25
3.2.3	Priprava disperzije za razprševanje.....	26
3.2.4	Pretvorba tekočega SMES v trdno obliko z metodo sušenja z razprševanjem .....	26
3.2.5	Pretvorba tekočega SMES v trdno obliko z adsorpcijsko metodo.....	28
3.2.6	Merjenje vsebnosti vlage vhodnih sestavin (nosilcev) in produktov s termo-gravimetrijo.....	28
3.2.7	Določanje vsebnosti karvedilola v produktih s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti.....	28
3.2.8	Merjenje časa redispergiranja in velikosti kapljic nastale (mikro)emulzije s fotonsko korelacijsko spektroskopijo.....	30
3.2.9	<i>In vitro</i> preskus sproščanja karvedilola.....	31
3.2.9.1	Priprava medijev za preskus sproščanja.....	31
3.2.9.2	Priprava vzorcev za preskus sproščanja.....	31
3.2.9.3	Izvedba preskusa sproščanja in analitika rezultatov .....	31
3.2.10	Merjenje nasipnega volumna in pretočnih lastnosti z določanjem Carrovega indeksa in Hausnerjevega razmerja.....	33
3.2.11	Določanje kristaliničnosti karvedilola z diferenčno dinamično kalorimetrijo .....	34
3.2.12	Merjenje morfoloških lastnosti z vrstično elektronsko mikroskopijo .....	34
<b>4.</b>	<b>REZULTATI IN RAZPRAVA .....</b>	<b>35</b>
4.1	<b>Kvalitativna in kvantitativna sestava tekočega SMES .....</b>	<b>35</b>
4.2	<b>Pretvorba SMES v trdno obliko z metodo sušenja z razprševanjem .....</b>	<b>37</b>
4.2.1	Optimizacija procesnih parametrov za doseg čim višjega izkoristka procesa .....	38
4.2.2	Vpliv sestave in časa mešanja disperzije za razprševanje na izkoristek procesa.....	39
4.3	<b>Vrednotenje trdnih samo-(mikro)emulgirajočih sistemov – S-S(M)ES.....</b>	<b>43</b>
4.3.1	Primerjava eksperimentalno določene in teoretične vsebnosti ZU .....	43
4.3.1.1	Vpliv vrste nosilca in razmerja (SMES+ZU)/nosilec .....	43
4.3.1.2	Vpliv časa mešanja disperzije pred razprševanjem.....	45
4.3.1.3	Vpliv predhodne zapolnitve por nosilca s praznim SMES .....	46
4.3.1.4	Primerjava adsorpcijske metode z metodo sušenja z razprševanjem .....	47
4.3.2	Samo-(mikro)emulgirajoče lastnosti S-S(M)ES .....	47
4.3.3	<i>In vitro</i> preskus sproščanja karvedilola.....	51
4.3.4	Pretočne lastnosti S-S(M)ES.....	54
4.3.5	Diferenčna dinamična kalorimetrija.....	56
4.3.6	Morfološke lastnosti S-S(M)ES .....	58
<b>5.</b>	<b>SKLEPI.....</b>	<b>61</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA.....</b>	<b>63</b>
<b>7.</b>	<b>PRILOGE .....</b>	<b>69</b>

## KAZALO SLIK

---

<b>Slika 1:</b> Lastnosti ZU glede na posamezne razrede biofarmaceutskega klasifikacijskega sistema (BCS), prirejeno po (5).	2
<b>Slika 2:</b> (Psevdo)trikomponentni fazni diagram, s prikazom odčitavanja razmerja v izbrani točki (15).	6
<b>Slika 3:</b> Shema sušilnika Büchi Mini Spray Dryer B-290 z označenimi sestavnimi deli, prirejeno po (17).	12
<b>Slika 4:</b> Različni stiki sušilnega plina z razprševano disperzijo: 1 – sotočni način, 2 – protitočni način, 3 – kombinirani način, 4 – rotirajoči način; prirejeno po (17).	14
<b>Slika 5:</b> Struktura primarne komponente PS Capmul <sup>®</sup> MCM EP (23).	18
<b>Slika 6:</b> Ricinoleinska kislina, glavna sestavina ricinusovega olja (27).	18
<b>Slika 7:</b> Strukturna formula glicerol polietilenglikol hidroksistearata, glavne sestavine PS Kolliphor <sup>®</sup> RH40, prirejeno po (33).	19
<b>Slika 8:</b> Strukturna formula PS polietilenglikol (PEG) (35).	19
<b>Slika 9:</b> Strukturna formula PS Neusilin <sup>®</sup> US2 (levo) in prikaz tetra- in oktaedra (desno) (38, 39).	20
<b>Slika 10:</b> Strukturna formula mikrokristalne celuloze (48).	21
<b>Slika 11:</b> Strukturna in molekulska formula karvedilola, s pripadajočo molekulsko maso (25).	22
<b>Slika 12:</b> Stopnje transparentnosti sistemov, ki so nastali ob dodajanju vode različnim S(M)ES – 1: mikroemulzija (bistra, transparentna), 2: mikroemulzija (opalescentna, delno transparentna), 3: emulzija (motna, netransparentna).	36
<b>Slika 13:</b> PTFD za sistem Kolliphor CO40 / PEG 400 = 1/1, Capmul MCM EP / Ricinusovo olje = 1/1 in vodo, kjer modre točke predstavljajo tista razmerja med komponentami, pri katerih nastane transparentna (mikro)emulzija.	36
<b>Slika 14:</b> Vizualni izgled končnih točk razredčitvenih premic (95 % vsebnost vode) po enem tednu shranjevanja pri sobni temperaturi; od leve proti desni se zmanjšuje delež emulgatorske faze (90→10); le prvi trije sistemi so stabilni (ni ločitve faz).	36
<b>Slika 15:</b> Velike izgube produkta na dnu procesne posode pri procesu sušenja z razprševanjem, nastavitev višine na rotamtru na 40 mm.	39
<b>Slika 16:</b> Vpliv višine na rotamtru (40 vs. 50 mm) na izkoristek procesa sušenja z razprševanjem, ostali procesni parametri so konstantni.	39
<b>Slika 17:</b> Vpliv dodatka ZU v SMES na izkoristek procesa sušenja z razprševanjem.	40
<b>Slika 18:</b> Vpliv časa mešanja disperzije za razprševanje v razmerju (SMES+ZU):Neusilin US2 = 1,5:1 (prvi stolpec pri vsakem času) in 2:1 (drugi stolpec pri vsakem času) na izkoristek procesa.	42
<b>Slika 19:</b> Vpliv vrste in deleža nosilca na izkoristek procesa sušenja z razprševanjem.	42
<b>Slika 20:</b> Sušilnik z razprševanjem Büchi Mini Spray Dryer B-290 z rumeno označenim ciklonom, kjer poteka glavno ločevanje delcev.	42
<b>Slika 21:</b> Povečan ciklonski del in primerjava obnašanja dveh različnih nosilcev: 1 - Syloid 244FP, 2 - Neusilin US2.	42

<b>Slika 22:</b> Princip adsorpcijske metode – vgrajevanje tekočega SMES v trdni nosilec z mešanjem s pestilom v terilnici.....	47
<b>Slika 23:</b> Intenzitetna porazdelitev velikosti kapljic (mikro)emulzije po redispergiranju S-S(M)ES, ki ima za trdni nosilec Neusilin US2 (A) oz. Syloid 244FP (B).....	50
<b>Slika 24:</b> Spreminjanje velikosti kapljic po redispergiranju (leva ordinatna os, stolpični diagram) in PDI (desna ordinatna os, točkovni diagram) v odvisnosti od deleža PAS v formulaciji.....	51
<b>Slika 25:</b> Profili sproščanja karvedilola iz S-S(M)ES in raztapljanje kristaliničnega karvedilola (KARV) v raztopini HCl s pH 1,2. S-S(M)ES so predstavljeni z imenom nosilca in razmerjem (SMES+ZU)/nosilec.....	52
<b>Slika 26:</b> Profili sproščanja karvedilola iz S-S(M)ES in raztapljanje kristaliničnega karvedilola (KARV) v fosfatnem pufri s pH 6,8. S-S(M)ES so predstavljeni z imenom nosilca in razmerjem (SMES+ZU)/nosilec.....	53
<b>Slika 27:</b> Vrednotenje pretočnih lastnosti s Carrovim indeksom (leva ordinatna os, stolpični diagram) in Hausnerjevim razmerjem (desna ordinatna os, rdeča krivulja).....	55
<b>Slika 28:</b> Nasipni volumni praznih S-S(M)ES v mL ( $m \approx 5$ g), z različnimi nosilci in razmerji SMES/nosilec.....	56
<b>Slika 29:</b> DSC krivulje za ZU karvedilol, trdni nosilec Neusilin US2, fizikalno zmes nosilec/ZU v razmerju 1:1 ter S-S(M)ES na osnovi Neusilina US2 (različna razmerja SMES/nosilec; brez in z ZU).....	57
<b>Slika 30:</b> DSC krivulje za ZU karvedilol, trdni nosilec Syloid 244FP, fizikalno zmes nosilec/ZU v razmerju 1:1 ter S-S(M)ES na osnovi Syloida 244FP (različna razmerja SMES/nosilec; brez in z ZU).....	57
<b>Slika 31:</b> DSC krivulje za ZU karvedilol, trdna nosilca Avicel PH-101 in Aerosil 200, obe fizikalni zmesi nosilec/ZU v razmerju 1:1 ter S-S(M)ES na osnovi Avicela PH-101 in Aerosila 200 (1/1); brez in z ZU.....	57
<b>Slika 32:</b> Slike kristaliničnega karvedilola pri 1000-kratni povečavi (A) in dveh poroznih nosilcev – Neusilina US2 pri 5000- in 500-kratni povečavi (B1, B2) ter Syloida 244FP pri 10000-kratni povečavi (C), posnete z vrstičnim elektronskim mikroskopom. ....	58
<b>Slika 33:</b> Slike produktov na osnovi poroznega nosilca Neusilina US2 (izdelanih s sušenjem z razprševanjem) v razmerju (SMES+ZU)/nosilec = 1:1 (A), 1,5:1 (B) pri 5000-, 2000- in 500-kratni povečavi (1-3) ter 2:1 (C) pri 10000-, 5000- in 2000-kratni povečavi (1-3), posnete z vrstičnim elektronskim mikroskopom. ....	59
<b>Slika 34:</b> Slike produktov na osnovi poroznega nosilca Syloida 244FP (izdelanih s sušenjem z razprševanjem) v razmerju (SMES+ZU)/nosilec = 1:1 (A), 1,5:1 (B) pri 20000- in 10000-kratni povečavi (1-2) ter 2:1 (C) pri 10000- in 5000-kratni povečavi (1-2), posnete z vrstičnim elektronskim mikroskopom. ....	60
<b>Slika 35:</b> Slike produkta na osnovi kombinacije neporoznih nosilcev Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1) (izdelanega s sušenjem z razprševanjem) v razmerju (SMES+ZU)/nosilec = 1:1 (A) pri 5000-, 2000- in 500-kratni povečavi (1-3), posnete z vrstičnim elektronskim mikroskopom. ....	60

## KAZALO PREGLEDNIC

---

<b>Preglednica I:</b> Lastnosti skupin na lipidih osnovanih sistemov po Poutonu, povzeto po (5, 9, 10, 11, 12, 13).	3
<b>Preglednica II:</b> Primerjava tekočih sistemov s trdnimi, povzeto po (2, 3, 4, 6, 7).	7
<b>Preglednica III:</b> Lastnosti nekaterih pogosteje uporabljenih silikatnih nosilcev (12).	8
<b>Preglednica IV:</b> Prednosti in slabosti različnih vrst šob (18).	13
<b>Preglednica V:</b> Seznam uporabljenih naprav in pripomočkov, z navedenim proizvajalcem.	17
<b>Preglednica VI:</b> Sestava oljne in emulgatorske faze.	24
<b>Preglednica VII:</b> Sestava in razmerje med komponentami tekočega SMES.	25
<b>Preglednica VIII:</b> Sestava disperzij za razprševanje.	26
<b>Preglednica IX:</b> Procesni parametri, ki jih nastavimo na sušilniku z razprševanjem.	27
<b>Preglednica X:</b> Sestava z adsorpcijsko metodo pripravljenih trdnih S(M)ES.	28
<b>Preglednica XI:</b> Kromatografski pogoji HPLC analize.	29
<b>Preglednica XII:</b> Nastavljeni pogoji v programu za izvajanje meritev z napravo Zeta Sizer Nano series.	30
<b>Preglednica XIII:</b> Pogoji, pri katerih smo izvajali sproščanje.	32
<b>Preglednica XIV:</b> Povprečni premer kapljic (d) in polidisperzni indeks (PDI) za končne točke razredčitvenih premic 1-3. Razmerje E/O predstavlja razmerje med emulgatorsko in oljno fazo tekočega S(M)ES.	37
<b>Preglednica XV:</b> Začetni in optimizirani pogoji sušenja z razprševanjem.	38
<b>Preglednica XVI:</b> Vrste nosilcev in razmerja med SMES (z ZU) in nosilcem, ki smo jih uporabili v poskusih.	40
<b>Preglednica XVII:</b> Primerjava nosilcev po razmerju med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo karvedilola ter izkoristku procesa; čas mešanja disepzije je 24 h, procesni parametri optimalni.	44
<b>Preglednica XVIII:</b> Vpliv časa mešanja disperzije za razprševanje na razmerje med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo karvedilola ter na izkoristek procesa solidifikacije SMES pri poroznih (Neusilin US2) in neporoznih nosilcih (Avicel PH-101/Aerosil 200 = 1/1).	45
<b>Preglednica XIX:</b> Vpliv predhodne zapolnitve por nosilca s praznim SMES na razmerje med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo karvedilola; čas mešanja disperzije je 24 h (nosilec in prazni SMES) + 24 h (po dodatku SMES z ZU), procesni parametri optimalni.	46
<b>Preglednica XX:</b> Vpliv vrste in deleža nosilca na razmerje med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo karvedilola ter na izkoristek procesa pri adsorpcijski metodi.	47
<b>Preglednica XXI:</b> Prikaz velikosti kapljic (povprečne in posameznih vrhov) po (re)dispergiranju tekočega SMES oz. S-S(M)ES v vodnem mediju (1 g/250 mL; 0,45 µm filter) in PDI, ki je merilo porazdelitve velikosti.	48



**Preglednica XXII:** Parametri sproščanja  $t_{10\%}$ ,  $t_{50\%}$  (čas, ko se sprosti 10 oz. 50 % ZU) in  $Q_{10\text{min}}$ ,  $Q_{60\text{min}}$  (delež v 10 oz. 60 min sproščene ZU) za S-S(M)ES pri pH 1,2 in 6,8; KARV pomeni kristalinični karvedilol..... 53

## KAZALO ENAČB

---

<i>Enačba 1:</i> .....	24
<i>Enačba 2:</i> .....	27
<i>Enačba 3:</i> .....	29
<i>Enačba 4:</i> .....	29
<i>Enačba 5:</i> .....	29
<i>Enačba 6:</i> .....	32
<i>Enačba 7:</i> .....	33
<i>Enačba 8:</i> .....	33
<i>Enačba 9:</i> .....	33
<i>Enačba 10:</i> .....	33
<i>Enačba 11:</i> .....	33
<i>Enačba 12:</i> .....	33

## KAZALO PRILOG

---

<b>Priloga I:</b> Vsi izvedeni poskusi sušenja z razprševanjem na napravi Büchi Mini Spray Dryer B-290.....	69
<b>Priloga II:</b> Časi redispergiranja S-S(M)ES, ki vsebujejo različne vrste nosilcev, v različnih razmerjih glede na SMES (z ali brez ZU).....	80
<b>Priloga III:</b> Lestvica pretočnih lastnosti po Evropski farmakopeji, Ph. Eur. 9th Ed. (25). 80	

## POVZETEK

---

S sodobnimi tehnikami odkrivanja zdravilnih učinkovin (ZU) prihaja do porasta farmakološko aktivnih hidrofobnih spojin s slabo vodotopnostjo. Slednja je omejujoč dejavnik za absorpcijo, dobro biološko uporabnost (BU) ZU in klinično učinkovitost po peroralni aplikaciji. Uspešen razvoj formulacije za peroralno dostavo ZU s slabo topnostjo predstavlja za raziskovalce zahtevno nalogo in hkrati velik izziv. Eden od možnih pristopov je uporaba t.i. samo-(mikro)emulgirajočih sistemov (S(M)ES), sestavljenih iz mešanice olja, emulgatorja in koemulgatorja/sotopila, v katere je ZU vgrajena v raztopljenem stanju. Po redčenju z vodnim medijem in rahlem mešanju se hitro in spontano tvori (mikro)emulzija olje v vodi (O/V). V zadnjem desetletju je zanimiva za raziskovanje pretvorba omenjenih sistemov v trdno obliko z različnimi metodami, saj s tem ohranimo želene lastnosti tekočih SMES in pridobimo pomembne prednosti trdnih sistemov.

Namen magistrskega dela je bil pretvoriti tekoči SMES (z vgrajeno slabo vodotopno modelno ZU karvedilol) v trdno obliko z metodo sušenja z razprševanjem in ovrednotiti nastale produkte. Najprej smo s titracijsko metodo izdelave (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama določili najustreznejše razmerje med emulgatorsko in oljno fazo predhodno razvitega SMES, ki je znašalo 80/20. Nadalje smo z metodo sušenja z razprševanjem uspešno pretvorili SMES z vgrajenim karvedilolom v trdno obliko. Za pretvorbo smo uporabili različne porozne (Neusilin US2, Syloid 244FP, Syloid XDP 3050) in neporozne (kombinacija Avicel PH-101 in Aerosil 200) trdne nosilce ter variirali razmerje med SMES in nosilcem – 1:1, 1,5:1 in 2:1. Optimizirali smo procesne parametre metode, da je bilo sušenje najučinkovitejše in izkoristek procesa največji. Ugotovili smo, da je pri uporabi poroznih nosilcev pomemben dejavnik procesa pretvorbe v trdno obliko tudi čas mešanja disperzije (z nosilci in SMES z ZU) pred razprševanjem. V kolikor disperzijo mešamo dlje časa, ima SMES več časa za porazdelitev v pore trdnega nosilca, kar izboljša izkoristek procesa, vendar ima za posledico lahko nepopolno desorpcijo formulacije iz por in manjšo določeno vsebnost ZU. S primerjavo sušenja z razprševanjem in alternativne adsorpcijske metode nam je uspelo zadrževanje v porah potrditi. V nadaljevanju smo z merjenjem časa redispergiriranja trdnih SMES in velikosti kapljic nastale (mikro)emulzije s fotonsko korelacijsko spektroskopijo potrdili, da se je po pretvorbi v trdno obliko ohranila sposobnost samo-(mikro)emulgiriranja. S preskusi sproščanja v medijih s pH 1,2 in 6,8 smo dokazali, da se je karvedilol iz izdelanih trdnih SMES sprostil hitreje in v večjem obsegu kot

se je raztapljala kristalinična ZU. Z metodo diferenčne dinamične kalorimetrije smo potrdili, da po pretvorbi v trdno obliko ni prišlo do rekristalizacije karvedilola, saj smo v vseh produktih določili odsotnost njegove kristalinične oblike. Izdelanim samo-(mikro)emulgirajočim prahovom smo določili dokaj slabe pretočne lastnosti, zato bi bilo slednje pred nadaljnjim formuliranjem (polnjenjem v kapsule ali stiskanjem v tablete) nujno izboljšati z dodatkom drsil ali izdelavo granulata.

Zaključimo lahko, da smo s tehnologijo sušenja z razprševanjem uspešno pretvorili tekoči SMES z vgrajenim karvedilolom v trdno obliko in tako dosegli zastavljene cilje. Predvidevamo, da bi zaradi hitrega sproščanja ZU iz trdnih SMES *in vivo* prišlo do bistvenega povečanja BU, saj bi z nasičenjem metabolnih encimov lahko deloma zaobšli tudi obsežen predsistemiški metabolizem karvedilola; k inhibiciji metabolnih encimov družine CYP450 in črevesnega ekskretornega prenašalca P-glikoproteina pa bi prispevale tudi sestavine SMES.

***Ključne besede:*** samo-(mikro)emulgirajoči sistem (S(M)ES) • trden samo-(mikro)emulgirajoči sistem (S-S(M)ES) • samo-(mikro)emulgirajoči prahovi • sušenje z razprševanjem • karvedilol

## ABSTRACT

---

As a consequence of modern drug discovery techniques, there has been an increase in the number of new pharmacologically active hydrophobic compounds that are poorly water soluble. Making clinically effective oral dosage forms for such compounds is very challenging and demanding task for formulators due to slow rates of absorption, resulting in low oral bioavailability (BA). One of the possible approaches for improving their BA is the use of self-(micro)emulsifying drug delivery systems (S(M)EDDS). The technique involves solubilizing the active pharmaceutical ingredient (API) in a mixture of oils, surfactants and co-surfactants/co-solvents. Oil-in-water (O/W) microemulsion is formed rapidly and spontaneously upon mild agitation followed by dilution in aqueous media. In the last decade, there has been an interest in transformation of these systems into solid dosage form by various methods, in order to preserve desired properties of SMEDDS and gain important advantages of solid systems.

The purpose of the master's thesis was transformation of liquid SMEDDS (with API carvedilol as a poorly water soluble model drug) into solid dosage form by spray drying technology and evaluation of the products. The initial goal was to determine the ratio of surfactant to oil phase of pre-developed SMEDDS, which was 80/20, using (pseudo)ternary phase diagram examination. Secondly, liquid carvedilol-loaded SMEDDS was successfully transformed into solid dosage form by spray drying technology. Various porous (Neusilin US2, Syloid 244FP, Syloid XDP 3050) and non-porous (combination of Avicel PH-101 and Aerosil 200) solid carriers with different SMEDDS to carrier ratios (1:1, 1,5:1 and 2:1) were examined. Optimization of the process parameters has been done in order to make the drying process more efficient to achieve maximum process recovery. The mixing duration of the dispersion (with porous carriers and SMEDDS with API) before spraying has been found to have an important role in the process of solidification. If the dispersion is mixed for a longer period of time, SMEDDS has more time to penetrate into the pores of the solid carrier, which improves the process recovery, but may also result in an incomplete desorption and lower amount of determined API content. By comparing spray drying technology and alternative adsorption method the retention of SMEDDS with API inside the pores has been confirmed. Re-dispersion rate of solid SMEDDS was measured and droplet size distribution was evaluated with photon correlation spectroscopy, which proved that the self-(micro)emulsifying ability has been preserved. *In vitro* dissolution tests in pH 1,2 and 6,8

media have confirmed that dissolution rate and extent of release of carvedilol from solid SMEDDS has been significantly increased compared with its crystalline form. Differential scanning calorimetry has confirmed there was no recrystallization of API after solidification, as the absence of carvedilol crystalline form has been determined. All of the products have been found to have relatively poor flow properties, so it would be necessary to improve them before further development (capsule filling or tablet compression) by granulation process or adding a glidant.

In conclusion, liquid carvedilol-loaded SMEDDS has been successfully transformed into solid dosage form by spray drying technology and the desired goals have been achieved. It is assumed that rapid release of carvedilol from solid SMEDDS would most certainly *in vivo* cause a significant increase in BA, as the saturation of the metabolic enzymes could result in bypassing the extensive pre-systemic metabolism of carvedilol. SMEDDS components would also contribute to the inhibition of CYP450 enzyme isoforms and P-glycoprotein intestinal efflux transporter.

**Keywords:** *self-(micro)emulsifying drug delivery system (S(M)EDDS) • solid self-(micro)emulsifying drug delivery system (S-S(M)EDDS) • self-microemulsifying powder • spray drying • carvedilol*

## SEZNAM UPORABLJENIH OKRAJŠAV

---

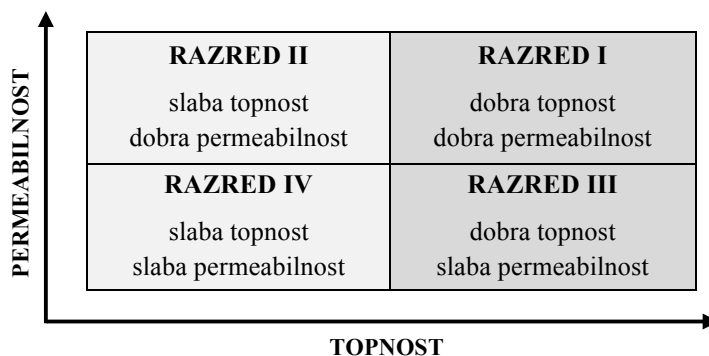
<i>Oznaka</i>	<i>Pomen</i>
BCS	biofarmacevtski klasifikacijski sistem
CMC	karboksimetil celuloza
DSC	diferenčna dinamična kalorimetrija
E	emulgatorska (faza)
FO	farmacevtska oblika
GIT	gastrointestinalni trakt
GRAS	splošno prepoznano kot varno ( <i>angl. Generally Recognised As Safe</i> )
HLB	hidrofilno-lipofilno ravnotežje
HPLC	tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
HPMC	hidroksipropilmetil celuloza
KARV	karvedilol
MCC	mikrokristalna celuloza
MK	maščobna kislina
O	oljna (faza)
PAS	površinsko aktivna snov
PEG	polietilenglikol
PS	pomožna snov
PTFD	(psevdo)trikomponentni fazni diagram
PVP	polivinilpirolidon
rpm	obrati na minuto ( <i>angl. Revolutions Per Minute</i> )
S-S(M)ES	trden samo-(mikro)emulgirajoči sistem
S(M)ES	samo-(mikro)emulgirajoči sistem
SEM	vrstična elektronska mikroskopija
T <sub>in</sub>	vhodna temperatura
T <sub>out</sub>	izhodna temperatura
ZU	zdravilna učinkovina

## 1. UVOD

S sodobnimi tehnikami odkrivanja zdravilnih učinkovin (ZU) prihaja do porasta farmakološko aktivnih hidrofobnih spojin, ki so slabo vodotopne. Pri peroralni aplikaciji, ki je zaradi enostavne aplikacije in dobre compliance pacientov najbolj priljubljena za zdravljenje kroničnih obolenj, je topnost ZU v gastrointestinalnih tekočinah eden najpomembnejših parametrov za doseg ustrežne koncentracije le-te v sistemskega krvnega obtoku in posledično želen terapevtski odziv. Slaba topnost je omejujoč dejavnik za absorpcijo in dobro biološko uporabnost (BU) ZU (1, 2). Ko je topnost ZU  $< 1 \mu\text{g/mL}$ , je BU tako majhna, da je terapija s klasičnimi peroralnimi farmacevtskimi oblikami (FO) večinoma neučinkovita. Uspešen razvoj formulacije za dostavo ZU s slabo topnostjo že od nekdaj predstavlja raziskovalcem zahtevno nalogo in hkrati velik izziv. Ukvarjajo se z ZU razreda II in IV po biofarmacevtskem klasifikacijskem sistemu (BCS), pri katerih je slaba topnost hitrost omejujoči dejavnik v procesu absorpcije (v razredu IV tudi slaba permeabilnost ZU). Lastnosti vseh štirih razredov ZU po BCS prikazuje Slika 1. Veliko raziskav je namenjeno iskanju novih formulacijskih pristopov za povečanje topnosti (in s tem zmanjšanje odmerka) ZU za doseg želenega terapevtskega učinka, kar vodi tudi v manj neželenih učinkov. Pristopi vključujejo pripravo soli, zmanjšanje velikosti delcev kristalinične ZU z mikronizacijo, amorfizacijo ZU s sušenjem z razprševanjem ali iztiskanjem talin oz. z drugimi ustreznimi pristopi, vgradnjo ZU v trdne disperzije, mikroemulzije, liposome, trdne lipidne nanodelce, kompleksacijo s ciklodekstrini, dodatek pospeševalcev absorpcije, micelarno solubilizacijo in druge. Vse tehnike so v določeni meri povezane z nestabilnostjo formulacij, majhno učinkovitostjo vgradnje ZU in težavami, povezanimi s prenosom tehnologij v industrijsko merilo (2, 3, 4, 5).

V zadnjem času se veliko proučuje tudi možnost vgradnje ZU v lipidne formulacije (t.i. na lipidih osnovane sisteme), natančneje v samo-(mikro)emulgirajoče sisteme (S(M)ES), ki so se že v mnogih primerih izkazali za uspešne pri povečanju topnosti, hitrosti raztapljanja, permeabilnosti in BU slabo vodotopnih lipofilnih ZU. Priprava vključuje vgradnjo ZU v raztopino olj in površinsko aktivnih snovi (PAS). Ker so formulacije tekoče, izkazujejo precej slabosti: zahtevnejši in dražji transport, nizka stabilnost in možno obarjanje ZU in pomožnih snovi (PS) ter omejen izbor FO, v katere jih lahko vgradimo. V izogib težavam se kot alternativni pristop raziskujejo trdni S(M)ES, ki jih dobimo s pretvorbo tekočih S(M)ES v trdno obliko z različnimi postopki. Ti imajo združene prednosti S(M)ES – povečana

topnost in BU, kot tudi trdnih FO – nizki stroški proizvodnje, lažje nadzorovanje procesa, dobra stabilnost, možnost izdelave različnih FO in boljša compliance pacientov (1, 6, 7).



**Slika 1:** Lastnosti ZU glede na posamezne razrede biofarmacevtskega klasifikacijskega sistema (BCS), prirejeno po (5).

## 1.1 NA LIPIDIH OSNOVANI SISTEMI

Zanimanje na področju lipidnih sistemov se je v zadnjem desetletju močno povečalo zaradi boljšega razumevanja številnih vlog, ki jih imajo lipidi pri izboljšanju BU. Le-te so natančneje predstavljene v poglavju 1.2.1.2 – Vloga sestavin S(M)ES (8).

Pouton je razdelil na lipidih osnovane sisteme v štiri kategorije, ki temeljijo na polarnosti uporabljenih PS in sposobnosti sistemov, da preprečijo obarjanje ZU v gastrointestinalnem traktu (GIT) (Preglednica I). **Formulacije tipa I** so enostavne raztopine ZU v trigliceridih in/ali mešanih gliceridih. **Formulacije tipa II** so samo-emulgirajoči sistemi (SES) in imajo dodan lipofilni emulgator ( $HLB < 12$ ). Uporabljajo se v primerih, ko je potrebna večja solubilizacijska kapaciteta kot pri tipu I. **Formulacije tipa III** so samo-(mikro)emulgirajoči sistemi (S(M)ES) in vsebujejo hidrofilne emulgatorje ( $HLB > 12$ ) ter sotpila, ki še dodatno izboljšajo proces samo-(mikro)emulgiranja v GIT. Dodatno jih razdelimo na dve podskupini IIIA in IIIB, kjer je za tip IIIB značilen večji delež hidrofilnih komponent. Medtem ko tip IIIB odlikuje učinkovitejše samo-mikroemulgiranje in manjša velikost kapljic kot pri tipu IIIA, pa ima po drugi strani tudi večjo nevarnost za obarjanje ZU, saj se hidrofilne komponente lahko ločijo od oljne faze med dispergiranjem v GIT in posledično sledi izguba solubilizacijske kapacitete za ZU. **Formulacije tipa IV** lipidnih komponent sploh ne vsebujejo, sestavljene so le iz vodotopnih PAS in sotpil. Ob dispergiranju teh formulacij se tvori micelarna raztopina. Imajo dobro solubilizacijsko kapaciteto za številne ZU, vendar se ob dispergiranju le-ta lahko izgubi (5, 9, 10, 11, 12).

Količina vgrajenih lipidov v formulaciji vpliva na način absorpcije ZU, in sicer pri manjši vsebnosti le-teh pride le do solubilizacije v GIT, brez aktivacije prebave, pri večji pa lipidi



s tvorbo lipofilnega mikrookolja oponašajo hrano in tako spodbudijo tudi prebavo. Najmanjša količina lipidov, ki je potrebna za aktivacijo prebave, še ni popolnoma raziskana (9, 12).

**Preglednica I:** Lastnosti skupin na lipidih osnovanih sistemov po Poutonu, povzeto po (5, 9, 10, 11, 12, 13).

	<i>Večanje vsebnosti hidrofilnih snovi</i> →				
	<b>TIP I</b> Enostavne oljne raztopine	<b>TIP II</b> Sposobnost samo- emulgiranja	<b>TIP IIIA</b> Sposobnost samo- emulgiranja	<b>TIP IIIB</b> Sposobnost samo-mikro emulgiranja	<b>TIP IV</b> Spontan nastanek micelarne disperzije
<b>VSEBNOST (%)</b>					
Trigliceridi ali mešani gliceridi	100	40-80	40-80	< 20	/
Površinsko aktivne snovi	/	20-60 (HLB < 12)	20-40 (HLB > 12)	20-50 (HLB > 12)	0-20 (HLB < 12) 30-80 (HLB > 12)
Hidrofilna sotpila	/	/	0-40	20-50	0-50
<b>VPLIV NA <i>IN VIVO</i> OBNAŠANJE</b>					
Velikost kapljic po redispergiranju (nm)	250-2000	100-250	100-250	< 100 oz. 50	/
Redčenje formulacije z vodnim medijem	Skoraj ni vpliva na strukturo	Ni vpliva na strukturo	Majhen vpliv na strukturo	Lahko pride do ločitve faz in obarjanja ZU	Tveganje za obarjanje ZU
Prebava formulacije	Prebava potrebna za učinek	Prebava ponavadi prisotna, a ni potrebna za učinek	Prebava ni potrebna za učinek in je lahko zavrta	Prebava ni potrebna za učinek in ponavadi ni prisotna	Formulacija lahko neprebavljiva

## 1.2 SAMO-(MIKRO)EMULGIRAJOČI SISTEM – S(M)ES

**Mikroemulzija O/V** je ena od elegantnih rešitev izboljšanja BU lipofilnih ZU, saj ZU ostane raztopljen v notranji oljni fazi mikroemulzije. Pogoji za njen nastanek je nizka medfazna napetost med oljno in vodno fazo ter fluiden medfazni film. Ta dva kriterija sta združena v primerni izbiri in razmerju komponent sistema. Tako brez visokega vložka energije (v nasprotju s klasičnimi emulzijami) spontano nastane termodinamsko stabilen sistem. Ker je velikost kapljic veliko manjša od valovne dolžine vidne svetlobe, so mikroemulzije transparentne. Edina slabost je nizka stabilnost zaradi vsebnosti vode, ki jo lahko rešimo z izdelavo t.i. **samo-(mikro)emulgirajočega sistema (S(M)ES)** (1, 3).

**S(M)ES** je enostavno pripravljena in fizikalno stabilna izotropna mešanica olja, emulgatorja, in koemulgatorja/sotopila, v kateri je vgrajena ZU v raztopljenem stanju. Po razredčenju z gastrointestinalnimi tekočinami in izpostavitvi gibanju GIT se hitro in spontano tvori termodinamsko stabilna O/V (mikro)emulzija z velikostjo kapljic 10-250 nm. SES tvorijo

motne emulzije z velikostjo kapljic 100-250 nm, medtem ko SMES tvorijo transparentne mikroemulzije z velikostjo kapljic < 100 oz. 50 nm. Razlog dobrih samo-(mikro)emulgirajočih lastnosti teh sistemov je v negativni ali nizko pozitivni prosti energiji, potrebni za nastanek emulzije. Gre za stabilne sisteme, ki povečajo topnost in hitrost raztapljanja ZU (1, 3, 9). Ko pride do samo-(mikro)emulgiranja, ZU ostane raztopljena v oljnih kapljicah nastale (mikro)emulzije. S tem se izognemo fazi raztapljanja v GIT, ki je pri slabo topnih ZU hitrost-omejujoči dejavnik za absorpcijo. Z nastankom majhnih kapljic se poveča medfazna površina za absorpcijo, kar ima poleg izboljšanja BU za posledico tudi zmanjšano variabilnost v absorpciji številnih ZU (tudi zaradi vpliva hrane) in zmanjšanje morebitnega draženja GIT (7). Poleg tega je ZU v S(M)ES zaščitena pred kemijsko in encimsko razgradnjo, močno lipofilne ZU pa se skupaj z lipidnimi komponentami S(M)ES lahko absorbirajo v limfni sistem in se s tem izognejo metabolizmu prvega prehoda v jetrih. Fizikalno-kemijske lastnosti ZU in lipidnih PS (dolžina trigliceridne verige, stopnja nasičenosti in volumen lipidov) vplivajo na prednostno absorpcijo preko portalne vene ali preko prsne mezgovnice v limfni krvni obtok (1, 9).

Kljub številnim prednostim pa je na tržišču razmeroma malo zdravil na osnovi S(M)ES. Med najuspešnejša sodijo Sandimmun Neoral<sup>®</sup> (ciklosporin), Fortovase<sup>®</sup> (sakvinavir), Aptivus<sup>®</sup> (tipranavir) in Norvir<sup>®</sup> (ritonavir). Vse formulacije so v tekoči obliki, polnjene v mehke želatinaste kapsule. Glavni razlog za tako majhno število registriranih zdravil je v potencialni toksičnosti visokega deleža vgrajenih PAS, v nekaterih primerih tudi nizki stabilnosti zaradi interakcij PS z ovojnico kapsule in možnim obarjanjem ZU, kompleksnih proizvodnih metodah polnjenja v mehke želatinaste kapsule in nezadostno razvitih *in vitro-in vivo* korelacijah. Kljub omejitvam se v zadnjih letih širi zanimanje za to tematiko z raziskovanjem različnih tehnik pretvorbe tekočih S(M)ES v trdno obliko (3, 7).

### 1.2.1 Sestava S(M)ES

Samo-emulgiranje temelji na naravi oljne in emulgatorske faze, razmerju med njima in koncentraciji emulgatorja, pomemben pa je tudi vpliv temperature. Le specifične kombinacije PS vodijo v učinkovite S(M)ES. Izbiramo med PS s t.i. GRAS statusom (*angl. Generally Recognised As Safe*), in sicer na podlagi sposobnosti solubilizacije celotnega odmerka ZU v volumnu, ki je sprejemljiv za peroralno uporabo, fizikalno-kemijske kompatibilnosti in stabilnosti. Najpogostejša izbira so rastlinska olja in njihovi derivati, ki so podrobneje predstavljeni v nadaljevanju (1, 9).

### 1.2.1.1 *Kemizem osnovnih sestavin S(M)ES*

**Rastlinska olja** vsebujejo mešanico trigliceridov (90-95 %), proste maščobne kisline (MK), fosfolipide in različne pigmente, sterole ali v maščobah topne vitamine, ki delujejo kot naravni antioksidanti. *Rafinirana rastlinska olja* se od prej opisanih razlikujejo po tem, da vsebujejo le trigliceride. Najpogosteje uporabljena so: ricinusovo, kokosovo, koruzno, olivno, palmino, sezamovo olje, olje iz bombažnih semen in olje grozdnih pečk. Skupna komponenta vseh **derivatov rastlinskih olj** so MK. *Hidrogenirana rastlinska olja* pridobivamo s katalitskim hidrogeniranjem nenasičenih vezi. Pogosto je to prva stopnja derivatizacije pred nadaljnjimi reakcijami z namenom povečanja kemijske stabilnosti. *Mešani gliceridi* (Capmul<sup>®</sup> MCM in Peceol<sup>®</sup>) so produkt delne hidrolize trigliceridov, ki so v primerjavi s slednjimi bolj hidrofilni (1, 8, 12). Rastlinska olja in zgoraj opisane derivate uporabljamo kot **sestavine oljne faze S(M)ES**.

Naslednje skupine derivatov rastlinskih olj pa uporabljamo kot učinkovite **PAS**. *Poliglikolizirane gliceride* (Labrasol<sup>®</sup>, Gelucire<sup>®</sup> 44/14) pridobivamo z delnim preestrenjem rastlinskih olj s polietilenglikoli (PEG) različnih molekulskih mas (200-2000 g/mol) ali zaestrenjem MK s PEG in glicerolom. Sestavljeni so iz definirane mešanice mono-, di-, trigliceridov in mono-, diestrov PEG. Taka sestava jim omogoča vodotopnost. *Etoksilirani derivati ricinusovega olja* (Cremophor<sup>®</sup> EL, Cremophor<sup>®</sup> RH40) se med seboj razlikujejo v stopnji etoksilacije (30-50 mol etilenoksida/1 mol olja). Gre za kompleksne mešanice hidrofobnih (estrov MK z glicerolom polietilenglikolom in estrov MK s PEG) in hidrofilnih komponent (PEG in glicerol etoksilatov). Največjo skupino pa predstavljajo *sorbitanski estri z MK* (Span<sup>®</sup>, Tween<sup>®</sup>) (1, 8, 12).

### 1.2.1.2 *Vloga sestavin S(M)ES*

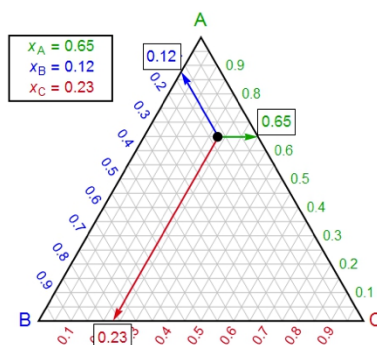
Samo-(mikro)emulgirajoče lastnosti S(M)ES zahtevajo vgradnjo velikih količin PAS (30-60 %). Zaradi zmanjšanja draženja GIT je zaželena uporaba čim nižje še učinkovite koncentracije. Visoke HLB vrednosti omogočajo hitro in popolno dispergiranje v GIT in nastanek O/V (mikro)emulzije ter zmanjšajo nevarnost obarjanja ZU po razredčenju. Neionski emulgatorji prednjačijo pred ionskimi zaradi boljših varnostnih profilov in tvorbe stabilnejših (mikro)emulzij v širokem območju pH in ionske moči (1, 9).

Poleg samo-(mikro)emulgiranja in učinkovite solubilizacije ZU je pomemben vpliv PS na absorpcijo in metabolizem. Veliko je dokazov za povečanje fluidnosti membran črevesnih

celic in transcelularne absorpcije (Labrasol<sup>®</sup>, Cremophor<sup>®</sup> EL, Tween<sup>®</sup> 80), za odpiranje tesnih stikov in povečanje paracelularnega transporta (Labrasol<sup>®</sup>), za povečanje znotrajcelične koncentracije ZU zaradi inhibicije od membranskega prenašalca P-glikoproteina (P-gp) odvisnega efluksa in/ali predsistemskega metabolizma s citokromi CYP450 (Cremophor<sup>®</sup> EL, Cremophor<sup>®</sup> RH40, Labrasol<sup>®</sup>, Gelucire<sup>®</sup> 44/14). Nekatere sestavine S(M)ES vplivajo tudi na stimulacijo produkcije lipoproteinov/hilomikronov in možnost limfatične absorpcije, kar nam ponuja priložnost za povečanje BU visoko lipofilnih ZU ( $\log P > 5$ ) v formulacijah z dolgoveržnimi trigliceridi ( $> 12$  C-atomov) (10, 14).

### 1.2.2 (Psevdo)trikomponentni fazni diagram

Osnovna zahteva za nastanek mikroemulzije je prisotnost treh komponent oz. faz – oljne, vodne in emulgatorske faze. Sestavo in razmerje med oljno in emulgatorsko fazo, ki gradita S(M)ES, pri katerem ob dodajanju vodne faze nastane mikroemulzija, določimo z izdelavo (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama. Le-ta je v obliki enakostraničnega trikotnika, katerega oglišča predstavljajo posamezne faze oz. (psevdo)komponente v 100 % volumskem razmerju. Eno (psevdo)komponento običajno gradi več komponent v fiksnem razmerju. Vsaka točka v trikotniku predstavlja možno sestavo mešanice treh (psevdo)komponent. Oblika diagrama in primer odčitavanja razmerja v izbrani točki sta prikazana na Sliki 2. Ob dodajanju ene (psevdo)komponente, ponavadi vode, ob fiksnem razmerju drugih dveh, vizualno opazujemo nastalo disperzijo in v končni točki dodajanja s pomočjo fotonske korelacijske spektroskopije izmerimo velikost lipidnih kapljic. Območje kombinacij, pri katerih nastane mikroemulzija, je običajno majhno. V drugih predelih diagrama nastanejo lahko številne strukture, ki se tvorijo med vodo, oljno in emulgatorsko fazo (emulzije V/O, cilindri, lamelarne strukture). Transparentna do rahlo opalescentna disperzija z velikostjo kapljic  $< 100$  nm je klasificirana kot mikroemulzija. Motna, mlečno bela disperzija pa nastane, ko se velikost kapljic poveča nad 100 nm in je klasificirana kot emulzija (1, 9).



**Slika 2:** (Psevdo)trikomponentni fazni diagram, s prikazom odčitavanja razmerja v izbrani točki (15).

### 1.3 TRDEN SAMO-(MIKRO)EMULGIRAJOČI SISTEM – S-S(M)ES

S(M)ES so v osnovi omejeni na tekočo obliko, saj večina PS za izdelavo ni trdnih pri sobni temperaturi. Pretvorba tekočih sistemov v trdno obliko je zato zanimiva za raziskovanje že dobro desetletje, saj s tem ohranimo želene lastnosti tekočih S(M)ES in pridobimo pomembne prednosti trdnih sistemov, ki so predstavljene v Preglednici II. Trdni (*angl. solid*) samo-(mikro)emulgirajoči sistemi (S-S(M)ES) predstavljajo trdne FO s samo-(mikro)emulgirajočimi lastnostmi, ki nastanejo z vgradnjo tekočih/poltrdnih komponent v/na trdne nosilce. Nastali prahovi/granulati/pelete so lahko končna FO ali pa jih polnimo v vrde kapsule oz. stisnemo v tablete. Sposobni so redispergiranja in spontanega emulgiranja – tvorbe O/V (mikro)emulzij ob stiku z vodnim medijem ob rahlem mešanju. Medtem ko so lipidne PS v formulaciji izbrane na podlagi najboljše solubilizacijske kapacitete, so nosilci izbrani na podlagi največje učinkovitosti vgradnje lipidov (in ZU), hitrega redispergiranja ter ustreznih pretočnih in mehanskih lastnosti. Pri pretvorbi v trdno obliko je najpomembnejše, da se ohranijo biofarmacevtske prednosti tekoče oblike (1, 12).

**Preglednica II:** Primerjava tekočih sistemov s trdnimi, povzeto po (2, 3, 4, 6, 7).

TEKOČI SISTEMI		TRDNI SISTEMI	
PREDNOSTI	SLABOSTI	PREDNOSTI	SLABOSTI
+ visoka vsebnost ZU	- kemijska in fizikalna nestabilnost - počasna in draga proizvodnja (stroge procesne zahteve in specializirana oprema za polnjenje in zataljevanje mehkih kapsul) - pogosta nekompatibilnost z materiali ovojnice kapsule, obarjanje ZU	+ boljša kemijska in fizikalna stabilnost + lažji transport in shranjevanje + enostavnejši in bolj ekonomičen proizvodni proces + enostaven prenos na industrijski nivo + možnost različnih FO + boljša complianca + natančnejše odmerjanje	- nižja vsebnost ZU

#### 1.3.1 Nosilci za pretvorbo S(M)ES v trdno obliko

Nosilci, ki se uporabljajo pri pretvorbi S(M)ES v trdno obliko, so lahko v vodi netopni (silikatni adsorbenti) ali v vodi topni (polisaharidni, polimerni in proteinski nosilci) (12).

##### 1.3.1.1 Silikatni nosilci

Najbolj raziskani in najpogosteje uporabljeni so biokompatibilni in kemijsko inertni silikatni nosilci. Delujejo kot adsorbenti, ki fizikalno vežejo tekoči S(M)ES. Postopek pretvorbe poteka z enostavnim mešanjem v terilnici, granuliranjem, sušenjem z razprševanjem ali adsorpcijo na predhodno stisnjene tablete. Nosilci se med seboj razlikujejo po velikosti

delcev, poroznosti, specifični površini in kapaciteti adsorpcije lipidov (pogosteje uporabljeni prikazani v Preglednici III). Prahovi, pridobljeni iz visoko poroznih anorganskih nosilcev z večjo velikostjo delcev (npr. Neusilin<sup>®</sup> US2) izkazujejo boljše pretočne lastnosti in stisljivost kot prahovi iz nosilcev z manjšimi delci (npr. Neusilin<sup>®</sup> UFL2) ali neporoznih (npr. Aerosil<sup>®</sup> 200), polimernih in organskih nosilcev. Porozna struktura večjih delcev omogoča prodiranje sestavin S(M)ES globlje v pore in zato pri procesu tabletiranja lažje pride do vzpostavitve povezav med delci. Nasprotno pa je tabletiranje oteženo pri manjših poroznih delcih s krajšimi porami (iztis lipidov iz por na površino) in neporoznih delcih (lipidi adsorbirani na površino). Kljub tehnološkim prednostim pa prodiranje sestavin S(M)ES globoko v pore nosilcev kasneje lahko vodi do nepopolne desorpcije pri procesu sproščanja (3, 12, 16).

**Preglednica III:** Lastnosti nekaterih pogosteje uporabljenih silikatnih nosilcev (12).

IME NOSILCA	Povprečna velikost delcev (μm)	Povprečni premer por (nm)	Specifična površina (m <sup>2</sup> /g)	Kapaciteta adsorpcije lipidov (g/100 g; *mL/100 g)
Aerosil <sup>®</sup> 200, koloidni silicijev dioksid	0,012	neporozen	200 ± 25	255*
Syloid <sup>®</sup> 244FP, mikroniziran porozen silikagel	2,5-5,5	16-20	320 ± 10	380 ± 50
Silysia <sup>®</sup> 350, mikroniziran porozen silikagel	4	21	300	320
Neusilin <sup>®</sup> US2, magnezijev aluminijev silikat (v obliki granul)	44-177	5-6	300	305 ± 35
Neusilin <sup>®</sup> UFL2, magnezijev aluminijev silikat (v obliki prahov)	3-5	-	300	305 ± 35

### 1.3.1.2 Polisaharidni nosilci

Polisaharidni nosilci imajo dolgo zgodovino aplikacije v prehrambeni in farmacevtski industriji kot sladila, veziva, PS za tvorbo obloge, povečanje mase in viskoznosti ter direktno tabletiranje. Med tiste z nizko molekulsko maso uvrščamo manitol, sorbitol, saharozo, laktozo in trehalozo. Med tiste z visoko pa maltodekstrine, ciklodekstrine, dekstrine, arabski gumi in škrob. Večina jih je nagnjena k pretvorbi v amorfnost stanje pri sušenju z razprševanjem, liofilizaciji ali rotavapiranju. Vendar imajo nekateri higroskopi nosilci (laktoza, saharoza) težnjo k rekristalizaciji. V primeru formulacij, ki so občutljive na prisotnost vlage, je zato nosilec izbora manitol, nehigroskopni izomer sorbitola (12).

### 1.3.1.3 Polimerni nosilci

Amfifilne lastnosti polimerom omogočajo tako vodotopnost kot tudi velik solubilizacijski potencial za lipofilne snovi, zato imajo v lipidnih formulacijah vlogo nosilcev in

(ko)emulgatorjev. Mednje uvrščamo poloksamere, hidroksipropilmetil celulozo (HPMC), mikrokristalno celulozo (MCC), karboksimetil celulozo (CMC) in polivinilpirolidon (PVP). Prednost nekaterih (npr. HPMC) je preprečevanje obarjanja in stabiliziranje »prenasičenih raztopin ZU«, slabost pa, da v visokih koncentracijah tvorijo zelo viskozne vodne raztopine, ki zahtevajo optimizacijo nadaljnjih procesov pretvorbe, kjer gre za razprševanje skozi šobo. Večina polimernih nosilcev je higroskopnih; izjema so poloksameri, ki so zato primerni za povečanje stabilnosti formulacij, sestavljenih iz snovi občutljivih na vlago (12).

#### **1.3.1.4 Proteinski nosilci**

Zaradi amfifilnosti in vodotopnosti imajo proteinski nosilci v trdnih lipidnih formulacijah vlogo nosilcev in (ko)emulgatorjev. Mednje uvrščamo želatino in glicin, ki nista pogosto opisana kot trdna nosilca, razlog je verjetno v slabih stisljivostnih lastnostih. Želatina se sicer široko uporablja v proizvodnji ovojnic mehkih in trdih kapsul, v katere pogosto polnimo tekoče in poltrdne lipidne formulacije. Uporablja se tudi za izdelavo mikrokapsul z vgrajenim ribjim oljem ali lipofilnimi vitamini z metodo koacervacije. Novejše raziskave kažejo tudi na možnost izdelave samo-(mikro)emulgirajočih mikrokapsul (12).

### **1.3.2 Metode pretvorbe S(M)ES v trdno obliko**

Zaradi številnih prednosti S-S(M)ES v primerjavi s tekočimi S(M)ES se raziskujejo različne metode pretvorbe slednjih v trdno obliko, predstavljene v nadaljevanju. Metoda sušenja z razprševanjem je opisana podrobneje, ker smo jo uporabili pri našem raziskovalnem delu.

#### **1.3.2.1 Polnjenje kapsul s tekočim ali poltrdnim S(M)ES**

Polnjenje kapsul s tekočim ali poltrdnim S(M)ES je najenostavnejši in najpogosteje uporabljen postopek pretvorbe v trdno obliko, katerega nekateri niti ne štejejo pod to kategorijo, saj ne nastanejo trdni delci s samo-emulgirajočimi lastnostmi. Postopek polnjenja poltrdnih formulacij je sestavljen iz segrevanja (vsaj 20 °C nad temperaturo tališča komponent), vgradnje ZU z mešanjem, polnjenja trde ali mehke želatinaste kapsule s staljeno mešanico in ohlajanja na sobno temperaturo. Pri tekočih formulacijah proces obsega le polnjenje v mehke kapsule (brez predhodnega segrevanja), kateremu sledi zataljevanje obeh delov ovojnice. Temperatura polnjenja je eden od ključnih nadzorovanih parametrov izdelave in je lahko največ 70 °C pri trdih in 40 °C pri mehkih kapsulah. Prednosti metode so enostavnost proizvodnje, primernost za nizke odmerke ZU visoke jakosti, možnost za

dosego visokih vsebnosti ZU (do 50 %) in vgradnje visokega deleža lipidne formulacije (do 99 %). Slabost metode je nujna kompatibilnost PS z ovojnico kapsule in zato neprimernost uporabe hidrofilnih sopolimerov, ki lahko vanjo pronicajo. Poleg polnjenja kapsul s tekočo ali poltrdno formulacijo, jih lahko polnimo tudi s trdnimi produkti (prahovi, peletami, granulami), predhodno izdelanimi z različnimi postopki, opisanimi v nadaljevanju (1, 8).

### ***1.3.2.2 Adsorpcija na trdne porozne nosilce***

Trdno formulacijo lahko pripravimo z adsorpcijo S(M)ES na porozne praškaste materiale z visoko specifično površino in kapaciteto adsorpcije lipidov. Proces vključuje dodajanje tekoče formulacije k nosilcu z mešanjem (v terilnici s pestilom ali v mešalniku). Enostavnost in ekonomičnost procesa, enakomernost vsebnosti in adsorpcija lipidne formulacije v veliki količini (do 70 %) so glavne prednosti metode. Za nosilec, na katerega adsorbiramo S(M)ES, je zaželeno, da ima dobre pretočne lastnosti tudi po adsorpciji lipidov. Uporabimo lahko anorganske adsorbente (silicijev dioksid, kalcijev silikat, magnezijev aluminijev metasilikat, smukec) ali različne premrežene polimere (krospovidon, premrežena natrijeva CMC in polimetilmetakrilat). Zadnji naredijo primerno okolje za zadržano sproščanje in sodelujejo tudi pri upočasnitvi obarjanja ZU (1, 3, 8, 10).

### ***1.3.2.3 Razprševanje s strjevanjem (angl. spray congealing/cooling)***

Pri metodi razprševanja s strjevanjem talino lipidov (z vgrajeno ZU) razpršujemo v hladilno procesno komoro. Kapljice taline se ob stiku s hladnim zrakom strdijo v sferične delce, ki jih zbiramo na dnu procesne posode. Za razprševanje tekoče formulacije lahko izbiramo med rotirajočo, tlačno, dvokanalno ali ultrazvočno šobo. Najpogostejša je ultrazvočna, s katero je bilo izvedenih tudi največ raziskav. Med glavne parametre, ki jih je potrebno pri procesu upoštevati, sodijo: temperatura taljenja PS, ki naj bi se gibala med 50 °C in 80 °C, viskoznost formulacije za razprševanje in temperatura hladnega zraka. Tehnika se uporablja z namenom izboljšanja BU ali za dosego prirejenega sproščanja ZU. Vsebnost ZU v končni formulaciji je omejena z viskoznostjo formulacije in po literaturnih podatkih ne preseže 30 % (8, 10).

### ***1.3.2.4 Granuliranje s talinami (angl. melt granulation)***

Granuliranje s talinami je proces, pri katerem pride do aglomeracije prahov (nosilca in ZU) ob razprševanju taline veziva, ki se stali ali zmežča pri relativno nizki temperaturi. Proces poteka v hitro vrtečem mešalniku ali vrtinčnoslojnjem granulatorju. Pri alternativnem načinu



pa skupaj zmešamo prahove in trdno/poltrno vezivo, ki se zaradi trenja med delci začne taliti in tvoriti tekočinske mostove. Enostopenjski proces nam ponuja številne prednosti v primerjavi z običajno granulacijo, saj se izognemo dodajanju vodne raztopine veziv in naknadni fazi sušenja. Glavni parametri, s katerimi vplivamo na proces, so: hitrost vrtenja mešala, čas mešanja, velikost delcev veziva in viskoznost veziva. Začetek nastajanja granul je najbolj odvisen od viskoznosti veziva (pri velikih hitrostih mešanja) in od velikosti delcev veziva (pri manjših hitrostih mešanja). Lipidi z nizko HLB vrednostjo in visoko temperaturo tališča so primerni za podaljšano sproščanje, poltrdni derivati lipidov z visoko HLB vrednostjo (poliglikolizirani gliceridi, mešani gliceridi in polisorbati) pa so bolj primerni za takojšnje sproščanje in povečanje BU ZU. Postopek granuliranja s talinami se pogosto uporablja za adsorpcijo tekočih S(M)ES na porozne nosilce (1, 8, 10).

#### **1.3.2.5 Iztiskanje talin s krogličanjem (angl. extrusion-spheronization)**

Iztiskanje talin s krogličanjem je proces, med katerim se zmes prahov (PS in ZU) in veziv z zmerno temperaturo tališča (npr. lipidi) pomika skozi ekstrudor z nadzorovano temperaturo, pri čemer poteka mešanje in taljenje komponent. Nastali poltrdni material s plastičnimi lastnostmi na koncu potisnemo skozi odprtino in izdelamo iztiskance (ekstrudat). Slednje nato razrežemo na izbrano dolžino in izpostavimo procesu krogličanja, ki omogoči nastanek enakomerno velikih okroglih delcev (pelet). Na koncu sledita še sušenje in sejanje, da dobimo želeno frakcijo velikosti. Prednost metode je v enakomernosti vsebnosti (tudi za nizke odmerke ZU visokih jakosti), možnosti za doseg visokih vsebnosti ZU (do 60 %) in v tem, da za proces ne potrebujemo topila. Pelete imajo kot večeno tna FO prednost v zmanjšanju intra- in interindividualnih razlik v plazemskih profilih in zmanjšanju draženja GIT. Slabost pa je v zahtevni in počasni proizvodnji (1, 8, 3).

V zadnjem času se raziskuje tudi možnost pretvorbe v trdno obliko z oblaganjem praznih peletnih jeder s tekočim S(M)ES. Omejitev tega procesa je relativno nizka kapaciteta vgradnje S(M)ES (do 30 %) zaradi vpliva na slabše fizikalne lastnosti produkta (nepravilna oblika, manj gladka površina pelet in slabše pretočne lastnosti zaradi lepljive površine) (3).

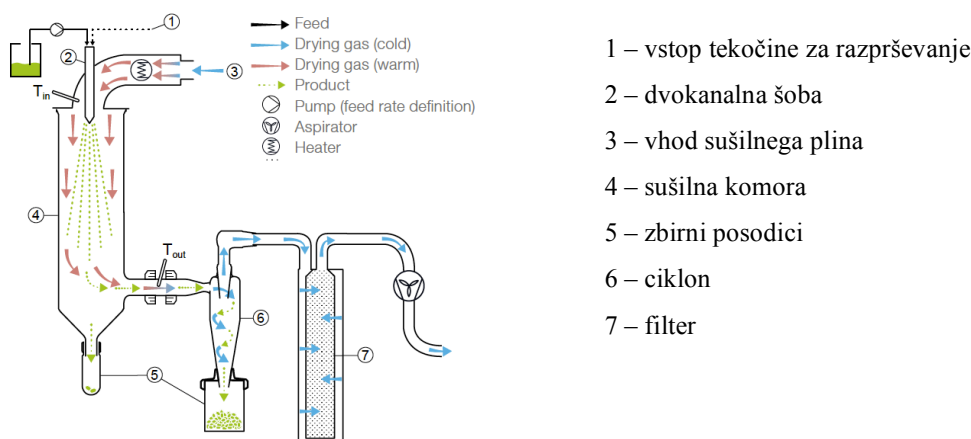
#### **1.3.2.6 Metoda superkritičnih fluidov (angl. supercritical fluid-based method)**

Metoda superkritičnih fluidov se uporablja pri oblaganju delcev ZU in izdelavi trdnih disperzij. *Proces oblaganja* je sestavljen iz dispergiranja delcev ZU v superkritičnem fluidu, ki vsebuje raztopljene lipidne komponente za oblaganje. Topnost le-teh dosežemo z dvigom

temperature in tlaka. Oblaganje poteka s postopnim zniževanjem tlaka in temperature, z namenom zmanjšanja topnosti materiala za oblaganje v superkritičnem fluidu. Lipidne komponente tvorijo oblogo na delcih ZU. *Proces izdelave trdne disperzije* pa obsega raztapljanje ZU in lipidnih komponent v organskem topilu (ponavadi metanolu) in nato v superkritičnem fluidu. Temu sledi postopno zniževanje temperature in tlaka z namenom zmanjšanja topnosti komponent. Zaradi okoljevarstvenih razlogov je prednostno uporabljen superkritični fluid ogljikov dioksid. Pred procesom moramo preveriti topnost komponent formulacije v superkritičnem fluidu in stabilnost ZU tekom procesa ter pretehtati okoljski in energetski vidik, ki vključuje odparevanje morebitnih uporabljenih topil. Čeprav pri tej metodi lahko vgradimo večje količine lipidov v primerjavi z ostalimi (do 99 %), lahko dosežemo dokaj nizke vsebnosti ZU (primerno le za vgradnjo ZU visoke jakosti) (8, 10).

### 1.3.2.7 Sušenje z razprševanjem (*angl. spray drying*)

Sušenje z razprševanjem je široko uporabljen enostopenjski proces sušenja vodnih in organskih raztopin, suspenzij in emulzij v živilski, kemijski ter farmacevtski industriji. Njegova prednost je v hitrem zmanjšanju teže, volumna in konzerviranju materiala. Prva uporaba sega v leto 1872, intenzivni razvoj pa omogoča, da se število aplikacij metode iz dneva v dan veča. Pri pretvorbi S(M)ES v trdno obliko postopek vključuje pripravo disperzije za razprševanje z mešanjem tekočega S(M)ES (z raztopljeno ZU), nosilca in medija (ponavadi vode). Ob razprševanju disperzije pride do odparevanja topila in tvorbe suhih trdnih delcev. Ena od značilnosti procesa je zelo hitro odparevanje topila, ki omogoča amorfizacijo in zmanjšanje velikosti delcev ter s tem povečanje njihove specifične površine. Glavni namen je pridobiti prahove z želenimi lastnostmi, ki jih lahko nadalje stisnemo v tablete ali polnimo v kapsule (1, 12, 17, 18, 19).



**Slika 3:** Shema sušilnika Büchi Mini Spray Dryer B-290 z označenimi sestavnimi deli, prirejeno po (17).

### 1.3.2.7.1 Princip sušenja z razprševanjem

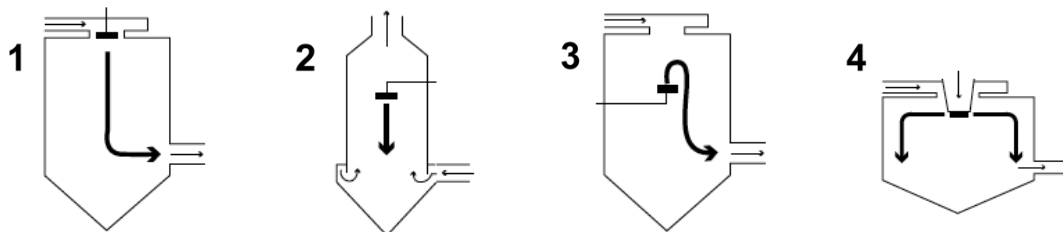
Pri procesu sušenja z razprševanjem gre za odparevanje vlage iz disperzije za razprševanje zaradi mešanja s sušilnim plinom, ki je običajno vroč zrak. Celoten proces sušenja je sestavljen iz štirih glavnih faz. **Razprševanje disperzije v majhne kapljice** dosežemo z različnimi vrstami šob, ki so podrobneje predstavljene v Preglednici IV. Vrsto šobe izberemo glede na naravo in količino disperzije ter želene lastnosti posušenega produkta (17, 18). Transport disperzije do šobe nam omogoča črpalka. Ob razprševanju pride do nastanka drobnih kapljic z veliko specifično površino, kar olajša prenos toplote od ogretega plina do razprševanih kapljic in omogoča zelo hitro odparevanje topila. Prednost metode je v tem, da je primerna za sušenje (zmerno) termolabilnih materialov, saj material nikoli ne doseže vhodne temperature, je pa tudi edina metoda sušenja, s katero lahko vplivamo na fizikalno-kemijske in morfološke značilnosti dobljenih delcev (18, 19).

**Preglednica IV:** Prednosti in slabosti različnih vrst šob (18).

VRSTA ŠOBE	PREDNOSTI	SLABOSTI
Hidravlična/ tlačna/ enokanalna šoba	+ enostavna zgradba, ni premičnih delov + nizka poraba energije + nizka cena	– nizka učinkovitost – velika verjetnost zamašitve, uporaba igle za odmaševanje
Pnevmatska/ večkanalna šoba (dvokanalna najpogostejša)	+ modifikacije za doseg želenih lastnosti delcev + homogenost razprševane disperzije + zadovoljiva učinkovitost	– potrebne velike količine stisnjene zraka – omejena uporaba za zelo viskozne disperzije
Rotirajoči disk	+ sušenje suspenzij z abrazivnimi substancami + enostavnost kontrole velikosti delcev (sprememba hitrosti vrtenja) + manjša verjetnost zamašitve + najbolj učinkovit način razprševanja	– visoka cena – uporaba širših procesnih posod – več ostankov na stenah procesne posode
Ultrazvočna šoba	+ za viskoznejše disperzije + sposobnost samoočiščevanja + dobra kontrola nad velikostjo kapljic/delcev + ozka distribucija velikosti delcev	– visoka cena

**Stik razprševane disperzije s segretim zrakom v komori** je pomemben del procesa in definira metodo sušenja z razprševanjem. Vse možnosti so slikovno predstavljene na Sliki 4. Pri *sotočnem načinu*, ki je najpogostejši, disperzijo razpršujemo v smeri toka vročega zraka (od zgoraj navzdol). Način je primeren za termolabilne materiale, saj temperatura produkta redko presega izhodno temperaturo, slabost pa je možno odlaganje nepopolno posušenih delcev na stenah komore. Naslednji je *protitočni način*, kjer je smer toka zraka (od spodaj navzgor) nasprotna smeri razprševanja in je sušenje učinkovitejše, ker mešani tok zraka delcem omogoča daljše zadrževanje v komori. Ker se produkt močno segreje, je metoda

primerna le za termostabilne materiale. *Kombinirani način* združuje prednosti prejšnjih dveh. Disperzijo razpršujemo navzgor in v vročem območju ostane le kratek čas, ker gravitacija povleče produkt v hladnejše območje. Pri *rotirajočem načinu* disperzija teče v hitro vrteči atomizacijski disk, ki jo pretvori v fino meglico (17, 18).



**Slika 4:** Različni stiki sušilnega plina z razprševano disperzijo: 1 – sotočni način, 2 – protitočni način, 3 – kombinirani način, 4 – rotirajoči način; prirejeno po (17).

**Faza sušenja delcev** predstavlja odparevanje v razprševanih kapljicah ujetega topila in nastanek suhih trdnih delcev. Odparevanje vodi v hlajenje kapljic in posledično v majhno toplotno obremenitev. Oblika procesne posode in hitrost toka sušilnega plina zagotavljata, da se v času zadrževanja kapljic v procesni posodi odstrani želena vlaga, nato pa se produkt odstrani iz sušilne komore. Sušenje ponavadi poteka pri odprtem sistemu, ker je sušilni medij vroč zrak, ki ga stalno dovajamo. Pri zaprtem sistemu je sušilni medij inertni plin (dušik), ki stalno kroži. Zaprt sistem je metoda izbire pri vnetljivih topilih in toksičnih ter na kisik občutljivih produktih. **Ločitev posušenega produkta od sušilnega medija** predstavlja zadnjo fazo procesa. Primarno ločevanje poteka na dnu procesne posode, popolna ločitev pa v ločevalnem predelu naprave, katere glavni del je ciklon. Ciklon je stožčaste oblike in deluje na principu centrifugalne sile, ki se tvori zaradi hitro krožečega zraka. Delci z večjo gostoto od zraka zaradi spiralnega gibanja izgubijo hitrost in se nabirajo na stenah in v zbirni posodici, ki se nahaja pod ciklonom. Večji je pospešek zraka v ciklonu, manjša je velikost delcev, ki se lahko še loči od toka zraka. Zrak s spiralnim dviganjem zapušča ciklon in s seboj nosi najmanjše delce, ki se v zadnji stopnji odlagajo na filter, da se izognemo kontaminaciji okolja (17, 18, 19).

#### 1.3.2.7.2 Vpliv procesnih spremenljivk na lastnosti produkta

Sušenje z razprševanjem je proces, pri katerem je rezultat zelo odvisen od lastnosti materiala in nastavitvev procesnih spremenljivk. Nastavitve aparature, kot so temperatura, vlažnost in pretok vhodnega sušilnega zraka, hitrost črpanja disperzije za razprševanje ter tlak razprševanja, skupaj z lastnostmi razprševane disperzije vplivajo na naslednje procesne

parametre: izhodno temperaturo sušilnega plina, velikost kapljic, fizikalne lastnosti produkta (vlažnost, velikost delcev, higroskopnost) in izkoristek procesa (18).

**Vhodna temperatura ( $T_{in}$ )** je temperatura vročega zraka tik pred vstopom v sušilno komoro. **Izhodna temperatura ( $T_{out}$ )** je temperatura zraka s posušenimi trdnimi delci, tik pred vstopom v ciklon. Le-ta je rezultat toplotne in masne bilance v sušilni komori in je ne moremo regulirati. Zaradi intenzivnega prenosa toplote in mase ter izgube vlage, je  $T_{out}$  vedno nižja od  $T_{in}$  in predstavlja najvišjo temperaturo, na katero se produkt lahko segreje. Raziskave so potrdile izredno majhno verjetnost uničenja produkta, saj tudi encimi in antibiotiki ostanejo polno aktivni.  $T_{out}$  je rezultat kombinacije vhodne temperature, hitrosti pretoka sušilnega zraka, ki ga nadzorujemo z aspiratorjem, hitrosti črpanja disperzije za razprševanje in njene viskoznosti, ki je odvisna od količine trdnih suspendiranih delcev. Večja temperaturna razlika med  $T_{in}$  in  $T_{out}$  se kaže v večji vlažnosti produkta (17, 19).

S pomočjo **aspiratorja**, ki deluje pod tlakom, čez grelec vpihavamo ali sesamo sušilni zrak skozi celotno aparaturo in tako uravnavamo hitrost pretoka zraka (tj. volumen vročega sušilnega zraka na časovno enoto). Ker je energija, ki je na voljo za odparevanje, odvisna od količine sušilnega plina, ima ta nastavitev močan vpliv na učinkovitost sušenja. Optimalna nastavitev se določi eksperimentalno, upoštevajoč, da večji pretok zraka pomeni krajše zadrževanje v komori in se kaže v večji vlažnosti produkta, hkrati pa tudi v boljšem ločevanju v ciklonu in višjem izkoristku (17, 18).

**Črpalka** črpa disperzijo za razprševanje proti šobi - najpogosteje uporabljena je peristaltična. Hitrost črpanja vpliva na temperaturno razliko med  $T_{in}$  in  $T_{out}$ . Pri hitrejšem črpanju je potrebno več energije za odparevanje in pretvorbo kapljic v delce, zato se hitrejši pretok disperzije kaže v nižji  $T_{out}$ . Zmanjšanje hitrosti črpanja ob nespremenjeni  $T_{in}$  in hitrosti pretoka sušilnega zraka se kaže v manjši vsebnosti vlage končnega produkta. Največja hitrost črpanja je omejena z viskoznostjo disperzije, premerom cevke in lepljenjem nepopolno posušenih delcev na stene procesne posode. Na **tlak razprševanja disperzije** vplivamo s hitrostjo hladnega stisnjenega zraka na šobi, ki jo nadzorujemo z rotametrom (višino na rotametri v mm). Stisnjeni zrak dovajamo skozi šobo istočasno z disperzijo, kar omogoča razprševanje. Nastavitve imajo izrazit vpliv na velikost delcev končnega produkta, in sicer tako, da pri večji hitrosti razprševanja nastanejo manjši delci. Tudi **viskoznost disperzije za razprševanje** (koncentracija trdnih suspendiranih delcev) vpliva na lastnosti delcev produkta – višja je viskoznost, večji in bolj porozni so delci (17, 18, 19).

## 2. NAMEN DELA

Namen magistrskega dela je pretvorba tekočega samo-mikroemulgirajočega sistema (SMES) z vgrajeno slabo vodotopno zdravilno učinkovino (ZU) karvedilol v trdno obliko z metodo sušenja z razprševanjem in vrednotenje nastalih produktov. Optimizirali bomo tako procesne parametre metode kot tudi sestavo formulacije. Uporabili bomo različne porozne (Neusilin US2, Syloid 244FP, Syloid XDP 3050) in neporozne (kombinacija Avicel PH-101 in Aerosil 200) trdne nosilce ter variirali razmerje med SMES in nosilcem (1:1, 1,5:1 in 2:1).

Izdelane samo-emulgirajoče prahove bomo ovrednotili z različnimi metodami. Z merjenjem časa redispergiranja in velikosti kapljic nastale (mikro)emulzije s fotonsko korelacijsko spektroskopijo bomo preverjali ohranitev sposobnosti samo-emulgiranja, z metodo diferenčne dinamične kalorimetrije odsotnost kristalinične oblike ZU, z vrstično elektronsko mikroskopijo pa njihove morfološke lastnosti. Proučili bomo tudi vpliv vrste in deleža trdnega nosilca na hitrost in obseg sproščanja karvedilola. Stremeli bomo k čim boljšim izkoristkom procesa in obenem čim večji vsebnosti ZU, ki jo bomo določali s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti in jo primerjali s produkti alternativne adsorpcijske metode. Izdelanim prahovom bomo ovrednotili tudi pretočne lastnosti in nasipni volumen.

V magistrski nalogi želimo potrditi ali ovreči naslednje *delovne hipoteze*:

1. Nastavitve procesnih parametrov sušenja z razprševanjem (vhodna temperatura, hitrost pretoka disperzije, višina na rotamtru) imajo bistven vpliv na izkoristek procesa.
2. Sušenje z razprševanjem je primerna metoda za pretvorbo tekočega SMES s karvedilolom v trdno obliko – do razmerja mas med SMES in nosilcem = 2:1.
3. Čas mešanja disperzije (s poroznimi nosilci in SMES z ZU) pred razprševanjem vpliva na izkoristek procesa in (ne)ujemanje med eksperimentalno in teoretično vsebnostjo ZU.
4. Z večanjem deleža SMES v disperziji za razprševanje se znižuje izkoristek procesa.
5. Zadrževanje SMES z ZU v porah nosilca vpliva na manjšo določeno vsebnost ZU.
6. Z večanjem deleža poroznega nosilca v disperziji za razprševanje se večja velikost kapljic po redispergiranju zaradi večje verjetnosti za nepopolno desorpcijo SMES.
7. Izdelani trdni SMES izkazujejo bistveno večjo hitrost in obseg sproščanja ZU, v primerjavi z raztapljanjem kristalinične ZU.
8. Obseg in hitrost sproščanja sta večja iz neporoznih kot iz poroznih nosilcev.
9. Boljše pretočne lastnosti imajo izdelani prahovi z večjim deležem nosilca.
10. V izdelanih trdnih SMES je ZU v molekularno dispergiranem ali amorfem stanju.

### 3. MATERIALI IN METODE

#### 3.1 MATERIALI

##### 3.1.1 Naprave in pripomočki

Naprave in pripomočki za izvedbo eksperimentalnega dela so navedeni v Preglednici V.

**Preglednica V:** Seznam uporabljenih naprav in pripomočkov, z navedenim proizvajalcem.

IME	PROIZVAJALEC
Analitska tehtnica AG245	Mettler Toledo, Švica
Analitska tehtnica XS205	Mettler Toledo, Švica
Precizna tehtnica, Vibra AJ Tuning-Fork Balance	Tehtnica, Slovenija
Precizna tehtnica, Exacta 2200 EB	Tehtnica, Slovenija
Grelno magnetno mešalo, Rotamix 550 MMH	Tehtnica, Slovenija
Grelno magnetno mešalo, IKA RCT basic safety control	IKA Werke, Nemčija
Magnetno mešalo, IKA WERKE RO 15 power	IKA Werke, Nemčija
Magnetno mešalo, Variomag Poly	Komet, Slovenija
Elektronski pH meter, Seven Compact	Mettler Toledo, Švica
Naprava za merjenje vlage, Mettler PM480 Delta Range, LP12	Mettler Toledo, Švica
Naprava za merjenje vlage, Büchi Moisture Analyzer B-302	Büchi Lab. AG, Švica
Sušilnik z razprševanjem, Büchi Mini Spray Dryer B-290	Büchi Lab. AG, Švica
Zeta Sizer Nano series	Malvern Instruments Ltd., Velika Britanija
Polistirenske kivete	Sarstedt AG&Co., Nemčija
Diferenčni dinamični kalorimeter DSC1 STAR <sup>c</sup> System	Mettler Toledo, Švica
Aluminijasti lončki (40 µL) in stiskalnica za zapiranje DSC lončkov	Mettler Toledo, Švica
Naprava za sproščanje z vesli, Vankel VK 7010 Tablet Dissolution Tester, z avtomatskim vzorčevalnikom VK 8000	VanKel Industries, Inc, ZDA
Pretočni filter 10 µm, Full flow filter	Agilent Technologies, ZDA
Membranski filter 0,45 µm RC	Lab Logistics Group GmbH, Nemčija
Brizge 5 in 10 mL, BD Discardit II	Becton, Dickinson and Company, ZDA
Naprava za določanje zbitega volumna, VanKel 50-1100	VanKel, ZDA
Centrifuga, model CENTRIC 322A	Tehtnica, Slovenija
UV-VIS spektrofotometer, VARIAN, Cary 50	Agilent Technologies, ZDA
HPLC – tekočinski kromatograf visoke ločljivosti, Waters, model Alliance	Waters Corporation, ZDA
Viale za HPLC	Agilent Technologies, ZDA
Vrstični elektronski mikroskop, Supra 35 VP	Carl Zeiss, Švica

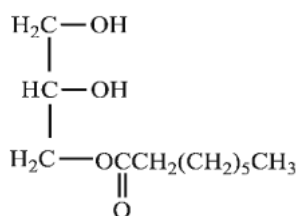
### 3.1.2 Sestavine za pripravo tekočega SMES

#### Capmul<sup>®</sup> MCM EP, Abitec Corporation, ZDA

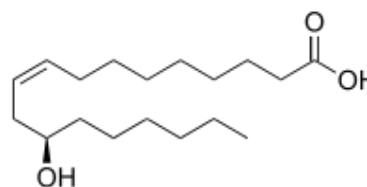
Capmul<sup>®</sup> MCM EP (*glicerol monokaprilokaprat*) je mešanica monogliceridov, pridobljenih z direktno zaestritvijo glicerola s kaprilno/oktanojsko ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ ) in kaprinsko/dekanojsko kislino ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$ ). Natančneje je sestavljen iz srednjedolgoverižnih mono- (45-75 %) in digliceridov (20-50 %), z največ 10 % vsebnostjo trigliceridov (20). Na Sliki 5 je prikazan ester glicerola s kaprilno kislino. Pri sobni temperaturi je brezbarvna do rumenkasta oljna tekočina ali mehka poltrdna snov, katero je potrebno rahlo segreti na vodni kopeli pred uporabo. Je netopen v vodi in topen v oljih, s HLB vrednostjo 4,7. Uporablja se za povečanje BU, kot učinkovit nosilec in solubilizacijsko sredstvo slabo vodotopnih ZU, stabilizator emulzij (emulgator/koemulgator), modifikator viskoznosti in pospeševalec penetracije skozi kožo pri dermalni aplikaciji (21, 22, 23).

#### Ricinusovo olje, Caelo (Caesar & Loretz GmbH), Nemčija in Sigma-Aldrich, ZDA

Rafinirano ricinusovo olje (*Castor oil, refined; Ricini oleum raffinatum*) je maščobno olje rastlinskega izvora, pridobljeno s hladnim stiskanjem semen ricinusa ali kloščevca (*Ricinus communis*) in nato rafinirano. Gre za zmes trigliceridov različnih maščobnih kislin, od katerih prevladuje enkrat nenasičena, ricinoleinska maščobna kislina (85-92 %; na Sliki 6), sledijo pa ji linolna (2,5-7 %), oleinska (2,5-6 %), stearinska (največ 2,5 %) in palmitinska (največ 2 %) kislina. Zaradi hidroksilne skupine ricinoleinske kisline je olje bolj polarno od večine drugih maščob in omogoča kemijsko derivatizacijo. Pri sobni temperaturi je brezbarvna do blede rumenkasta, bistra, viskozna, higroskopna tekočina. Dermalno deluje emolientno, uporablja se tudi v tabletah in kapsulah za peroralno uporabo ter kot topilo v intramuskularnih injekcijah. Terapevtsko ob peroralni aplikaciji deluje blago laksativno (obsoletna uporaba) (24, 25, 26).



**Slika 5:** Struktura primarne komponente PS Capmul<sup>®</sup> MCM EP (23).

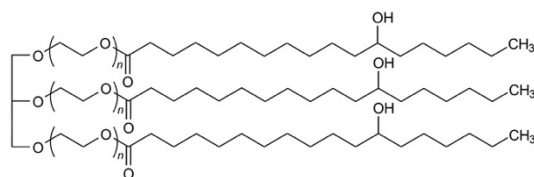


**Slika 6:** Ricinoleinska kislina, glavna sestavina ricinusovega olja (27).



**Kolliphor<sup>®</sup> RH40**, Sigma-Aldrich, ZDA

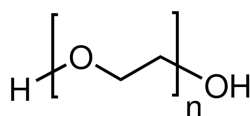
Kolliphor<sup>®</sup> RH40 (oz. Kolliphor<sup>®</sup> CO40/Cremophor<sup>®</sup> RH40; *PEG-40 hidrogenirano ricinusovo olje, polyoxyl 40 hydrogenated castor oil; Macrogolglyceroli hydroxystearas*) je neionska PAS, ki jo pridobivajo z reakcijo 1 mola hidrogeniranega ricinusovega olja s 40-45 moli etilenoksida. Glavni produkt je glicerol polietilenglikol hidroksistearat (prikazan na Sliki 7), ki skupaj z glicerolnimi in poliglikolnimi estri maščobnih kislin tvori hidrofobni del (75 %). Hidrofilni del sestavljajo polietilenglikoli in glicerol etoksilati. Pri sobni temperaturi je bela do rumenkasta poltrdna snov, s HLB vrednostjo med 14 in 16 (hidrofilna PAS). Ker je kemijsko stabilen in skoraj brez okusa, je primeren za peroralno aplikacijo (26, 28). Uporablja se kot emulgator in solubilizator eteričnih olj, vitaminov in hidrofobnih ZU v vodnih in alkoholno-vodnih raztopinah (29, 30, 31). V S(M)ES se uporablja v kombinaciji s koemulgatorjem in/ali sotopilom (28). Deluje kot inhibitor od membranskega prenašalca P-gp odvisnega efluksa ter metabolizma s citokromi CYP3A4 in CYP2C9, kar je zaradi možnega vpliva na povečano BU v primeru karvedilola (poglavje 3.1.4) zelo zaželeno (32).



**Slika 7:** Strukturna formula glicerol polietilenglikol hidroksistearata, glavne sestavine PS Kolliphor<sup>®</sup> RH40, prirejeno po (33).

**PEG 400**, Sigma-Aldrich, ZDA

PEG 400 (*polietilenglikol 400, makrogol 400*) je nizkomolekularni polietilenglikol, s povprečno molekulsko maso 380-420 g/mol, izdelan s kondenzacijsko polimerizacijo etilen oksida in vode (strukturna formula na Sliki 8). Po videzu je bistra, brezbarvna do blago rumenkasta, viskozna, higroskopna tekočina, občutljiva na oksidativno razgradnjo. Gre za zelo hidrofilno molekulo, z  $\log P = -4,8$ , ki je topna v vodi, acetonu, alkoholih, benzenu, glicerolu in glikolih. V farmacevtskih formulacijah se uporablja kot (so)topilo, vezivo, mazivo, vlažilo, plastifikator, snov za uravnavanje viskoznosti in stabilizacijo tekočih/poltrdnih formulacij, kot podlaga za svečke, mazilna podlaga v kozmetičnih izdelkih in vehikel za parenteralne FO (26, 34, 35). Tudi PEG 400 deluje kot inhibitor od membranskega prenašalca P-gp odvisnega efluksa in metabolizma s citokromi CYP3A (36).

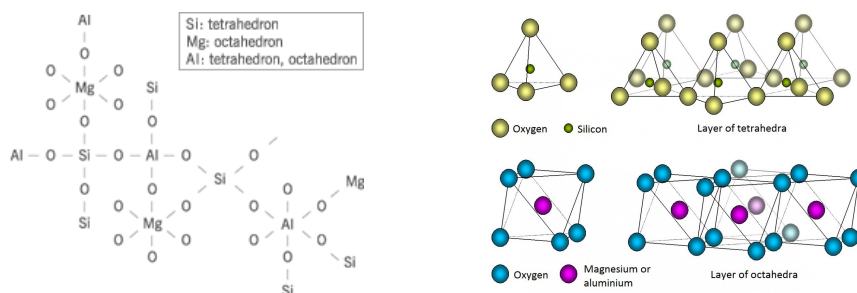


**Slika 8:** Strukturna formula PS polietilenglikol (PEG) (35).

### 3.1.3 Nosilci za pretvorbo SMES v trdno obliko

#### Neusilin<sup>®</sup> US2, Fuji Chemical Industries Co., Ltd., Japonska

Neusilin<sup>®</sup> US2 (*Aluminum magnesium silicate, Aluminium magnesium silicas*;  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{MgO} \cdot 1.7\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ) je sintezno pridobljen amorfni magnezijev aluminijev metasilikat, v obliki finega lahkega granulata, s povprečno velikostjo delcev 60-120  $\mu\text{m}$ , veliko poroznostjo in specifično površino (300  $\text{m}^2/\text{g}$ ), z visoko kapaciteto vezave lipidov in vode ter dobrimi stisljivostnimi lastnostmi. Njegova nasipna gostota je 150 g/L, zbita pa 190 g/L. Po videzu je umazano do kremno bela snov, brez vonja in okusa. Za razliko od ostalih magnezijevih aluminijevih silikatov v vodnem mediju ne tvori gelov, pH 5 % vodne suspenzije pa je nevtralen (pH 7,4; ostali imajo alkalni pH). Gre za makromolekularni kompleks magnezija, aluminija, silicija, kisika in vode. Strukturna formula je prikazana na Sliki 9 in vsebuje aluminij v tetra- ali oktaedru, magnezij v oktaedru in silicij v tetraedru. Deli so naključno pripeti eden na drugega in tvorijo kompleksno tridimenzionalno strukturo, ne gre za ponavljanje točno definirane monomera. Ima vlogo stabilizatorja in suspendirajočega sredstva v formulacijah za peroralno in dermalno uporabo, razgrajevala v tabletah in kapsulah, adsorbenta, veziva, snovi za povečanje viskoznosti (zgoščevala). Uporablja se pri direktnem stiskanju, vlažnem granuliranju ter kot nosilec trdnih disperzij in S(M)ES. Je pogosta sestavina formulacij z antibiotiki, oljnimi sestavinami, težko topnimi ZU, rastlinskimi mešanici in vitamini (26, 34, 37, 38).



Slika 9: Strukturna formula PS Neusilin<sup>®</sup> US2 (levo) in prikaz tetra- in oktaedra (desno) (38, 39).

#### Syloid<sup>®</sup> 244FP, Grace GmbH & Co. KG, Nemčija

Syloid<sup>®</sup> 244FP je sintetičen amorfni silicijev dioksid ( $\text{SiO}_2$ ), v obliki mezoporoznega mikroniziranega silikagela z veliko specifično površino ter afiniteto za adsorpcijo vlage in organskih snovi. 5 % vodna suspenzija ima pH 7,0; povprečna velikost delcev je 3,5-5,5  $\mu\text{m}$ , gostota 60 g/L, adsorbira pa lahko do 300 g tekočine na 100 g nosilca. Po videzu je bel prašek z dobrimi pretočnimi lastnostmi. Uporablja se kot drsilo, suspendirajoče, gelirno in zgoščevalno sredstvo, razgrajevalo, kot snov za zaščito ostalih komponent pred vlago in

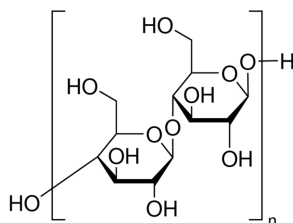
snov, ki olajša direktno tabletiranje ter kot nosilec za hidrofilne in hidrofobne snovi (tudi S(M)ES). Ima zelo dobro kompatibilnost s številnimi ZU (zaščiti jih pred razpadom). Uporablja se tudi kot sestavina oblog – z namenom zaščite pred svetlobo ali vlago, maskiranja okusa, izboljšanja močenja z zmanjšanjem hidrofobnosti površine ali ciljanjem na prirejeno sproščanje (40, 41, 42, 43).

#### **Syloid<sup>®</sup> XDP 3050**, Grace GmbH & Co. KG, Nemčija

Syloid<sup>®</sup> XDP 3050 je tako kot Syloid<sup>®</sup> 244FP sintetičen amorfen silicijev dioksid (SiO<sub>2</sub>), v obliki mezoporoznega mikroniziranega silikagela visoke čistote, ki se pogosto vgrajuje v različne farmacevtske formulacije. Gre za inertno snov z minimalnim številom interakcij z ZU. Njegova povprečna velikost delcev je 50 μm, gostota pa 275 g/L. Visoka poroznost mu omogoča učinkovito adsorpcijo do 300 g tekočin na 100 g silikagela, zato se uporablja kot nosilec za pretvorbo tekočih sistemov (lipidov, oljnih ZU, oljnih raztopin ZU, S(M)ES, viskoznih vodnih rastlinskih ekstraktov) v prahove z izboljšanimi pretočnimi lastnostmi in optimalno gostoto (43, 44, 45).

#### **Avicel<sup>®</sup> PH-101**, Lek, d.d., Ljubljana

Avicel<sup>®</sup> PH-101 (*mikrokristalna celuloza; Cellulose, microcrystalline; Cellulosum microcrystallinum; (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>* z molekulsko maso ≈ 36000 pri n ≈ 22) je prečiščena, delno depolimerizirana celuloza (Slika 10), ki je pripravljena s postopkom kisle hidrolize. Posamezne mikrokristalne celuloze Avicel<sup>®</sup> PH-101, -102, -103, -105 se med seboj razlikujejo po velikosti delcev in vsebnosti vlage. Avicel<sup>®</sup> PH-101 je po videzu droben, kristaliničen, bel do skoraj bel prah, brez vonja in okusa, s povprečno velikostjo delcev 50 μm in vsebnostjo vlage 3,0-5,0 %, naspino gostoto 320 g/L in zbito gostoto 450 g/L, specifično površino 1,06-1,12 m<sup>2</sup>/g, visoko notranjo poroznostjo in hidrofilnim značajem. Delno je topen v 5 % (m/V) raztopini NaOH, skoraj netopen v vodi, razredčenih kislinah in večini organskih topil. Ima vlogo veziva in polnila v tabletah, kapsulah in peletah; drsila, razgrajevala v tabletah, adsorbenta in suspendirajočega sredstva (26, 34, 46, 47).



**Slika 10:** Strukturna formula mikrokristalne celuloze (48).

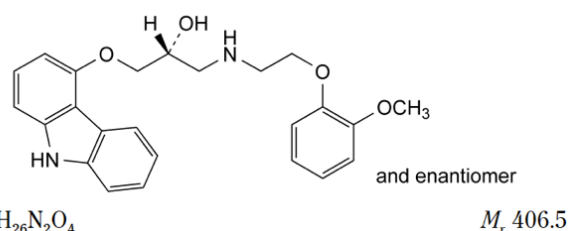
**Aerosil® 200**, Lek, d.d., Ljubljana

Aerosil® 200 (*koloidni silicijev dioksid, Fumed silica, Colloidal anhydrous silica, Silica colloidalis anhydrica*; SiO<sub>2</sub>) je hidrofilni submikronski koloidni silicijev dioksid, v obliki lahkega modrikasto-belega amorfnega prahu, brez vonja in okusa, z molekulsko maso 60,08 g/mol, velikostjo delcev  $\approx 15$  nm in veliko specifično površino  $200 \pm 25$  m<sup>2</sup>/g. Pridobivajo ga s parno hidrolizo klorosilanov (primer je silicijev tetraklorid) pri 1800 °C, z uporabo plamena vodik-kisik. Ima nasipno gostoto 29-42 g/L, zbito gostoto 50 g/L in pH vrednost 4 % disperzije 3,5-4,5. V organskih topilih, vodi in kislinah (razen fluorovodikovi kislini) je skoraj netopen, topen je le je v vročih raztopinah alkalijskih hidroksidov. Uporablja se kot adsorbent, stabilizator emulzij, drsilo, suspendirajoče sredstvo, razgrajevalo v tabletah, snov za povečanje viskoznosti in upočasnitev sproščanja (26, 49).

**3.1.4 Modelna učinkovina – karvedilol****Karvedilol**, Krka, d.d., Novo mesto

Karvedilol, kemijsko  $(\pm)$ -1-(9H-karbazol-4-iloksi)-3-[2-(2-metoksifenoksi)etilamino]propan-2-ol, je bel do skoraj bel kristaliničen prašek, s temperaturo tališča 114-115 °C.

Molekulska in strukturna formula, s pripadajočo molekulsko maso, sta prikazani na Sliki 11. Je zmerno topen v metilen kloridu, delno topen v etanolu (96 %) in skoraj netopen v vodi (25, 50). Po BCS karvedilol uvrščamo v razred II, saj je slabo



**Slika 11:** Strukturna in molekulska formula karvedilola, s pripadajočo molekulsko maso (25).

topna, a dobro permeabilna ZU. Ker ima v stranski verigi sekundarni amin, ki mu daje šibko bazične lastnosti ( $pK_a = 7,8$ ), je njegova topnost odvisna od pH. Pri sobni temperaturi in  $pH = 9,0$  je njegova topnost relativno nizka ( $< 1$   $\mu\text{g/mL}$ ) in se veča z nižanjem  $pH$  medija. Pri  $pH = 7$  znaša okrog 23  $\mu\text{g/mL}$ , pri  $pH = 5$  pa že doseže plato, 100  $\mu\text{g/mL}$ . Pri nižjih  $pH$  (1-4) je topnost karvedilola omejena s topnostjo njegove protonirane oblike oz. soli s klorovodikovo kislino, ki se tvori in-situ (51, 52).

Karvedilol je neselektivni zaviralec adrenergičnih receptorjev  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  in  $\alpha_1$ . Ima kiralni center in obstaja v dveh enantiomernih oblikah, ki se razlikujeta po učinkih in po poti presnove, v zdravih pa je v obliki racemata. Enantiomer *S* (–) zavira  $\alpha_1$  in  $\beta$  receptorje, enantiomer *R* (+) pa le receptorje  $\alpha_1$ . S kardioselektivnim zaviranjem  $\beta$  receptorjev ( $\beta_1$  receptorji so

predvsem v srčni mišici,  $\beta_2$  pa v bronhialnih mišicah in mišicah žil) znižuje arterijski krvni tlak, srčno frekvenco in minutni volumen srca. Z zaviranjem  $\alpha_1$  receptorjev povzroča periferno vazodilatacijo in zmanjša sistemski žilni upor. Ima močan antioksidativni in antiproliferativni učinek. V registriranih zdravilih obstaja v jakostih: 3,125; 6,25; 12,5 in 25 mg. Največji odmerek je 25 mg 2-krat na dan. Indiciran je za zdravljenje hipertenzije in kronične stabilne angine pectoris, za dopolnilno zdravljenje kroničnega srčnega popuščanja in zdravljenje po miokardnem infarktu z dokazano disfunkcijo levega prekata (53, 54, 55).

Karvedilol je zelo lipofilna spojina ( $\log P = 4,2$ ), ki se v plazmi skoraj v celoti veže na beljakovine (98 %) in ima volumen porazdelitve približno 2 L/kg. BU karvedilola je nizka (25-30 %) zaradi hitre presnove pri prvem prehodu skozi jetra. Presnavlja se z oksidacijo aromatskih obročev (stereoselektivno) in konjugacijo z glukuronsko kislino. *R*-enantiomer se pretežno presnavlja preko CYP2D6 in CYP1A2, *S*-enantiomer pa preko CYP2C9 in CYP2D6. Pri presnovi sodelujejo še naslednji izoencimi CYP450: CYP3A4, CYP2E1 in CYP2C19. Njihovi induktorji in zaviralci lahko stereoselektivno spremenijo presnovo karvedilola. Le-ta je tudi substrat in zaviralec črevesnega ekskretornega prenašalca P-glikoproteina (P-gp), katerega induktorji in zaviralci lahko spremenijo BU karvedilola. Povprečni eliminacijski razpolovni čas karvedilola je 6-10 ur. Plazemski očistek se giblje med 500 in 700 mL/min. Izločanje poteka predvsem preko žolča z blatom, manj kot 2 % v nespremenjeni obliki z urinom (54, 55, 56).

### 3.1.5 Mediji za sproščanje in analitiko

- **prečiščena voda**, pridobljena z reverzno osmozo, Fakulteta za farmacijo, Slovenija

Za pripravo medija za sproščanje s pH = 1,2:

- **HCl, 37 %**, Panreac Quimica S.A.U., Španija

Za pripravo medija za sproščanje s pH = 6,8:

- **KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>**, Merck KGaA, Nemčija
- **NaOH**, Merck KGaA, Nemčija

Za pripravo mobilne faze za HPLC analizo:

- **CH<sub>3</sub>OH**, J. T. Baker, ultra gradient HPLC grade, ZDA
- **CH<sub>3</sub>COOH**, J. T. Baker, Baker analyzed, ZDA
- **KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>**, for analysis, Merck KGaA, Nemčija
- **K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>**, puriss p.a., Sigma Aldrich, ZDA

## 3.2 METODE

### 3.2.1 Izdelava (psevdo)trikomponentnega faznega diagrama

Za izbrano mešanico oljne in emulgatorske faze (sestava prikazana v Preglednici VI), ki se je za vgradnjo karvedilola v predhodnjih raziskavah na Katedri za farmacevtsko tehnologijo izkazala za najustreznejšo, smo izdelali (psevdo)trikomponentni fazni diagram (PTFD). Med posameznima komponentama oljne faze je bilo že določeno optimalno razmerje 1:1, prav tako tudi med komponentama emulgatorske faze. Z izdelavo PTFD smo želeli določiti še najustreznejše razmerje med emulgatorsko in oljno fazo. Najprej smo ločeno pripravili zadostno količino emulgatorske in oljne faze za devet izhodiščnih S(M)ES. Vsako smo pripravili v svoji stekleni čaši in ju segrevali pri temperaturi 60 °C tako dolgo, da so se vse komponente raztalile. Na magnetnem mešalu smo pri hitrosti 60 rpm mešali do homogenosti. Izhodiščni S(M)ES so se med seboj razlikovali v razmerjih med emulgatorsko in oljno fazo – 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50, 40/60, 30/70, 20/80 in 10/90. Za pripravo posameznega S(M)ES smo v 100 mL stekleno čašo natančno natehtali obe fazi v določenem razmerju s skupno maso  $\approx 5$  g ter in pri 60 rpm in segrevanju na 60 °C mešali do homogenosti. Če smo mešali pri višjih hitrostih, se je vmešalo precej zraka, ki je motil opazovanje v naslednji stopnji, pri titraciji z vodno fazo. Homogen sistem smo ohladili na sobno temperaturo in ga ponovno premešali (3 min pri 50 rpm), nato smo začeli s titracijo z vodno fazo.

**Preglednica VI:** Sestava oljne in emulgatorske faze.

OLJNA FAZA	Capmul <sup>®</sup> MCM EP / Ricinusovo olje = 1/1
EMULGATORSKA FAZA	Kolliphor <sup>®</sup> RH40 (CO40) / PEG 400 = 1/1

Vsako izmed razmerij predstavlja izhodišče na stranici trikotnika za eno razredčitveno premico, na kateri leži 19 točk, ki jih dobimo po titriranju S(M)ES z vodo. Postopoma smo dodajali po 5 % (m/m) prečiščene vode (sobne temperature), do vsebnosti vode v sistemu 95 %, ki je zadnja točka razredčitvene premice. Točke na premici torej predstavljajo naslednje odstotke dodane vode 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 in 95 %. Potrebno količino vode v vsaki točki smo izračunali z Enačbo 1:

<b>Enačba 1:</b>	$\% \text{ vode} = \frac{m(\text{voda})}{m(\text{oljna faza}) + m(\text{emulgatorska faza}) + m(\text{voda})} \times 100 \%$
------------------	--

Za prvo točko za odstotek vode vstavimo 5 % in izračunamo maso vode, ki jo moramo dodati. Za vsako naslednjo točko moramo upoštevati že dodano vodo v prejšnjih stopnjah in

je potrebno od izračuna mase vode po Enačbi 1 odšteti že prej dodano vodo. Ker je gostota vode 1 g/mL, smo izračunano maso enostavno pretvorili v mikrolitre ( $\mu\text{L}$ ), saj je lažje odmerjati v volumskih enotah. Po vsakem dodatku vode z mikropipeto smo nastalo disperzijo premešali na magnetnem mešalu pri 50 rpm. Po 3-5 min mešanja smo vizualno ocenili nastale spremembe (bistrost in transparentnost) in ugotavljali območje nastanka mikroemulzije. Disperzije v zadnji točki vsake razredčitvene premice smo pustili mirovati 7 dni in nato izbrali stabilne mikroemulzije, katere smo vizualno ocenili kot transparentne ali opalescentne sisteme, ki se niso razplastili, ter jim določili velikost kapljic z metodo fotonske korelacijske spektroskopije.

### 3.2.2 Priprava tekočega SMES in SMES z učinkovino

Za pripravo izbranega tekočega SMES smo uporabili naslednje komponente v razmerju, prikazanem v Preglednici VII. Najprej smo v stekleno čašo natehtali Kolliphor<sup>®</sup> RH 40, ker je pri sobni temperaturi v poltrdnem stanju, nato pa smo s plastično kapalko dodali še vse preostale tekoče sestavine in na magnetnem mešalu pri 60 rpm in 60 °C mešali do homogenosti.

ZU smo v SMES vgradili v koncentraciji 100 mg ZU / 1 g SMES, ki predstavlja približno 81 % nasičene koncentracije pri sobni temperaturi. Natehtali smo jo na plastični čolniček in jo pri visokih obratih počasi vmešali v homogeno zmes SMES pri 60 °C. Z mešanjem smo nadaljevali pri temperaturi 50 °C in nižjih obratih, dokler se niso vsi kristalčki raztopili (približno 4 ure). Počakali smo, da izginejo vsi zračni mehurčki in preverili, da se je res vse raztopilo. V nasprotnem primeru smo nadaljevali z mešanjem in segrevanjem. SMES in SMES z ZU smo pripravljali v večji količini. Takoj po pripravi je bil videz transparenten, po nekaj dneh shranjevanja pa je včasih prišlo do zamotnitve (pretvarjal se je v poltrdno stanje) in smo ga zato tik pred uporabo rahlo premešali in segreti na 50 °C.

**Preglednica VII:** Sestava in razmerje med komponentami tekočega SMES.

KOMPONENTA	VLOGA		DELEŽ (% (m/m))	
Capmul <sup>®</sup> MCM EP	OLJNA FAZA	Zmes srednjedolgoverižnih mono-, di- in trigliceridov	20	10
Ricinusovo olje		Zmes dolgoverižnih trigliceridov		10
Kolliphor <sup>®</sup> RH40 (CO40)	EMULGATORSKA FAZA	emulgator	80	40
PEG 400		sotopilo		40

### 3.2.3 Priprava disperzije za razprševanje

Pri pripravi disperzije za razprševanje smo najprej v 250 mL erlenmajerico s širokim vratom natehtali ustrezno količino nosilca (prikazano v Preglednici VIII), nato z merilnim valjem dodali prečiščeno vodo v taki količini, da je bila disperzija primerna za razprševanje (100 ali 200 mL; odvisno od viskoznosti disperzije). Vodno raztopino nosilca smo mešali 1 uro in nato s plastično kapalko dodali prej pripravljen SMES oz. SMES z ZU ter za doseglo homogenosti pustili mešati 2 uri/1 dan/2 dni (čas mešanja vpliva na globino prodiranja SMES v pore nosilca).

**Preglednica VIII:** Sestava disperzij za razprševanje.

IME NOSILCA	RAZMERJE SMES(+ZU) : NOSILEC	DODATEK PREČIŠČENE VODE (mL)
Neusilin® US2	1 : 1 (10 g : 10 g)	100
	1,5 : 1 (15 g : 10 g)	100
	2 : 1 (10 g : 5 g)	100
Syloid® 244FP	1 : 1 (10 g : 10 g)	100
	1,5 : 1 (15 g : 10 g)	100
	2 : 1 (10 g : 5 g)	100
	1 : 2 (5 g : 10 g)	100
Syloid® XDP 3050	1 : 1 (10 g : 10 g)	100
	2 : 1 (10 g : 5 g)	100
Avicel® PH-101 : Aerosil® 200 = 1 : 1	1 : 1 (10 g : 10 g)	200

### 3.2.4 Pretvorba tekočega SMES v trdno obliko z metodo sušenja z razprševanjem

Uporabljali smo sušilnik z razprševanjem Büchi Mini Spray Dryer B-290 s sotočno sušilno komoro in dvokanalno šobo srednje velikosti, s premerom 1,4 mm. Ustrezne pogoje na sušilniku smo dobili tako, da smo si za okvir postavili pogoje, pri katerih so že izvajali podobne procese, potem pa jih prilagajali, da smo dobili čim ustrežnejši potek sušenja in strukturo produkta. Izbrani pogoji so prikazani v Preglednici IX. Nastavitvi temperature vhodnega zraka in hitrosti pretoka disperzije se za doseglo ustreznega sušenja razlikujeta med posameznimi vrstami in deleži nosilcev (prikazano v poglavju Priloge – Priloga I).

Pred začetkom procesa smo preverili pravilno namestitev vseh delov sušilnika z razprševanjem. Nato smo nadaljevali z vklopom delov po naslednjem vrstnem redu: začeli smo s kompresorjem in počakali, da je tlak dosegel 6-7 mbar, nato smo vklopili razvlaževalec B-296, odprli pretok do digestorija in nazadnje vklopili še sušilnik. Nastavili smo parametre, ki so prikazani v Preglednici IX v naslednjem zaporedju. Najprej smo nastavili vrednost aspiratorja in temperaturo vhodnega zraka ter počakali, da se je dejanska



temperatura dvignila do nastavljenega. Nato smo vklopili peristaltično črpalko in prvih 10 min po silikonski cevki (z notranjim premerom 2 mm) črpali in razprševali prečiščeno vodo. Ko so se pogoji za sušenje ustalili, smo začeli z razprševanjem naše disperzije. Pomembno je, da disperzijo ves čas mešamo na magnetnem mešalu, da se izognemo nastanku usedline. Po končanem procesu smo ponovno 10 min razprševali prečiščeno vodo, da smo sistem očistili. Za osušitev sistema je bilo na koncu potrebno še 10-minutno prepihanje z zrakom.

**Preglednica IX:** Procesni parametri, ki jih nastavimo na sušilniku z razprševanjem.

PARAMETRI	VREDNOSTI	RAZLAGA
Aspirator	<b>100 %</b>	Hitrost pretoka sušilnega plina (segretega zraka) je maksimalen - <b>35 m<sup>3</sup>/h</b> , najboljše ločevanje delcev od zraka v ciklonu
Črpalka	<b>10-11 %</b>	Hitrost pretoka disperzije za razprševanje <b>3,0-3,3 mL/min</b>
Temperatura vhodnega zraka	<b>130-140 °C</b>	Temperatura zraka pred vstopom v procesno komoro in v trenutku kontakta s kapljicami
Višina na rotamtru	<b>40 in 50 mm</b>	Hitrost stisnjenega zraka na šobi <b>473 in 601 L/h</b>

Pri tistih vzorcih, kjer je volumen produkta presegal volumen zbirne posodice, smo med samim procesom zbirno posodico večkrat izpraznili (zaradi možnih izgub na filtru) in po vsakem praznjenju z vodo ponovno ekvilibrirali sistem na ustrezno temperaturo sušenja. Pomembno je, da pred praznjenjem posodice ustavimo segrevanje in počakamo, da pade temperatura pod 90 °C ter šele nato lahko ugasnemo aspirator in snamemo posodico. Na koncu smo postrgali produkt še po stenah ciklona in ga združili s produktom, ki se je nabral v zbirni posodici, ga stehali in izračunali izkoristek po Enačbi 2. Po končanem delu smo sušilnik razstavili in očistili vse dele, jih posušili ter aparaturo sestavili nazaj.

<b>Enačba 2:</b>	$\eta (\%) = \frac{m (\text{ciklon}) + m (\text{zbirna posodica})}{m (\text{nosilec}) + m (\text{SMES} (+\text{ZU}))} \times 100 \%$
------------------	--

$\eta$  – izkoristek [%]

**m (ciklon)** – masa produkta na stenah ciklona [g]

**m (zbirna posodica)** – masa produkta iz zbirne posodice (po enkratnem oz. večkratnem praznjenju) [g]

**m (nosilec)** – masa natehtanega trdnega nosilca v disperziji za razprševanje [g]

**m (SMES(+ZU))** – masa natehtanega tekočega SMES oz. SMES z ZU v disperziji za razprševanje [g]

### 3.2.5 Pretvorba tekočega SMES v trdno obliko z adsorpcijsko metodo

Adsorpcijska metoda je alternativa metodi sušenja z razprševanjem za pretvorbo tekočega SMES v trdno obliko. Tekoči SMES z ZU smo po kapljicah dodajali k trdnemu nosilcu, ob stalnem mešanju s pestilom v terilnici. Uporabljena nosilca in razmerja so prikazani v Preglednici X. Po vsakem dodatku smo SMES s pestilom dobro vmešali v praškaste delce nosilca. Po končanem dodajanju smo mešali še toliko časa, da je nastal suh homogen prašek, brez vlažnih skupkov ( $\approx 20$  min).

**Preglednica X:** Sestava z adsorpcijsko metodo pripravljenih trdnih S(M)ES.

IME NOSILCA	RAZMERJE (SMES+ZU) : NOSILEC
Neusilin® US2	1 : 1 (10 g : 10 g)
	2 : 1 (10 g : 5 g)
Syloid® 244FP	1 : 1 (10 g : 10 g)
	2 : 1 (10 g : 5 g)

### 3.2.6 Merjenje vsebnosti vlage vhodnih sestavin (nosilcev) in produktov s termogravimetrijo

Vsebnost vlage v nosilcih in nastalih trdnih produktih smo določali z aparaturo Büchi Moisture Analyzer B-302 ter z Mettler PM480 Delta Range in LP12, ko prva ni bila na voljo. Na merilno ploščico smo natehtali toliko vzorca, da je bila prekrita celotna površina v debelini nekaj milimetrov. Merili smo zmanjšanje mase zaradi izhlapevanja vode v 15 min pri stalni temperaturi 85 °C. Naprava nam je kot rezultat podala vsebnost vlage v odstotkih.

### 3.2.7 Določanje vsebnosti karvedilola v produktih s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti

Vsebnost karvedilola v produktih smo določali s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (*angl. High Performance Liquid Chromatography, HPLC*), na napravi Waters, model Alliance. Izbrani **kromatografski pogoji** so predstavljeni v Preglednici XI.

**Priprava vzorcev** je potekala tako, da smo v 50 mL merilno bučko najprej natančno natehtali količino produkta, ki ustreza približno 25 mg ZU. Dodali smo približno 40 mL mobilne faze, vzorec pustili 30 min na ultrazvoku, ga občasno premešali in nato mešali še nadaljnjih 30 min na magnetnem mešalu. Nato smo bučko dopolnili do oznake z mobilno fazo in še 10 min mešali na magnetnem mešalu. Del vzorca smo 15 min centrifugirali pri 4000 rpm. Sledilo je še redčenje bistrega supernatanta 2/20 z mobilno fazo. Za **pripravo standarda** smo v 20 mL merilno bučko natančno natehtali približno 10 mg karvedilola, ga raztopili v mobilni fazi s pomočjo ultrazvoka ( $\approx 5$  min) in dopolnili do oznake z mobilno fazo.

Raztopino smo dobro premešali, redčili 2/20 z mobilno fazo in ponovno premešali, da je bila koncentracija karvedilola enaka po celotnem volumnu raztopine standarda.

**Preglednica XI:** Kromatografski pogoji HPLC analize.

<b>Kromatografski pogoji</b>	
<b>Mobilna faza</b>	metanol : pufer : očetna kislina = 60 : 40 : 0,3
<b>Pufna raztopina</b>	4,5 g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> in 0,61 g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> v 1000 mL prečiščene vode
<b>Kolona</b>	Symmetry C18, dolžina = 250 mm, notranji premer = 4,6 mm, velikost delcev = 5 μm
<b>Valovna dolžina UV detekcije</b>	284 nm
<b>Hitrost pretoka mobilne faze</b>	1 mL/min
<b>Volumen injiciranja</b>	10 μL
<b>Temperatura kolone</b>	30 °C

Po HPLC analizi vzorcev smo z uporabo zunanjega standarda izračunali koncentracijo karvedilola v pripravljenih raztopinah in preračunali vsebnost karvedilola v produktih. Vsebnost smo določali v dveh paralelkah in podali rezultate kot povprečje. Iz koncentracije standarda in površin vrha karvedilola za standard in vzorec smo, z upoštevanjem redčitev, začetnega volumna in mase vzorca, ki smo ga natehtali v bučko, izračunali eksperimentalno določeno vsebnost karvedilola v produktih, po Enačbi 3.

<b>Enačba 3:</b>	$\text{eksperimentalna vsebnost ZU} \left( \frac{mg}{g} \right) = \frac{m(\text{std}) \times 2 \text{ mL} \times A(\text{vz}) \times 20 \text{ mL} \times 50 \text{ mL}}{20 \text{ mL} \times 20 \text{ mL} \times A(\text{std}) \times 2 \text{ mL} \times m(\text{vz})}$
------------------	--

**m (std)** – masa standarda [mg]

**A (std)** – površina vrha karvedilola na kromatogramu za standard

**m (vz)** – masa vzorca [g]

**A (vz)** – površina vrha karvedilola na kromatogramu za vzorec

Iz eksperimentalno določene in teoretične vsebnosti karvedilola v produktih (ki smo jo z upoštevanjem izkoristka procesa izračunali z Enačbo 4) smo na koncu izračunali še razmerje med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo ZU po Enačbi 5.

<b>Enačba 4:</b>	$\text{teoretična vsebnost ZU} \left( \frac{mg}{g} \right) = \frac{m(\text{ZU teor})}{m(\text{produkt})} = \frac{m(\text{ZU v SMES}) \times \eta}{m(\text{produkt}) \times 100}$
------------------	--

**m (ZU v SMES)** – masa karvedilola v tekočem SMES, ki smo ga dodali v disperzijo za razprševanje [mg]

**m (ZU teor)** – teoretično izračunana masa karvedilola v končnem produktu, z upoštevanjem izkoristka [mg]

**m (produkt)** – masa produkta iz zbirne posodice in ciklona [g]

**η** – izkoristek procesa [%]

<b>Enačba 5:</b>	$\text{razmerje med eksperimentalno in teoretično vsebnostjo ZU (\%)} = \frac{m(\text{ZU eksp})}{m(\text{ZU teor})} \times 100 \%$
------------------	--

**m (ZU eksp)** – masa karvedilola v končnem produktu, določena eksperimentalno s HPLC [mg]

**m (ZU teor)** – masa karvedilola v končnem produktu, teoretično izračunana z upoštevanjem izkoristka [mg]

### 3.2.8 Merjenje časa redispergiranja in velikosti kapljic nastale (mikro)emulzije s fotonsko korelacijsko spektroskopijo

Za merjenje *časa redispergiranja* smo v tehtalni čolniček natehtali približno 1 g vzorca (tekoči ali trdni S(M)ES, z ZU ali brez), ga prenesli v erlenmajerico s širokim vratom, v katero smo prej dali magnet (enoten za vse meritve) in jo postavili na magnetno mešalo s hitrostjo mešanja 200 rpm. Ko je bila erlenmajerica že na magnetnem mešalu, smo vanjo vlili 250 mL prečiščene vode (z merilnim valjem) in začeli meriti čas. Z merjenjem smo končali, ko je bila disperzija enakomerno motna in ni bilo več vidnih večjih praškastih delcev produkta (ostanejo le komaj vidni delci nosilca, ki niso topni). Za nadaljevanje meritev velikosti kapljic smo disperzijo pustili na magnetnem mešalu še nadaljnjih 10 min za dosego popolne homogenosti. Prav tako smo pripravili tudi disperzije samih nosilcev.

*Velikost oz. porazdelitev velikosti kapljic* smo merili z napravo Zeta Sizer Nano series, ki je najpogosteje uporabljana naprava za merjenje velikosti delcev v nanometriškem območju in temelji na metodi fotonske korelacijske spektroskopije. Dinamično sipanje svetlobe meri hitrost naključnega Brownovega gibanja delcev in ga povezuje z velikostjo delcev – majhni delci se gibljejo hitreje kot veliki (57). Merjenje smo začeli tako, da smo najprej vključili napravo, ki vzdržuje konstantno električno napetost, nato Zeta Sizer (20 min počakali, da se je stacioniral laser) in nazadnje računalnik z Zeta Sizer Software-om. Vzorce smo prelili v 7 mL velike centrifugirke in jih centrifugirali 20 min pri 3500 rpm, s čimer smo odstranili glavnino večjih delcev (netopni delci nosilca). Rezultat je bil širok vrh čez celotno območje velikosti, iz katerega nismo mogli ničesar sklepati. Supernatant smo zato prefiltrirali še skozi 0,45 µm membranski filter, da smo večje delce temeljiteje odstranili in so bile meritve ustrezne. Filtrat smo prenesli v čisto polistirensko kiveto, do označene višine, natančno obrisali njene zunanje površine in jo vstavili v merilno celico aparature. Povprečni premer in polidisperzni indeks (PDI) kapljic nastale (mikro)emulzije po redispergiranju vzorcev smo določili pri pogojih, prikazanih v Preglednici XII. Rezultate velikosti kapljic za isti nosilec in razmerje SMES/nosilec smo na koncu združili ter izračunali povprečje paralelk.

**Preglednica XII:** Nastavljeni pogoji v programu za izvajanje meritev z napravo Zeta Sizer Nano series.

<b>Tip meritve</b>	velikost kapljic
<b>Čas začetne ekvilibracije vzorca</b>	120 min
<b>Temperatura vzorca med meritvijo</b>	25 °C
<b>Medij</b>	voda
<b>Število meritev za en vzorec</b>	2 × povprečje večih zaporednih meritev (glede na homogenost vzorca program določi, koliko je potrebnih)

### **3.2.9 In vitro preskus sproščanja karvedilola**

Preskus sproščanja karvedilola iz trdnih S(M)ES smo izvajali na napravi za sproščanje z vesli, Vankel VK 7010 Tablet Dissolution Tester, z avtomatskim vzorčevalnikom VK 8000, ki ustreza evropskim (Ph. Eur. 9th Ed., 2.9.3.-1) in ameriškim farmakopejskim standardom (USP 40 naprava 2).

#### **3.2.9.1 Priprava medijev za preskus sproščanja**

##### ***Priprava pufra s pH 1,2:***

6,5 mL koncentrirane HCl (37 % (m/m)) smo raztopili v 1000 mL prečiščene vode. Postopek je potekal tako, da smo s pipeto odmerili kislino v bučko, prej do približno polovice napolnjeno s prečiščeno vodo, nato dopolnili s prečiščeno vodo do oznake in dobro premešali. Po potrebi smo pH umerili s koncentrirano HCl do pH 1,2 (s pH lističi).

##### ***Priprava fosfatnega pufra s pH 6,8:***

6,805 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  in 0,896 g NaOH smo raztopili v 950 mL prečiščene vode, če je bilo potrebno smo še umerili pH z 2 M NaOH do pH 6,8 (z elektronskim pH metrom), dopolnili s prečiščeno vodo do oznake 1000 mL in dobro premešali.

Sproščanje je hkrati potekalo v šestih steklenih posodah aparature za raztapljanje, v katere smo nalili 900 mL medija in počakali do vzpostavitve temperature  $37\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ .

#### **3.2.9.2 Priprava vzorcev za preskus sproščanja**

V plastične čolničke smo natančno natehtali predhodno določeno maso posameznega produkta (da je bila celokupna vsebnost karvedilola približno 25 mg, kar predstavlja največjo jakost do sedaj registriranih zdravil s to ZU). Maso smo izračunali na podlagi predhodno določene vsebnosti ZU v posameznem produktu. S tako maso smo deloma zadostili tudi t. i. »sink« pogojem sproščanja, ki pravijo, da koncentracija sproščene ZU ne sme preseči 30 (oz. 10) % njene topnosti v 900 mL medija za sproščanje s pH 6,8 in 1,2 (topnost karvedilola pri različnih pH je opisana v poglavju 3.1.4 – Modelna učinkovina – karvedilol).

#### **3.2.9.3 Izvedba preskusa sproščanja in analitika rezultatov**

Vzorce smo s tehtalnih čolničkov prenesli direktno v steklene posode aparature za raztapljanje ter takoj vklopili vrtenje vesel in avtomatski vzorčevalnik. Sproščanje smo

izvajali 4 ure (+ po koncu 5 min hitrega vrtenja pri višjih obratih) v mediju s pH 1,2 in 16 ur (+ po koncu 15 min hitrega vrtenja pri višjih obratih) v mediju s pH 6,8. Vsi pogoji so navedeni v Preglednici XIII.

**Preglednica XIII:** Pogoji, pri katerih smo izvajali sproščanje.

	Sproščanje v pH 1,2	Sproščanje v pH 6,8
<b>Vrsta medija</b>	umetni želodčni sok pH = 1,2	umetni črevesni sok pH = 6,8
<b>Volumen medija</b>	900 mL	900 mL
<b>Temperatura medija</b>	37 °C ± 0,5 °C	37 °C ± 0,5 °C
<b>Aparatura</b>	USP App II (vesla)	USP App II (vesla)
<b>Hitrost vrtenja mešal</b>	50 rpm	50 rpm
<b>Časovne točke vzorčenja</b>	10, 20, 30, 45, 60, 120 min + 5 min infinity spin: 250 rpm	10, 20, 30, 45, 60, 120, 240, 360, 480, 720, 960 min + 15 min infinity spin: 250 rpm
<b>Volumen vzorčenja</b>	5 mL	5 mL

Po končanem preskusu sproščanja smo vse vzorce prefiltrirali skozi 0,45 µm membranski filter in prenesli v steklene vial. S HPLC analizo smo pri valovni dolžini 284 nm določili koncentracijo sproščene ZU iz površin pod krivuljo za standardno raztopino in vzorce v vsaki časovni točki (pri enakih pogojih kot pri določanju vsebnosti v poglavju 3.2.7); kot slepi vzorec smo uporabili medij za sproščanje. Iz koncentracij sproščene ZU v posameznih časovnih točkah smo izračunali profil sproščanja oz. krivuljo deleža sproščene ZU v odvisnosti od časa. Vsako točko predstavlja povprečje koncentracij treh paralelk, za katere smo izračunali tudi standardne odklone. Postopek izračunavanja je potekal z računalniškim programom MS Excel po naslednjih enačbah. Najprej smo po Enačbi 6 izračunali koncentracijo sproščene ZU za vsako paralelko v vsaki časovni točki.

<b>Enačba 6:</b>	$c_n = \frac{A_{st}}{A_n} \times c_{st}$
------------------	--

$c_n$  – koncentracija sproščene ZU v n-ti časovni točki [mg/mL]

$c_{st}$  – koncentracija eksterne standarda [mg/mL]

$A_n$  – površina pod kromatografskim vrhom za vzorec v n-ti časovni točki

$A_{st}$  – površina pod kromatografskim vrhom za standardno raztopino

Nato smo po Enačbi 7 v vsaki časovni točki izračunali maso sproščene ZU. Zaradi zmanjševanja začetnega volumna medija v posodi ob vsakem vzorčenju, je bilo potrebno upoštevati Enačbo 8, saj odvzetih volumnov v vsaki časovni točki vzorčenja nismo nadomeščali s svežim medijem.

<b>Enačba 7:</b>	$m_n = c_n \times V_n + V_{vz} \times (c_1 + c_2 + \dots + c_{n-1})$
<b>Enačba 8:</b>	$V_n = V_{zač} - V_{vz} \times (n - 1)$

$m_n$  – kumulativna masa sproščene ZU v n-ti časovni točki [mg]

$c_n$  – koncentracija sproščene ZU v n-ti časovni točki [mg/mL]

$n$  – zaporedna številka časovne točke vzorčenja

$V_n$  – volumen preostalega medija v n-ti časovni točki [mL], v prvi točki  $V_1 = V_{zač} = 900$  mL

$V_{vz}$  – volumen vzorčenja (= 5 mL)

$V_{zač}$  – začetni volumen medija (= 900 mL)

Za izračun deleža sproščene ZU (Enačba 10) in izris profila sproščanja je bil najprej potreben izračun začetne mase ZU v zatehti posamezne paralelke po Enačbi 9.

<b>Enačba 9:</b>	$m_{zač} = m_{zatehta} \times \frac{\text{vsebnost ZU}}{1000}$
<b>Enačba 10:</b>	$\text{delež sproščene učinkovine (\%)} = \frac{m_n}{m_{zač}} \times 100 \%$

**vsebnost ZU** – eksperimentalna vsebnost ZU v posameznem trdnem produktu, ki smo jo določili s HPLC [mg/g]

$m_{zatehta}$  – masa zatehte posamezne paralelke produkta, na kateri smo izvajali sproščanje [mg]

$m_{zač}$  – začetna masa ZU v zatehti vzorca [mg]

$m_n$  – kumulativna masa sproščene ZU v n-ti časovni točki [mg]

### 3.2.10 Merjenje nasipnega volumna in pretočnih lastnosti z določanjem Carrovega indeksa in Hausnerjevega razmerja

Za merjenje nasipnega volumna smo v merilni valj iz umetne mase, s premerom 4 cm in volumnom 80 mL, nasipali  $\approx 5$  g vzorca (s pomočjo steklenega lija) in odčitali njegov nasipni volumen ( $v$  mL). Carrov indeks in Hausnerjevo razmerje smo izračunali iz izmerjenih vrednosti nasipnega in zbitega volumna prahov po Enačbah 11 in 12. Možen je izračun preko volumnov ali gostot. Pri poskusih smo uporabili isti merilni valj in vanj počasi vsuli praškasti vzorec, do napolnjenosti približno dveh tretjin, in odčitali volumen –  $V_{nasipni}$ . Merilni valj smo vpeli v mehanski stresalnik za določanje zbitega volumna, VanKel 50-1100, in stresali 1250-krat, kar je empirično določena vrednost, po kateri se naj volumen ne bi več spreminjal. Po končni točki stresanja smo odčitali volumen –  $V_{zbiti}$ . Vse meritve smo izvajali v treh paralelkah. Med posameznimi testiranjimi smo valj spihovali s stisnjenim zrakom (25).

<b>Enačba 11:</b>	$\text{Carrov indeks} = \frac{V_{nasipni} - V_{zbiti}}{V_{nasipni}} \times 100 = \frac{\rho_{nasipna} - \rho_{zbita}}{\rho_{nasipna}} \times 100$
-------------------	---

<b>Enačba 12:</b>	$\text{Hausnerjevo razmerje} = \frac{V_{nasipni}}{V_{zbiti}} = \frac{\rho_{nasipna}}{\rho_{zbita}}$
-------------------	---

### 3.2.11 Določanje kristaliničnosti karvedilola z diferenčno dinamično kalorimetrijo

Diferenčna dinamična kalorimetrija (*angl. Differential Scanning Calorimetry, DSC*) je termična analitska metoda, pri kateri merimo razliko v toplotnih tokovih med vzorčnim in referenčnim lončkom, pri definiranem temperaturnem programu. Rezultat merjenja je krivulja odvisnosti toplotnega toka od temperature ali časa. Z odkloni od bazne linije (vrhovi) označujemo spremembo entalpije (količino energije, ki jo vzorec porabi ali sprosti) in območje temperature, v katerem je do spremembe prišlo. Metodo najpogosteje uporabljamo za določanje tališča, kristaliničnosti, polimorfizma, steklastega prehoda, prisotnosti nečistot, termične stabilnosti in kompatibilnosti snovi med seboj (58).

Pri našem raziskovalnem delu smo z diferenčnim dinamičnim kalorimetrom DSC1 STAR<sup>e</sup> System (Mettler Toledo) določali termične lastnosti ZU karvedilola, trdnih nosilcev, fizikalnih zmesi ZU s posameznim nosilcem (v razmerju 1:1), praznih S-S(M)ES in S-S(M)ES z ZU. V 40  $\mu$ L aluminijasti lonček smo točno natehtali približno 3-7 mg vzorca in ga pokrili s perforiranim pokrovčkom. Kot referenčni vzorec smo uporabili prazen aluminijasti lonček enakega volumna, prav tako s perforiranim pokrovčkom. Oba smo vstavili v merilno celico in ju segrevali od 0-160 °C, z linearnim naraščanjem temperature (s hitrostjo 10 °C/min), ob prepihanju z dušikom (s hitrostjo 50 mL/min). Rezultate smo obdelali s programom STAR<sup>e</sup> Software 9.30. Vrednotili smo fizikalno stanje ZU in morebitno prisotne interakcije med snovmi v fizikalnih zmesih in izdelanih S-S(M)ES.

### 3.2.12 Merjenje morfoloških lastnosti z vrstično elektronsko mikroskopijo

Vrstična elektronska mikroskopija (*angl. Scanning Electron Microscopy, SEM*) se uporablja za opazovanje topografije in strukture površine vzorcev. V vrstičnem elektronskem mikroskopu elektronski curek hitro potuje po površini vzorca, pri čemer sliko dobimo tako, da detektiramo bodisi primarne povratno sipane elektrone bodisi sekundarne elektrone iz vzorca. Značilnosti SEM so visoka ločljivost, velika globinska ostrina in širok interval povečav za slikanje vzorcev (od 20- do 300 000-krat). Metoda omogoča preiskave različnih materialov (kovine, polprevodniki, polimeri, organski materiali), ki se nahajajo v obliki vlaken, masivnih ali praškastih delcev. Vzorca morajo biti električno prevodni in obstojni v vakuumu (59). Pri našem raziskovalnem delu smo z vrstičnim elektronskim mikroskopom Supra 35 VP proučevali morfološke lastnosti ZU karvedilola, izdelanih S-S(M)ES z ZU in mezoporoznih nosilcev. Vzorce smo nalepili na dvostranski ogljikov lepilni trak, meritve pa smo izvajali pri 1 kV napetosti na elektronskem topu, ob uporabi sekundarnega detektorja.



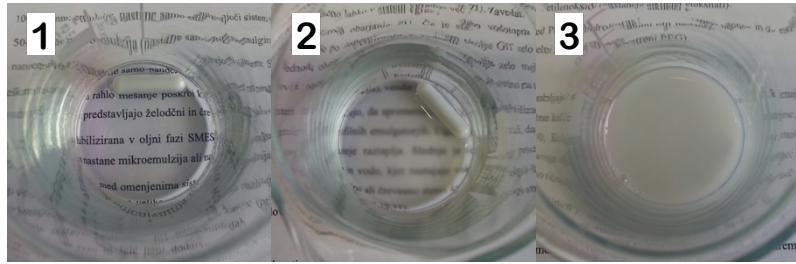
## 4. REZULTATI IN RAZPRAVA

### 4.1 Kvalitativna in kvantitativna sestava tekočega SMES

*Kvalitativna sestava tekočega SMES*, tj. najprimernejša kombinacija sestavin SMES za vgradnjo karvedilola, je bila na podlagi solubilizacijske kapacitete in stabilnosti ZU že izbrana v predhodnjih raziskavah na Katedri za farmacevtsko tehnologijo (60). Za oljno fazo smo uporabili Capmul MCM EP (zmes srednjedolgoverižnih mono-, di- in trigliceridov) in ricinusovo olje (zmes dolgoverižnih trigliceridov) v razmerju 1:1, za emulgatorsko fazo pa Kolliphor CO40 (hidrofilna PAS) in PEG 400 (hidrofilno sotopilo), prav tako v razmerju 1:1.

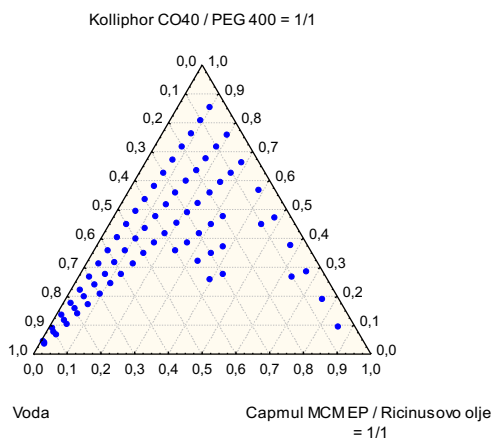
V številnih literaturnih virih je opisan vpliv sestavin SMES na povečanje BU karvedilola. Izbira lipidnih PS ima večji vpliv na intestinalno permeabilnost kot nadaljnji proces pretvorbe SMES v trdno obliko ali izbira vrste trdnega nosilca. Prebavljeni lipidi, vnešene PAS in komponente žolčnih soli naj bi povečali permeabilnost preko vpliva na membransko fluidnost in s tem na transcelularni transport, s porušenjem integritete tesnih stikov pa lahko olajšamo tudi paracelularni transport. Vsi ti procesi so v primeru naših sestavin časovno in od odmerka odvisni ter reverzibilni (12). Kolliphor CO40 in PEG 400 prispevata k povečanju znotrajcelične koncentracije karvedilola zaradi inhibicije efluksnega prenašalca P-gp in metabolizma s citokromi CYP450 (11, 14). Pri visoko lipofilnih ZU ( $\log P > 5$ ) je bilo ugotovljeno, da lahko s SMES ciljamo na absorpcijo v limfni krvni obtok, če formulacija vsebuje dolgoverižne trigliceride (ricinusovo olje v naši formulaciji), ki favorizirajo sintezo hilomikronov. Raziskave kažejo, da se absorpcija poveča s hitrejšim dispergiranjem teh formulacij v GIT, kar poveča limfatični transport ZU zaradi pospešene prebave lipidov (10). Tu se nam ponuja tudi priložnost za povečanje BU karvedilola, saj ima  $\log P$  blizu 5.

V okviru raziskovalnega dela smo določili še *kvantitativno sestavo sistema*, tj. najustreznejše razmerje med emulgatorsko in oljno fazo, z metodo izdelave (*psevdo*)*trikomponentnega faznega diagrama (PTFD)*. S(M)ES v razmerjih E/O = 90/10, 80/20, 70/30, 60/40, 50/50, 40/60, 30/70, 20/80, 10/90 smo titrirali z vodo in opazovali spremembe videza disperzije – bistrost in transparentnost. Tekom izdelave PTFD je prišlo do nastanka različnih sistemov, od transparentnih mikroemulzij do mlečno belih emulzij (Slika 12).

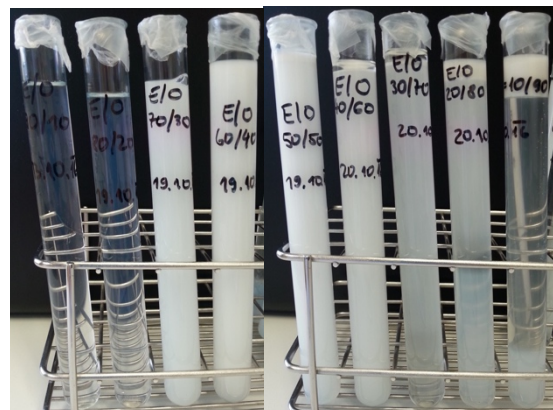


**Slika 12:** Stopnje transparentnosti sistemov, ki so nastali ob dodajanju vode različnim S(M)ES – 1: mikroemulzija (bistra, transparentna), 2: mikroemulzija (opalescentna, delno transparentna), 3: emulzija (motna, netransparentna).

Tako smo identificirali področje nastanka mikroemulzij, ki ga predstavljajo modre točke na Sliki 13. Razvidno je, da mikroemulzije nastajajo vzdolž celotnih razredčitvenih premic 1, 2 in 3, na ostalih pa se področje nastanka močno zmanjša. Na osnovi teh rezultatov smo kot optimalna razmerja E/O izbrali 90/10, 80/20 in 70/30, saj ta razmerja dopuščajo redčenje z vodo do konca razredčitvene premice – takrat je vsebnost vode 95 %. Na koncu prvih dveh premic je nastal popolnoma bister, na koncu tretje pa rahlo opalescenten sistem, ki po videzu še vedno ustreza disperziji z velikostjo kapljic pod 100 nm. To je izredno pomembno za našo formulacijo, saj mora z redčenjem S(M)ES pri pogojih *in vivo* spontano nastati stabilna (mikro)emulzija. Vsem končnim sistemom smo po enem tednu vizualno preverili stabilnost – na prvih treh razredčitvenih premicah so nastale stabilne (mikro)emulzije, pri ostalih pa je prišlo do ločitve faz (le-ta je močnejše vidna pri sistemih z manj emulgatorske faze), zato smo slednje izločili iz nadaljnjih študij. Vsi končni sistemi so prikazani na Sliki 14.



**Slika 13:** PTFD za sistem Kolliphor CO40 / PEG 400 = 1/1, Capmul MCM EP / Ricinusovo olje = 1/1 in vodo, kjer modre točke predstavljajo tista razmerja med komponentami, pri katerih nastane transparentna (mikro)emulzija.



**Slika 14:** Vizualni izgled končnih točk razredčitvenih premic (95 % vsebnost vode) po enem tednu shranjevanja pri sobni temperaturi; od leve proti desni se zmanjšuje delež emulgatorske faze (90→10); le prvi trije sistemi so stabilni (ni ločitve faz).

Stabilnim sistemom (na koncu prvih treh razredčitvenih premic) smo z metodo fotonske korelacijske spektroskopije izmerili velikost kapljic, z namenom izbire najboljšega izmed njih. Podatki o velikostih kapljic in polidisperznem indeksu so prikazani v Preglednici XIV.

**Preglednica XIV:** Povprečni premer kapljic (d) in polidisperzni indeks (PDI) za končne točke razredčitvenih premic 1-3. Razmerje E/O predstavlja razmerje med emulgatorsko in oljno fazo tekočega S(M)ES.

	<b>1. RAZREDČITVENA PREMICA</b>	<b>2. RAZREDČITVENA PREMICA</b>	<b>3. RAZREDČITVENA PREMICA</b>
	E/O = 90/10	<b>E/O = 80/20</b>	E/O = 70/30
<b>Povprečni premer kapljic (d)</b>	18,90 ± 0,14 nm	<b>23,13 ± 0,16 nm</b>	175,6 ± 0,57 nm
<b>Polidisperzni indeks (PDI)</b>	0,105 ± 0,004	<b>0,072 ± 0,004</b>	0,228 ± 0,013

Na koncu vseh treh razredčitvenih premic spontano nastanejo stabilni sistemi, razlika med njimi je le v velikosti nastalih kapljic. Načeloma si želimo, da so slednje čim manjše, saj se tako boljše razporejajo po GIT in posledično hitreje absorbirajo. Glede na definicijo SMES sta optimalna prvi in drugi sistem, ki tvorita mikroemulzije z velikostjo kapljic < 50 nm. Tudi PDI je pri teh sistemih zelo nizek, kar nakazuje na izredno monodisperzno porazdelitev velikosti kapljic, kar je za našo formulacijo tudi zaželeno. Pri tretji razredčitveni premici je porazdelitev velikosti širša, vendar še vedno monodisperzna, ki naj bi bila po definiciji nekje do vrednosti PDI = 0,3. Tretji sistem je načeloma prav tako primeren za vgradnjo ZU, saj pri popolni razredčitvi nastane stabilna disperzija z velikostjo kapljic < 250 nm, zato lahko ta sistem opredelimo kot samo-emulgirajoči sistem – SES (natančneje razloženo v Uvodu, podglavje 1.2). Ker smo v osnovi želeli izdelati SMES, smo tretji sistem izločili iz nadaljnjih študij, izmed prvih dveh sistemov pa smo (zaradi primerljivih lastnosti) izbrali drugega, ker ima manjšo vsebnost PAS, ki *in vivo* lahko dražijo sluznico GIT.

## 4.2 Pretvorba SMES v trdno obliko z metodo sušenja z razprševanjem

Ker se je v preteklih poskusih na Katedri za farmacevtsko tehnologijo metoda sušenja z razprševanjem izkazala kot učinkovita in ponovljiva metoda za pretvorbo tekočega SMES v trdno obliko s številnimi nosilci in ZU, smo jo izbrali tudi za pretvorbo našega sistema s karvedilolom (7). Za osnovo smo prevzeli na podobnem sistemu predhodno določene procesne parametre (61), ki smo jih tekom optimizacije metode prilagodili našemu sistemu (Preglednica XV). Izvedli smo 42 poskusov (Priloga I) – v začetnih fazah smo optimizirali pogoje razprševanja in proučevali optimalen čas mešanja disperzije pred razprševanjem (s

SMES in trdnimi nosilci), nato pa smo pri izbranih pogojih testirali še različna razmerja med SMES in nosilci.

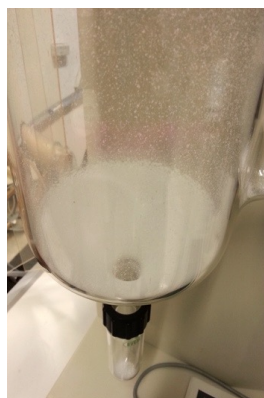
**Preglednica XV:** Začetni in optimizirani pogoji sušenja z razprševanjem.

PARAMETRI	ZAČETNI POGOJI	OPTIMIZIRANI POGOJI
Aspirator	100 %	100 %
Črpalka	15 %	10-11 %
Temperatura vhodnega zraka	120 °C	130-140 °C
Višina na rotamtru	40 mm	50 mm

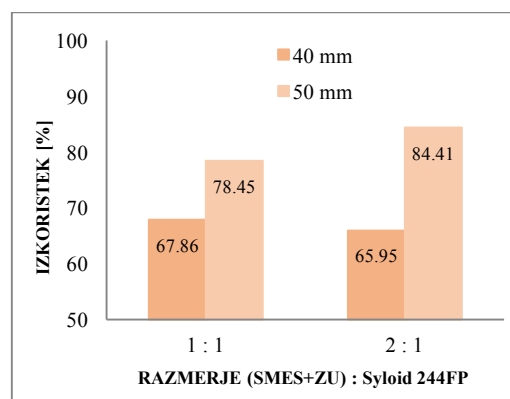
#### 4.2.1 Optimizacija procesnih parametrov za doseg čim višjega izkoristka procesa

Prve poskuse sušenja z razprševanjem smo izvedli z disperzijo, ki jo je sestavljal SMES (najprej brez in nato z vgrajenim karvedilolom) in trdni nosilec Syloid 244FP (v razmerju SMES/nosilec = 1:1 in 2:1) ter voda. Pri začetnih pogojih sušenja z razprševanjem se je veliko razpršenih kapljic prilepilo na stene in dno procesne posode. Predvidevali smo, da je slednje posledica prepočasnega procesa sušenja, saj je bila izhodna temperatura zraka dokaj nizka (45-50 °C), kar je nakazovalo na manjšo učinkovitost procesa sušenja. Nizka temperatura izhodnega zraka se načeloma kaže v večji vlažnosti produkta in je lahko posledica bodisi (pre)nizke temperature sušenja (temperatura vhodnega zraka) bodisi prehitrega pretoka sušilnega plina (uravnavamo z aspiratorjem) oz. prehitrega razprševanja disperzije, zaradi česar sušeči se delci prehitro zapustijo sušilno komoro oz. nimajo dovolj časa, da bi se ustrezno posušili. Opazili smo, da je ločevanje delcev od zraka v ciklonu optimalno (kar smo dosegli z maksimalnim pretokom sušilnega zraka), zato smo želeli problem nizkega izkoristka rešiti najprej tako, da bi uravnali druge parametre. Učinkovitost procesa sušenja, ki smo jo spremljali s temperaturo izhodnega zraka, smo najprej želeli izboljšati s povečanjem *temperature vhodnega zraka* (iz 120 °C na 130-140 °C) ter zmanjšanjem *hitrosti dovajanja disperzije na šobo* (z znižanjem nastavitve peristaltične črpalke s 15 % na 10-11 %). Navedene spremembe procesnih parametrov so se odražale v višjih izkoristkih procesa. Kot optimalno temperaturo izhodnega zraka smo določili temperaturo med 59 in 61 °C; v tem temperaturnem intervalu je bilo sušenje produkta najustreznejše (najmanj izgub zaradi lepljenja produkta na stene procesne posode). Pri vseh nadaljnjih poskusih smo temperaturo izhodnega zraka vzdrževali v tem temperaturnem intervalu, in sicer tako, da smo med procesom sušenja z razprševanjem uravnavali hitrost črpanja disperzije za razprševanje in temperaturo vhodnega zraka (odvisno od deleža SMES v disperziji). Tako smo dosegli tudi boljšo medsebojno primerljivost poskusov.

Kljub opisanim spremembam procesnih parametrov učinkovitost procesa sušenja ni bila optimalna, saj se je na dnu procesne posode še vedno zadržalo veliko produkta; načeloma se tu iz procesa sušenja izločijo delci, ki so preveliki/pretežki, da bi s tokom sušilnega plina nemoteno potovali naprej v ciklon. Predvidevali smo, da je to lahko posledica prevelikih kapljic disperzije, iz katerih nastanejo večji trdni delci, ki se nabirajo na dnu procesne posode (prikazano na Sliki 15). Odločili smo se povečati še **tlak razprševanja disperzije na šobi**, ki ga nadzorujemo z **višino na rotametri** (v mm) in predstavlja hitrost stisnjene zraza. Večji tlak razprševanja omogoča nastanek manjših kapljic disperzije in posledično delcev končnega produkta. S Slike 16 je razvidno, da smo s povečanjem višine na rotametri iz 40 mm na 50 mm (kar ustreza hitrosti zraza na šobi 473 oz. 601 L/h), učinkovitost solidifikacije disperzije z razmerjem (SMES+ZU)/Syloid 244FP = 1:1 izboljšali za dobrih 10 %, pri razmerju 2:1 pa za skoraj 20 %. Doprinos k boljšemu izkoristku je bil v tem primeru večji v primerjavi z ostalimi izboljšavami pogojev. Dokazali smo, da imajo nastavitve procesnih parametrov sušenja z razprševanjem bistven vpliv na izkoristek procesa, kar je potrdilo pričakovanja *prve hipoteze*.



**Slika 15:** Velike izgube produkta na dnu procesne posode pri procesu sušenja z razprševanjem, nastavitve višine na rotametri na 40 mm.



**Slika 16:** Vpliv višine na rotametri (40 vs. 50 mm) na izkoristek procesa sušenja z razprševanjem, ostali procesni parametri so konstantni.

#### 4.2.2 Vpliv sestave in časa mešanja disperzije za razprševanje na izkoristek procesa

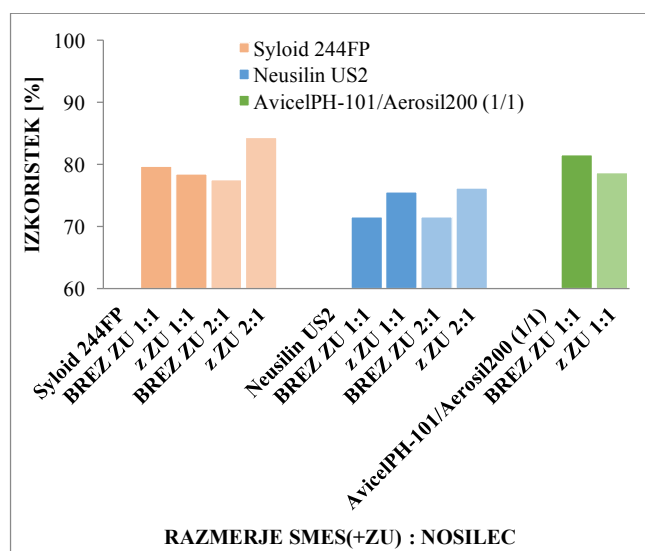
Pri disperzijah za razprševanje smo variirali vrsto in delež trdnega nosilca (Preglednica XVI) in proučevali njun vpliv na izkoristek procesa sušenja z razprševanjem. Izbrali smo nosilce z veliko specifično površino, in sicer tako visoko porozne (Syloid 244FP, Neusilin US2, Syloid XDP 3050) kot neporozne (fizikalna zmes Avicel PH-101/Aerosil 200 = 1/1). SMES smo uspeli vgraditi v/na porozna nosilca Neusilin US2 in Syloid 244FP do razmerja SMES/nosilec = 2:1 ter tako potrdili *drugo hipotezo*. Syloid XDP 3050 smo že v začetnih poskusih izločili iz nadaljnega raziskovanja zaradi izredno slabih izkoristkov (50-60 %) in

slabše kapacitete absorpcije SMES v primerjavi z ostalima poroznima nosilcema. Produkt se je med procesom solidifikacije lepil na stene procesne posode in ciklona, struktura končnega produkta je bila zelo mastna in lepljiva na otip, delci pa so se združevali v skupke. Sklepali smo, da smo pri razmerju SMES/Syloid XDP 3050 = 2:1 preseglili kapaciteto nosilca za vgradnjo SMES, saj so bili sledovi slednjega vidni na vrhu ciklona.

Najprej smo na izbranih nosilcih proučevali **odvisnost izkoristka procesa od prisotnosti ZU** (z razprševanjem disperzij SMES z ali brez ZU) (Slika 17). Pri Neusilinu US2 so izkoristki pri produktih z vgrajeno ZU za  $\approx 5\%$  višji, pri Syloиду 244FP pa so rezultati odvisni od razmerja SMES/nosilec – pri razmerju 1:1 vgradnja ZU ne vpliva na izkoristek, pri razmerju 2:1 pa je slednji pri produktu z vgrajeno ZU za 7 % višji. Pri kombinaciji nosilcev Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1) je vgradnja ZU v SMES rezultirala v nižjem izkoristku procesa.

**Preglednica XVI:** Vrste nosilcev in razmerja med SMES (z ZU) in nosilcem, ki smo jih uporabili v poskusih.

VRSTA NOSILCA	RAZMERJE SMES(+ZU):NOSILEC
Syloid 244FP	1 : 1
	1,5 : 1
	2 : 1
Neusilin US2	1 : 1
	1,5 : 1
	2 : 1
Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1)	1 : 1
Syloid XDP 3050	1 : 1
	2 : 1



**Slika 17:** Vpliv dodatka ZU v SMES na izkoristek procesa sušenja z razprševanjem.

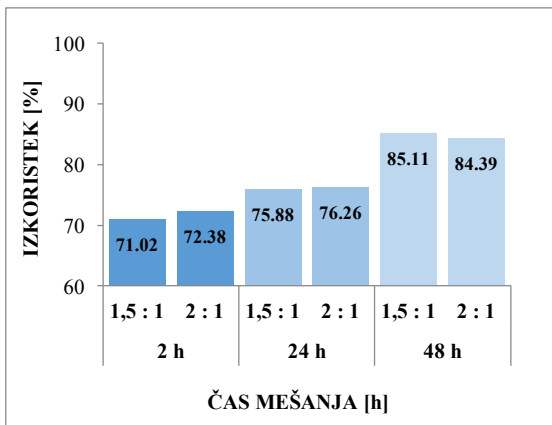
S *tretjo hipotezo* smo predvidevali, da je pri uporabi poroznih nosilcev pomemben dejavnik procesa solidifikacije tudi **čas mešanja disperzije pred razprševanjem**. V kolikor disperzijo mešamo dlje časa, ima SMES več časa za porazdelitev v pore trdnega nosilca in lahko verjetno prodre tudi globlje v pore. Rezultati poskusov na poroznem nosilcu Neusilinu US2 so predstavljeni na Sliki 18. Z disperzijami, ki smo jih pred razprševanjem mešali dlje časa, smo tako dosegli boljše izkoristke procesa, saj je bil SMES dlje časa v stiku z nosilcem in je zato lahko prodrl globlje v pore. Sušenje delcev je posledično potekalo bolj učinkovito, z manjšimi izgubami na stenah procesne posode. Najboljši izkoristek smo določili po 48-urnem mešanju disperzije, ki je bil za skoraj 10 % višji kot pri disperziji, ki smo jo predhodno mešali 24 ur oz. 2-uri; med slednjima so bile razlike bistveno manj izražene (Slika 18). Ker

je tudi Syloid 244FP porozen, pri njem pričakujemo podobno obnašanje. Z opisanimi ugotovitvami smo potrdili *prvi del tretje hipoteze*, ki pravi, da pri poroznih nosilcih čas mešanja disperzije pred razprševanjem vpliva na izkoristek procesa. Z vidika izkoristka procesa sušenja z razprševanjem je 48 h optimalen čas mešanja disperzije. Poleg izkoristka pa je pomemben parameter tudi vsebnost ZU v končnem produktu, ki je bila bistveno boljša v primeru 24 h mešanja (rezultati so podrobneje predstavljeni v poglavju 4.3.1.2), zato smo se odločili, da bomo pri vseh nadaljnjih poskusih disperzije mešali 24 h).

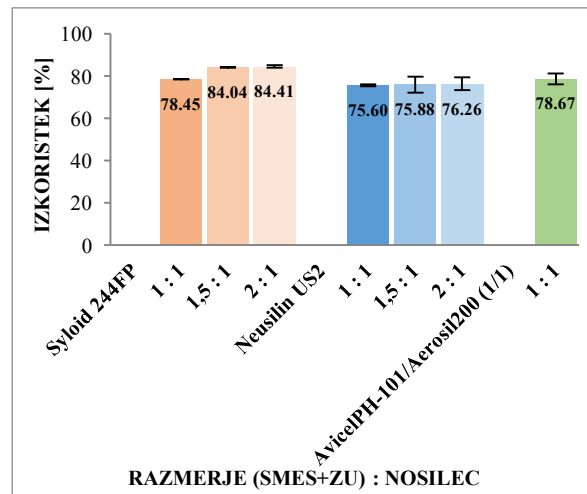
Po določitvi optimalnega časa mešanja disperzije in pogojev sušenja smo razprševali disperzije z *različnimi nosilci in razmerji med SMES z ZU in nosilcem*. Če primerjamo le porozna nosilca Syloid 244FP in Neusilin US2, je s Slike 19 razvidno, da je izkoristek višji pri produktih s Syloidom 244FP kot nosilcem. Razlog je verjetno v večjih delcih Neusilina US2 (60-120  $\mu\text{m}$ ) v primerjavi s Syloidom 244FP (3,5-5,5  $\mu\text{m}$ ) in posledično manjši specifični površini delcev prvega, ki je v začetnem stiku s SMES. Ker se torej SMES v začetni fazi porazdeljuje v delce Neusilina US2 skozi manjšo površino, je proces počasnejši, kar lahko razloži večje lepljenje delcev (s presežkom SMES na površini) na stene ciklona, ki smo ga opazili med poskusi. Pri Syloidu 244FP je bil nasprotno viden lep vrtinčast tok delcev proti zbirni posodici in čiste stene ciklona (Sliki 20 in 21). Vpliv velikosti delcev na izkoristek procesa se je pri metodi sušenja z razprševanjem že v preteklih študijah pokazal kot ključen. Neusilin UFL2 (z velikostjo delcev 3-5  $\mu\text{m}$ ) je dajal večje izkoristke kot Neusilin US2 (z velikostjo delcev 60-120  $\mu\text{m}$ ) (12). Večji delci niso optimalni za vgradnjo drobnih lipidnih kapljic, manj učinkovit je tudi proces odstranjevanja vode med procesom sušenja z razprševanjem, saj je pri večjih delcih nosilca difuzijska pot daljša. Posledično je več zaostankov produkta na procesni posodi. Prednost nosilcev z večjimi delci pa je v tem, da lahko iz njih izdelamo prahove z boljšimi pretočnimi lastnostmi in mehansko trdnostjo, kar je prednost pri nadaljnjem formuliranju (npr. polnjenju v kapsule ali tabletiranju) (12, 16).

S Slike 19 je nadalje razvidno, da pri Neusilinu US2 razmerje med SMES in nosilcem ne vpliva na izkoristek procesa, pri Syloidu 244FP pa je pri razmerju SMES/nosilec = 1:1 izkoristek malo nižji. To ni v skladu s pričakovanji *četrtje hipoteze*, da se z večanjem deleža SMES v disperziji za razprševanje izkoristek procesa znižuje, zato smo jo ovrgli. Predpostavka temelji na dejstvu, da je zaradi nižje vsebnosti SMES slednjemu na razpolago večja površina nosilca, na/v katero se lahko porazdeli. Razlog za neskladje bi bil lahko v tem, da pri razmerju SMES/Syloid 244FP = 1:1 nastanejo (pre)majhni delci, ki so zaradi

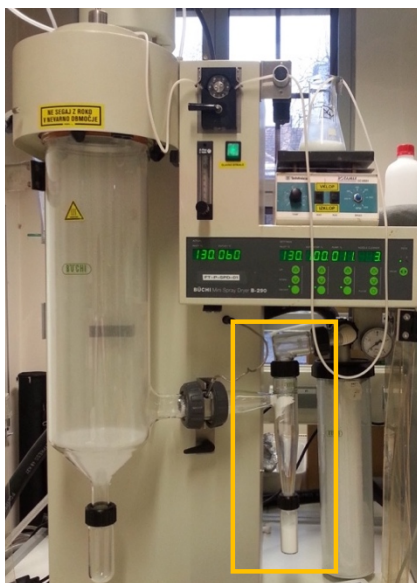
nižje vsebnosti SMES tudi lažji, zato s tokom sušilnega zraka deloma uhajajo na filter in se izgubljajo iz sistema, saj kljub slabšemu izkoristku ni bilo opaznih izgub na stenah procesne posode, filter pa je bil ob koncu poskusa vidno zamašen. Pri razmerjih med SMES in nosilcem 1,5:1 in 2:1 pa so delci zaradi večje vsebnosti SMES ravno prav veliki (morda se več manjših tudi zlepi skupaj) in je zato izkoristek za dobrih 5 % boljši. Zmes neporoznih nosilcev Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1) ima v primerjavi z poroznima nosilcema pri razmerju SMES/nosilec = 1:1 primerljiv izkoristek. Tudi tu so prisotni ostanki produkta na procesni posodi, najverjetneje zaradi počasnejšega sušenja večjih delcev Avicela PH-101 (50 µm) (v primerjavi s Syloidom 244FP) in nezmožnosti prehajanja SMES v pore nosilca.



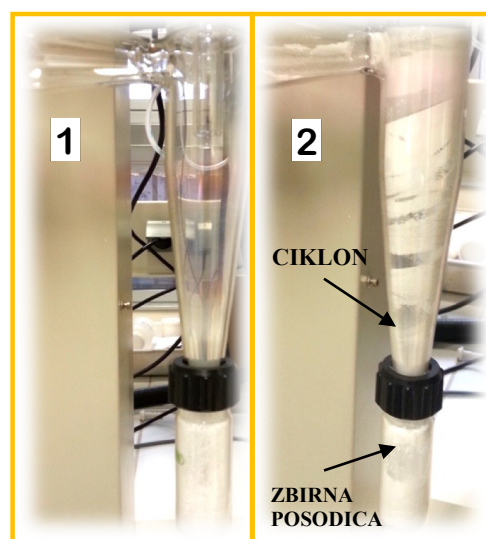
**Slika 18:** Vpliv časa mešanja disperzije za razprševanje v razmerju (SMES+ZU):Neusilin US2 = 1,5:1 (prvi stolpec pri vsakem času) in 2:1 (drugi stolpec pri vsakem času) na izkoristek procesa.



**Slika 19:** Vpliv vrste in deleža nosilca na izkoristek procesa sušenja z razprševanjem.



**Slika 20:** Sušilnik z razprševanjem Büchi Mini Spray Dryer B-290 z rumeno označenim ciklonom, kjer poteka glavno ločevanje delcev.



**Slika 21:** Povečan ciklonski del in primerjava obnašanja dveh različnih nosilcev: 1 - Syloid 244FP, 2 - Neusilin US2.



### 4.3 Vrednotenje trdnih samo-(mikro)emulgirajočih sistemov – S-S(M)ES

Učinkovitost pretvorbe tekočega SMES v trdno obliko s tehnologijo sušenja z razprševanjem smo vrednotili z različnimi metodami, katerih rezultati so predstavljeni v naslednjih podglavjih. S HPLC metodo smo določali vsebnost karvedilola ter z različnimi pristopi ugotavljali razloge in iskali rešitve za neskladje med eksperimentalno določeno in teoretično (izračunano) vsebnostjo ZU. Vizualno in s fotonsko korelacijsko spektroskopijo smo vrednotili učinkovitost redispergiranja in samo-(mikro)emulgiranja prahov, proučevali in primerjali profile sproščanja karvedilola iz različnih produktov ter z merjenjem nasipne in zbite gostote določali njihove pretočne lastnosti. Z metodo DSC smo vrednotili kristaliničnost karvedilola in s pomočjo SEM proučevali morfološke lastnosti produktov.

#### 4.3.1 Primerjava eksperimentalno določene in teoretične vsebnosti ZU

##### 4.3.1.1 Vpliv vrste nosilca in razmerja (SMES+ZU)/nosilec

Iz primerjave med eksperimentalno določeno in teoretično izračunano vsebnostjo karvedilola pri različnih razmerjih med SMES in nosilcem (Preglednica XVII) lahko ugotovimo, da je pri vseh formulacijah z razmerjem med SMES z ZU in nosilcem 1:1 (ne glede na vrsto nosilca) eksperimentalno določena vsebnost  $\approx 90\%$  teoretične vsebnosti. Za tehnologijo sušenja z razprševanjem je to visoka vrednost, saj vedno prihaja do določenih izgub ZU pri pripravi disperzije in med procesom razprševanja ter sušenja. Najvišje razmerje med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo je pri Neusilinu US2 (93 %), malo nižje pri kombinaciji Avicel PH-101/Aerosil 200 (90 %) in podobno pri Syloidu 244FP (89 %). Syloid XDP 3050 se je po izkoristku procesa in določeni vsebnosti ZU v produktih v začetnih poskusih izkazal za daleč najslabšega, zato smo ga izločili iz nadaljnjih študij. Pri produktih (SMES+ZU)/nosilec = 1,5:1 in 2:1 smo pri vseh uporabljenih nosilcih določili večji razkorak med eksperimentalno in teoretično vsebnostjo (75-80 %) kot pri produktih (SMES+ZU)/nosilec = 1:1, zato bi lahko sklepali, da SMES najprej zapolni zunanjo površino nosilca in večje pore. Pri večji količini dodanega SMES, le-ta verjetno prodre globlje v (manjše) pore, iz katerih se nato tudi težje sprosti. Iz primerjave teoretične vsebnosti ZU z eksperimentalno določeno je razvidno, da se 7-25 % ZU nekje med procesom bodisi izgubi bodisi se zadrži globoko v porah nosilca, iz katerih se pri uporabljenem postopku določanja vsebnosti ne uspe sprostiti. Morebitno zadrževanje ZU v porah lahko potrdimo na več načinov. Lahko določamo poroznost (porazdelitev velikosti por) nosilca pred in po vgradnji SMES z dušikovo ali živosrebrno porozimetrijo (62, 63). Drug način

obsega močnejše obdelovanje vzorca (z ultrazvočno sondo ali rotor-stator homogenizatorjem), saj obstaja možnost, da z uporabljenim postopkom (mešanje z magnetnim mešalom in v ultrazvočni kadički) ne uspemo spraviti celotne ZU iz por. Možen je tudi indirektn pristop, s katerim dokažemo, da se ZU ne izgublja nikjer drugje v procesu (oz. v bistveno manjši meri) – torej je edina možnost, da se zadržuje v porah. V ta namen smo izvedli več poskusov, predstavljenih v naslednjih podpoglavjih.

**Preglednica XVII:** Primerjava nosilcev po razmerju med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo karvedilola ter izkoristku procesa; čas mešanja diseprijze je 24 h, procesni parametri optimalni.

Vrsta nosilca in razmerje (SMES+ZU) : NOSILEC		določena vsebnost [mg/g]	teoretična vsebnost [mg/g]	določena vsebnost	izkoristek procesa [%]
				teoretična vsebnost [%]	
<i>Syloid 244FP</i>	1 : 1	45,6	51,3	88,9	78,5
	1,5 : 1	47,6	61,2	77,7	84,1
	2 : 1	51,1	68,0	75,2	83,0
<i>Neusilin US2</i>	1 : 1	47,3	50,9	93,0	75,9
	1,5 : 1	47,6	60,9	78,1	75,9
	2 : 1	54,6	67,6	80,8	75,1
<i>Avicel PH-101/ Aerosil 200 (1/1)</i>		46,2	51,1	90,4	80,5
<i>Syloid XDP 3050</i>	1 : 1	40,9	50,7	80,6	62,3
	2 : 1	51,7	67,3	76,9	50,8

V preteklih študijah se je izkazalo, da je **zadrževanje v porah nosilca (nepopolna desorpcija)** odvisna od fizikalnih lastnosti nosilcev in (ireverzibilnih) interakcij med ZU, lipidi/PAS in nosilci (12, 62). Predvideva se, da manjši premer in večja dolžina por (povezana z velikostjo delcev) zmanjšata učinkovitost močenja in difuzijo SMES z ZU iz por. Pomembna je tudi oblika por – za t.i. »bottle-neck« pore z ozkim vratom je značilna visoka absorpcijska kapaciteta in nizka desorpcija. Za manjšo specifično površino nosilcev je bolj verjetna adsorpcija SMES v obliki tankih filmov na zunanjo površino kot pa odlaganje v porah. Slaba stran le-te pa je nižja kapaciteta vgradnje SMES in manjša vsebnost ZU, ki seveda ni zaželena. Tudi sestava tekočega SMES ima vpliv na sproščanje iz mezoporoznega nosilca Neusilina US2. *Gumaste in sodelavci* so ugotovili, da v nekaterih primerih (večja vsebnost trigliceridov) ob kontaktu trdne formulacije z vodo pride do tvorbe gela, ki zamaši pore nosilca in onemogoča nadaljnje sproščanje tekočega SMES z ZU, ki tako ostane ujeta v porah (posledično eksperimentalno določimo manjšo vsebnost ZU) (64). *Williams s sodelavci* pa je ugotovil, da kratkoverižni lipidi in večji delež hidrofilnih PAS omogočajo učinkovitejšo desorpcijo (63). V našem primeru vpliva na zadrževanje v porah verjetno kombinacija večih dejavnikov.

#### 4.3.1.2 Vpliv časa mešanja disperzije pred razprševanjem

Disperzije smo pred razprševanjem izpostavili različnim časom mešanja (predpostavljali smo, da bo s časom SMES prodrl globlje v pore in se težje sprostil). V skladu s postavljeno *tretjo hipotezo* smo ugotovili, da čas mešanja pri poroznih nosilcih ne vpliva le na izkoristek procesa, ampak tudi na razmerje med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo karvedilola oz. na delež ZU, ki je na voljo za sproščanje po pretvorbi v trdno obliko. Medtem ko ima pri Neusilinu US2 čas mešanja zelo velik vpliv na izkoristek procesa in na razkorak med teoretično in eksperimentalno določeno vsebnostjo, smo pri Syloиду 244FP zaznali le manjši vpliv na izkoristek. Rezultati v Preglednici XVIII nam prikazujejo, da daljši čas mešanja disperzije pri vseh testiranih razmerjih SMES/Neusilin US2 izboljša izkoristek procesa solidifikacije SMES, a tudi zmanjša eksperimentalno določeno vsebnost ter s tem razmerje med slednjo in teoretično vsebnostjo (pri razmerju 1:1 celo za 20 %, pri ostalih razmerjih pa je ta vpliv bistveno manjši (pri razmerju 1,5:1) oz. ni izražen (pri razmerju 2:1). Iz tega lahko sklepamo, da manjša eksperimentalno določena vsebnost ni posledica slabšega izkoristka, ampak sta parametra ravno v obratnem sorazmerju. Slednje je enostavno posledica tega, da daljši kot je čas mešanja, več časa ima SMES za porazdeljevanje (globlje) v nosilec – zato je izkoristek procesa boljši, zaostanek ZU v porah pa večji (in posledično nižja eksperimentalno določena vsebnost). V nasprotju s poroznimi nosilci pa ima pri neporoznih (Avicel PH-101/Aerosil 200 = 1/1) čas mešanja (1 dan vs. 1 teden) zanemarljiv vpliv na izkoristek procesa in na razmerje med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo karvedilola. Slednje je prav tako v skladu s pričakovanji  *tretje hipoteze*.

**Preglednica XVIII:** Vpliv časa mešanja disperzije za razprševanje na razmerje med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo karvedilola ter na izkoristek procesa solidifikacije SMES pri poroznih (Neusilin US2) in neporoznih nosilcih (Avicel PH-101/Aerosil 200 = 1/1).

RAZMERJE (SMES+ZU) : NOSILEC	čas mešanja	določena vsebnost [mg/g]	teoretična vsebnost [mg/g]	določena vsebnost	
				teoretična vsebnost [%]	izkoristek procesa [%]
<i>Neusilin US2</i>					
1 : 1	1 dan	47,3	50,9	93,0	75,9
1 : 1	2 dni	37,2	50,9	73,0	83,5
1,5 : 1	1 dan	47,6	60,9	78,0	75,9
1,5 : 1	2 dni	45,8	60,9	75,2	85,1
2 : 1	1 dan	54,6	67,6	80,8	75,1
2 : 1	2 dni	54,4	67,4	80,8	84,4
<i>Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1)</i>					
1 : 1	1 dan	46,2	51,1	90,4	80,5
1 : 1	1 teden	44,7	51,2	87,3	83,5

### 4.3.1.3 Vpliv predhodne zapolnitve por nosilca s praznim SMES

Pri poskusu predhodne zapolnitve por nosilca je bil naš cilj delno zapolniti pore poroznih nosilcev s tekočim praznim SMES (v disperzijo smo ga dodali v razmerju 0,5 glede na nosilec). Po 1 dnevu mešanja disperzije smo v slednjo dodali še SMES z ZU (v razmerju 1,5 glede na nosilec) ter disperzijo ponovno 1 dan mešali. Na ta način smo želeli doseči, da bi najgloblje pore nosilca zapolnil prazen SMES, zaradi česar bi se SMES z ZU porazdelil manj globoko v pore in se posledično lažje v celoti desorbiral.

Kot je razvidno iz primerjave spodnje Preglednice XIX s Preglednico XVII (razmerje 1,5:1; brez predhodne zapolnitve por in isti čas mešanja 24 h), nismo uspeli doseči želenega cilja, saj smo v tem primeru prišli še do večjega razkoraka med teoretično in eksperimentalno določeno vsebnostjo ZU. Možna razlaga je, da se je prazni SMES nalagal najprej na zunanjo površino nosilca in so se pore zapolnile šele kasneje – po dodatku SMES z vgrajeno ZU. Upoštevati je potrebno tudi to, da smo nosilec najprej zapolnili z praznim SMES, zato je po dodatku SMES z ZU lahko prišlo do večjih izgub slednjega; za sisteme SMES/nosilec z razmerjem 2:1 (kar ustreza našemu celokupnemu razmerju) so namreč značilni nižji izkoristki procesa. Možno je tudi, da je prišlo do difundiranja ZU iz zunanjih predelov por v globlje (s praznim SMES predhodno zapolnjene) pore, iz katerih se le-ta ne more sprostiti.

*Gumaste in sodelavci* so proučevali sproščanje formulacij iz Neusilina US2 in predstavili, da bi bilo pri mezoporoznih nosilcih smiselno predhodno oblaganje z viskoznim hidrofilnim vezivom (PVP K-90), ki bi zapolnil mikroporozno regijo (< 2 nm) in večinski del mezoporozne regije (2-50 nm). Tako bi preprečili dostop SMES v najmanjše pore, v katerih bi lahko ostal ujet ter obenem izboljšali močenje in olajšali sproščanje. Lahko pa bi poskusili z uporabo makroporoznega nosilca (> 50 nm) z ozko porazdelitvijo velikosti por, da bi bilo ob stiku formulacije z vodnim medijem olajšano močenje in emulgiranje (65).

**Preglednica XIX:** Vpliv predhodne zapolnitve por nosilca s praznim SMES na razmerje med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo karvedilola; čas mešanja disperzije je 24 h (nosilec in prazni SMES) + 24 h (po dodatku SMES z ZU), procesni parametri optimalni.

		določena vsebnost [mg/g]	teoretična vsebnost [mg/g]	$\frac{\text{določena vsebnost}}{\text{teoretična vsebnost}}$ [%]	izkoristek procesa [%]
<i>Syloid 244FP</i>	(0,5+1,5) : 1	31,4	49,5	63,5	83,2
<i>Neusilin US2</i>	(0,5+1,5) : 1	36,8	49,4	74,5	83,3

#### 4.3.1.4 Primerjava adsorpcijske metode z metodo sušenja z razprševanjem

Z adsorpcijsko metodo (Slika 22) smo želeli potrditi, da je za neujemanje med teoretično in eksperimentalno določeno vsebnostjo ZU res problem zadrževanje SMES z ZU v porah nosilca zaradi nepopolne desorpcije. Rezultati so prikazani v Preglednici XX. Ker je izkoristek pri obeh razmerjih (SMES+ZU)/nosilec skoraj 100 % (ni izgub med procesom pretvorbe v trdno obliko), razmerje med eksperimentalno in teoretično vsebnostjo pa je  $\approx 85$  %, smo dokazali, da se približno 15 % ZU ireverzibilno zadržuje v porah. Slednje potrjuje *peto hipotezo*.

**Preglednica XX:** Vpliv vrste in deleža nosilca na razmerje med eksperimentalno določeno in teoretično vsebnostjo karvedilola ter na izkoristek procesa pri adsorpcijski metodi.

Vrsta nosilca in razmerje (SMES+ZU) : NOSILEC		določena vsebnost [mg/g]	teoretična vsebnost [mg/g]	<b>določena vsebnost</b>	<b>izkoristek procesa [%]</b>
				<b>teoretična vsebnost [%]</b>	
<i>Syloid 244FP</i>	1 : 1	43,40	50,25	<b>86,37</b>	<b>98,19</b>
	2 : 1	55,70	66,69	<b>83,52</b>	<b>98,90</b>
<i>Neusilin US2</i>	1 : 1	42,55	50,00	<b>85,10</b>	<b>98,95</b>
	2 : 1	56,00	58,32	<b>84,03</b>	<b>99,17</b>



**Slika 22:** Princip adsorpcijske metode – vgrajevanje tekočega SMES v trdni nosilec z mešanjem s pestilom v terilnici.

#### 4.3.2 Samo-(mikro)emulgirajoče lastnosti S-S(M)ES

Oceno sposobnosti redispergiranja izdelanih S-S(M)ES smo določali vizualno z merjenjem časa redispergiranja. Ohranitev samo-(mikro)emulgirajočih lastnosti po pretvorbi v trdno obliko pa smo proučevali z merjenjem velikosti kapljic nastale (mikro)emulzije s fotonsko korelacijsko spektroskopijo. Pri obeh poskusih smo uporabili redčitev 1 g prahov/250 mL prečiščene vode.

S poskusom *merjenja časa redispergiranja* smo želeli ponazoriti, kako hitro ob stiku samo-(mikro)emulgirajočih prahov z vodnim medijem nastane (mikro)emulzija in je ZU na voljo za absorpcijo. Ker S-S(M)ES *in vivo* najprej pride v stik s kislim medijem želodca, bi bilo redispergiranje kvečjemu še hitrejše, saj je karvedilol rahlo bazičen in tako bolje topen v

kislem pH. Rezultati časov redispersiranja so prikazani v Prilogi II. Vsi časi so krajši od 60 s, kar je za naš namen ustrezno, saj se FO zadržuje v želodcu veliko dlje. Redispersiranje poteče najhitreje pri produktih z večjim razmerjem SMES(+ZU)/nosilec. Med nosilcema Syloid 244FP in Neusilin US2 skoraj ni razlike, medtem ko je pri mešanici Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1) čas redispersiranja nekoliko daljši.

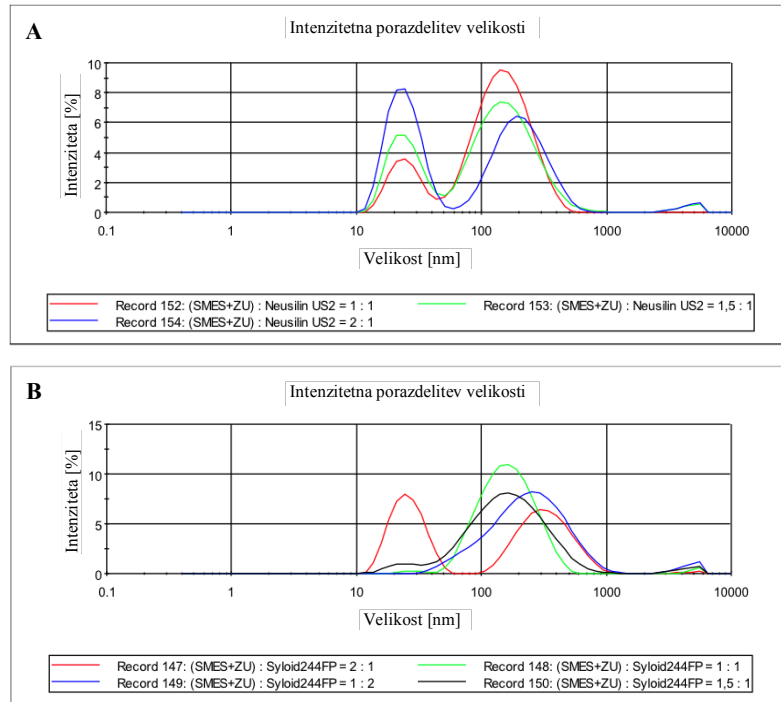
Rezultati *velikosti kapljic nastale (mikro)emulzije* po (re)dispersiranju tekočega SMES in izdelanih samo-(mikro)emulgirajočih prahov so predstavljeni v Preglednici XXI.

**Preglednica XXI:** Prikaz velikosti kapljic (povprečne in posameznih vrhov) po (re)dispersiranju tekočega SMES oz. S-S(M)ES v vodnem mediju (1 g/250 mL; 0,45 µm filter) in PDI, ki je merilo porazdelitve velikosti.

vzorec	povprečni premer kapljic d ± SD (nm)	PDI ± SD	Vrh 1 d (nm)	Vrh 2 d (nm)	Vrh 3 d (nm)
<b>SMES</b>	23,13 ± 0,16	0,072 ± 0,004	<b>25,03</b>	/	/
<b>SMES + ZU</b>	81,61 ± 1,188	0,458 ± 0,001	149,4	<b>21,93</b>	/
<b>TRDNI NOSILCI</b>					
Neusilin US2	142,2 ± 3,818	0,305 ± 0,007	223,4	32,82	/
Syloid 244FP	216,7 ± 6,223	0,345 ± 0,002	322,0	/	/
Avicel PH-101	219,8 ± 4,031	0,353 ± 0,018	306,3	52,07	5001
Aerosil 200	171,0 ± 2,263	0,195 ± 0,028	212,5	/	/
Syloid XDP 3050	174,6 ± 14,92	0,262 ± 0,006	214,8	4781	15,85
<b>S-S(M)ES brez ZU</b>					
SMES : Neusilin US2 = 1 : 1	56,07 ± 1,131	0,521 ± 0,013	179,7	<b>26,60</b>	4424
SMES : Neusilin US2 = 1,5 : 1	39,20 ± 0,382	0,454 ± 0,005	<b>26,89</b>	238,9	/
SMES : Neusilin US2 = 2 : 1	33,72 ± 0,233	0,419 ± 0,002	<b>25,39</b>	217,5	/
SMES : Syloid 244FP = 1 : 1	156,4 ± 3,606	0,371 ± 0,013	<b>210,3</b>	2943	/
SMES : Syloid 244FP = 1,5 : 1	67,89 ± 0,891	0,522 ± 0,021	188,2	<b>27,85</b>	/
SMES : Syloid 244FP = 2 : 1	52,07 ± 0,099	0,554 ± 0,000	262,8	<b>25,83</b>	/
SMES : (Avicel PH-101/Aerosil 200 = 1/1) = 1 : 1	102,2 ± 0,1414	0,410 ± 0,001	169,9	<b>25,25</b>	/
<b>S-S(M)ES + ZU</b>					
(SMES+ZU) : Neusilin US2 = 1 : 1	82,32 ± 18,37	0,453 ± 0,102	162,9	<b>26,44</b>	/
(SMES+ZU) : Neusilin US2 = 1,5 : 1	65,74 ± 9,032	0,531 ± 0,011	175,8	<b>25,83</b>	/
(SMES+ZU) : Neusilin US2 = 2 : 1	46,23 ± 3,193	0,652 ± 0,176	220,3	<b>24,84</b>	/
(SMES+ZU) : Syloid 244FP = 1 : 2	200,6 ± 28,99	0,379 ± 0,028	<b>278,8</b>	4607	/
(SMES+ZU) : Syloid 244FP = 1 : 1	147,6 ± 1,061	0,258 ± 0,006	<b>176,4</b>	5551	/
(SMES+ZU) : Syloid 244FP = 1,5 : 1	122,5 ± 3,035	0,422 ± 0,045	197,0	<b>23,64</b>	4406
(SMES+ZU) : Syloid 244FP = 2 : 1	51,64 ± 2,143	0,806 ± 0,006	354,8	<b>26,38</b>	2304
(SMES+ZU) : (Avicel PH-101/Aerosil 200 = 1/1) = 1 : 1	70,33 ± 3,635	1,000 ± 0,000	322,0	<b>21,00</b>	/
(SMES+ZU) : Syloid XDP 3050 = 1 : 1	165,1 ± 7,354	0,448 ± 0,019	294,2	<b>43,72</b>	4707
(SMES+ZU) : Syloid XDP 3050 = 2 : 1	46,15 ± 0,7142	0,485 ± 0,000	<b>33,90</b>	240,0	/

S poskusom smo želeli ugotoviti, če pretvorba v trdno obliko vpliva na velikost kapljic nastale (mikro)emulzije, v primerjavi s tekočim SMES. Na vrhu Preglednice XXI je predstavljena velikost kapljic po dispergiranju tekočega SMES brez (25 nm) in z ZU (22 nm). Pri praznem SMES imamo le en vrh, medtem ko je pri SMES z ZU prisoten dodatni vrh pri  $\approx 150$  nm, ki verjetno predstavlja delno oborjeno ZU. Predstavljene so tudi velikosti delcev samih nosilcev, ki so prisotni v S-S(M)ES, in smo jih morali izmeriti pred meritvami vzorcev, da smo lahko kasneje identificirali, kateri vrh pripada velikosti kapljic redispergiranega SMES (številke označene krepko). Če je v vzorcu več vrhov, so le-ti razporejeni po deležu kapljic/delcev s to velikostjo, od večjega (levo) proti manjšemu (desno). Pri primerjavi **velikosti kapljic** (mikro)emulzij po redispergiranju **S-S(M)ES** (različnih nosilcev) **brez in z ZU**, ugotovimo, da so si vrhovi zelo podobni, razlika je le v tem, da se ponekod spremeni vrstni red vrhov po deležu velikosti kapljic/delcev (Neusilin US2; razmerje 1,5:1 in 2:1). Možno je, da se je oborilo nekaj ZU pri večjih velikostih ( $\approx 150$  nm) in se je zato zmanjšal delež kapljic z velikostjo  $\approx 25$  nm, ki predstavlja mikroemulzijo.

Če se osredotočimo le na (mikro)emulzije, nastale po redispergiranju **S-S(M)ES z ZU**, lahko ugotovimo, da pri nosilcih Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1) in Neusilin US2 po redispergiranju vseh formulacij (različna razmerja SMES/nosilec) nastane mikroemulzija s približno enako velikostjo kapljic kot pri tekočem SMES. Kot je vidno na Sliki 23A, se z nižanjem deleža SMES v disperziji za razprševanje glede na Neusilin US2 manjša vrh pri  $\approx 25$  nm in večja vrh pri 160-220 nm, ki predstavlja delce nosilca. Na Sliki 23B, ki predstavlja produkte s Syloidom 244FP kot nosilcem, pa opazimo premik vrha SMES v desno. Z večanjem deleža nosilca iz dveh vrhov (rdeča krivulja, razmerje (SMES+ZU)/nosilec = 2:1) nastaja eden širši, ki se pomika proti večjim velikostim. Ker se z večanjem deleža nosilca večja tudi specifična površina (in število por), lahko sklepamo, da je razlog za ta pojav v adsorpciji PAS na porozni nosilec, ki se kaže v manj učinkovitem emulgiranju in spremembi velikosti kapljic (mikro)emulzije iz  $\approx 25$  nm proti  $\approx 270$  nm. Po literaturnih podatkih je namreč znano, da se običajno v večji meri na nosilec ireverzibilno adsorbirajo PAS – slednjih je posledično v disperziji manj, zato je velikost kapljic nastale (mikro)emulzije vse večja (66). Ker iz formulacij na osnovi Syloida 244FP v vseh primerih (razen pri SMES/nosilec = 2:1) nastanejo emulzije z velikostjo kapljic  $> 100$  nm, te sisteme po definiciji opredelimo kot trdne samo-emulgirajoče sisteme (S-SES). Šesto hipotezo, ki predvideva, da se z večanjem deleža poroznega nosilca večja velikost kapljic po redispergiranju, tako lahko le delno potrdimo, saj ugotovitve ne veljajo za oba porozna nosilca, ampak le za Syloid 244FP.



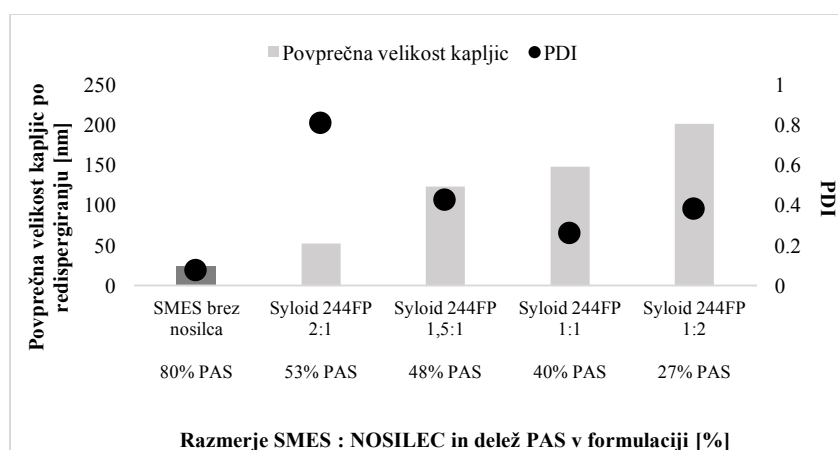
**Slika 23:** Intenzitetna porazdelitev velikosti kapljic (mikro)emulzije po redispergiranju S-S(M)ES, ki ima za trdni nosilec Neusilin US2 (A) oz. Syloid 244FP (B).

Še bolj nazorno je pojav večanja velikosti kapljic nastale (mikro)emulzije z manjšanjem deleža PAS v trdni formulaciji predstavljen na Sliki 24, ki prikazuje povprečno velikost kapljic po redispergiranju in PDI v odvisnosti od deleža PAS v trdni formulaciji. Skrajno levo je prikazan tekoči SMES brez nosilca, z enim vrhom in zato PDI blizu 0 (0,072), ki kaže na monodisperzno porazdelitev velikosti. Vsi ostali produkti so S-S(M)ES in si od leve proti desni sledijo po padajočem razmerju SMES/nosilec (tj. vsebujejo vedno več nosilca in manj SMES). Pri produktu z razmerjem SMES/Syloid 244FP = 2:1 opazimo nekoliko večjo povprečno velikost kapljic, ki pa dejansko ni realna, saj sta na Sliki 23B vidna 2 vrhova, in sicer vrh SMES pri velikostih  $\approx 25$  nm in vrh nosilca (in morebiti oborjene ZU) pri  $\approx 350$  nm. Prav zaradi tega je tudi PDI zelo visok (0,8), ki kaže na polidisperzno porazdelitev. S padajočim razmerjem SMES/nosilec (od 1,5:1 proti 1:2) se večja povprečna velikost kapljic, PDI pa se zaradi združitve vrhov S(M)ES in nosilca zmanjša (0,3-0,4) in kaže bolj proti monodisperzni porazdelitvi velikosti, kar pa v našem primeru ni zaželeno, saj stremimo k SMES, z velikostjo kapljic  $< 50$  nm.

Na podlagi nasprotujočih si rezultatov v predhodnjih študijah sklepamo, da je obnašanje Neusilina US2 odvisno od lastnosti tekoče formulacije in ZU. *Van Speybroeck in sodelavci* so ugotovili, da je pri modelni ZU danazol prišlo *in vivo* do zmanjšanja BU po pretvorbi v trdno obliko zaradi zmanjšane sposobnosti emulgiranja (2-3 $\times$  večje kapljice). Raziskovalci



sklepajo, da je vzrok nepopolna desorpcija PAS (Cremophor EL) z nosilca in posledično slabša solubilizacija ZU. Nasprotno pri ciklosporinu ni bilo opazne spremembe v velikosti kapljic po pretvorbi sistema v trdno obliko z Neusilinom US2 (1, 62, 66). V naši raziskavi se je karvedilol v trdnih samo-(mikro)emulgirajočih prahovih z Neusilinom US2 obnašal enako kot ciklosporin (ni bilo spremembe v velikosti kapljic), nasprotno pa smo izrazil pojav povečanja velikosti kapljic zaznali pri redispergiranju produktov s Syloidom 244FP.



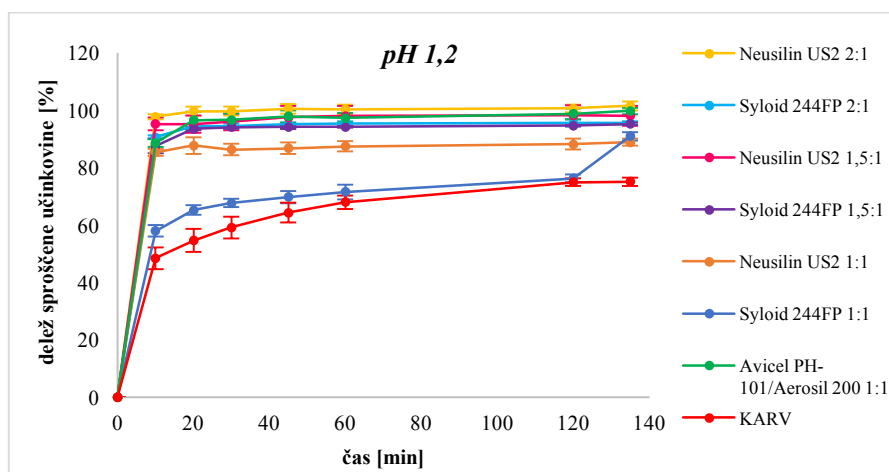
**Slika 24:** Spreminjanje velikosti kapljic po redispergiranju (leva ordinatna os, stolpični diagram) in PDI (desna ordinatna os, točkovni diagram) v odvisnosti od deleža PAS v formulaciji.

### 4.3.3 *In vitro* preskus sproščanja karvedilola

S preskusom sproščanja smo želeli ugotoviti razliko v hitrosti in obsegu sproščanja karvedilola iz izdelanih samo-(mikro)emulgirajočih prahov, v primerjavi z raztapljanjem kristalinične ZU, in s tem potrditi *sedmo hipotezo*. Raziskovali smo vpliv vrste trdnega nosilca (porozni/neporozni) in njegovega deleža v formulaciji na sproščanje vgrajene ZU ter spremljali odvisnost profila sproščanja ZU od pH medija (raztopina HCl s pH 1,2 in fosfatni pufer s pH 6,8). Rezultati so predstavljeni na Slikah 25 in 26 v obliki profilov sproščanja, ki prikazujejo delež sproščene ZU (%), izračunan glede na eksperimentalno določeno vsebnost ZU, v odvisnosti od časa. Za primerjavo je podan profil raztapljanja kristalinične ZU. V Preglednici XXII so še s številčnimi parametri prikazane razlike v hitrosti sproščanja (nižje vrednosti parametrov  $t_{10\%}$  in  $t_{50\%}$  pomenijo hitrejše sproščanje) in obsegu sproščanja (višje vrednosti parametrov  $Q_{10\text{min}}$  in  $Q_{60\text{min}}$  pomenijo večji obseg sproščanja). Z vsemi izdelanimi S-S(M)ES smo bistveno povečali hitrost in obseg sproščanja oz. raztapljanja karvedilola, v primerjavi z raztapljanjem njegove kristalinične oblike.

Če se osredotočimo le na sproščanje pri **pH 1,2** (Slika 25, Preglednica XXII), je iz profilov sproščanja in izračunanih parametrov razvidno, da je pri poroznih nosilcih sproščanje

hitreje iz produktov, ki imajo vgrajeno večjo količino tekočega SMES glede na trdni nosilec (2:1 > 1,5:1 > 1:1) in hitreje pri produktih na osnovi Neusilina US2 kot Syloida 244FP. Če primerjamo vse nosilce (porozne in neporozne) pri razmerju (SMES+ZU)/nosilec = 1:1 (temno modra, oranžna in zelena krivulja), vidimo, da se ZU najhitreje sprošča iz formulacije na osnovi neporoznih nosilcev (Avicel PH-101/Aerosil 200 = 1/1;  $t_{10\%}$  = 1,13), kar potrjuje *osmo hipotezo*. Slednje je verjetno posledica počasnejše desorpcije tekoče formulacije (z ZU) iz porozne strukture preostalih dveh nosilcev, izmed katerih se ZU počasneje sprošča iz produkta na osnovi Syloida 244FP ( $t_{10\%}$  = 1,73). Rezultati so v skladu z meritvami sposobnosti samoemulgiranja, v okviru katerih smo v poglavju 4.3.2 s fotonsko korelacijsko spektroskopijo pri produktu (SMES+ZU)/Syloid 244FP = 1:1 določili 7× večjo velikost kapljic po redispergiranju (176,4 nm) v primerjavi z ostalimi produkti ( $\approx$  25 nm). Iz tega lahko sklepamo, da je počasnejše sproščanje ZU v tem primeru posledica manj učinkovitega samo-mikroemulgiranja. Če je le-to učinkovito (kar je tudi zaželeno), v GIT pride do hitrega nastanka majhnih kapljic, intra- in intersubjektna variabilnost je zmanjšana, kar ima za posledico poleg povečane tudi bolj predvidljivo absorpcijo (1).



**Slika 25:** Profili sproščanja karvedilola iz S-S(M)ES in raztapljanje kristaliničnega karvedilola (KARV) v raztopini HCl s pH 1,2. S-S(M)ES so predstavljeni z imenom nosilca in razmerjem (SMES+ZU)/nosilec.

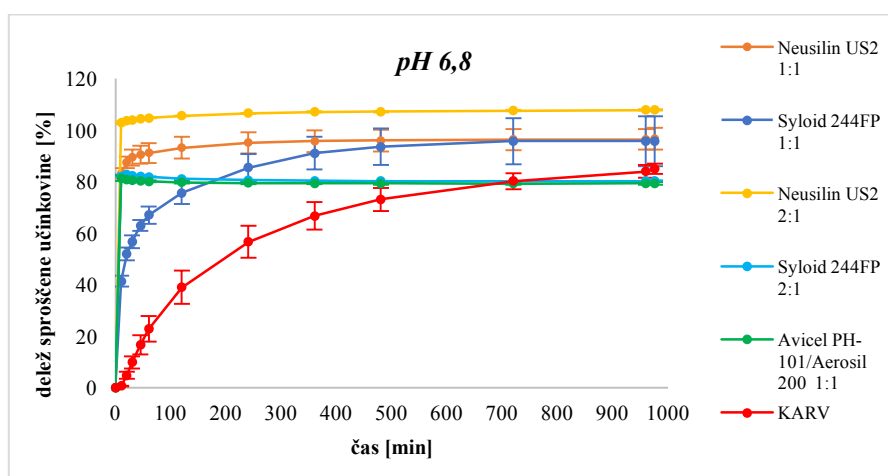
Če primerjamo profile sproščanja pri *pH 1,2* (Slika 25) *in 6,8* (Slika 26) ugotovimo, da so razlike med posameznimi profili trdnih formulacij bolj izrazite pri pH 6,8, predvsem je večje odstopanje profila raztapljanja kristalinične ZU – razlog je v boljši topnosti karvedilola v kislem kot alkalnem zaradi šibko bazičnih lastnosti amina v njegovi strukturi.

V mediju s *pH 6,8* izstopata profila sproščanja dveh izdelanih S-S(M)ES: (SMES+ZU)/Syloid 244FP = 2:1 in (SMES+ZU)/(Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1)) = 1:1, saj imata izredno veliko hitrost sproščanja, a nižji obseg – v 16 h se ni sprostil več kot 80

% ZU. Njuna skupna lastnost je, da smo ju testirali zadnja po vrsti (po 3-mesečnem času shranjevanja vzorcev pri sobni temperaturi), zato obstaja možnost, da je SMES (in z njim ZU) s časom prodrl globlje v pore oz. je prišlo do močnejše (ireverzibilne) adsorpcije na površino nosilca.

**Preglednica XXII:** Parametri sproščanja  $t_{10\%}$ ,  $t_{50\%}$  (čas, ko se sprosti 10 oz. 50 % ZU) in  $Q_{10min}$ ,  $Q_{60min}$  (delež v 10 oz. 60 min sproščene ZU) za S-S(M)ES pri pH 1,2 in 6,8; KARV pomeni kristalinični karvedilol.

VRSTA NOSILCA	RAZMERJE (SMES+ZU) : NOSILEC	pH 1,2				pH 6,8			
		$t_{10\%}$ [min]	$t_{50\%}$ [min]	$Q_{10min}$ [%]	$Q_{60min}$ [%]	$t_{10\%}$ [min]	$t_{50\%}$ [min]	$Q_{10min}$ [%]	$Q_{60min}$ [%]
Neusilin US2	2:1	1,02	5,12	97,63	100,23	0,97	4,86	102,80	104,67
	1,5:1	1,05	5,25	95,17	97,86	/	/	/	/
	1:1	1,17	5,86	85,31	87,37	1,20	6,00	83,27	91,10
Syloid 244FP	2:1	1,10	5,52	90,60	95,23	1,22	6,09	82,06	81,85
	1,5:1	1,14	5,71	87,49	94,14	/	/	/	/
	1:1	1,73	8,63	57,95	71,49	2,42	18,29	41,27	66,97
Avicel PH-101/ Aerosil 200 (1/1)	1:1	1,13	5,65	88,51	97,29	1,23	6,15	81,36	80,12
KARV	/	2,07	12,59	48,40	67,93	30,37	195,4	0,62	22,80



**Slika 26:** Profili sproščanja karvedilola iz S-S(M)ES in raztapljanje kristaliničnega karvedilola (KARV) v fosfatnem pufru s pH 6,8. S-S(M)ES so predstavljeni z imenom nosilca in razmerjem (SMES+ZU)/nosilec.

To je v skladu s literaturnimi podatki, v katerih so *Gumaste in sodelavci* proučevali vpliv pretečenega časa (od izdelave S-S(M)ES do izvedbe preskusa sproščanja) na profil sproščanja. Popolna sprostitvev odmerka (> 80 %) je bila ugotovljena le, če je sproščanje potekalo na dan izdelave, delež sproščene ZU je nato postopoma upadal, ker naj bi tekoči SMES z ZU migriral globlje v proste pore adsorbenta, iz katerih je desorpcija otežena (65). Možen razlog je tudi potencialna kemijska nestabilnost (nenasičenih) lipidov in PAS po

njihovi adsorpciji na veliko specifično površino nosilcev, ki še olajša njihovo hidrolizo in peroksidacijo. Silikati lahko kot nečistote vsebujejo tudi kovinske ione, ki delujejo kot katalizatorji teh reakcij. Vsi ti dejavniki vplivajo na razgradnjo ZU, zato jo čez čas lahko pri sproščanju detektiramo manj (64). V prihodnje bi bila smiselna izvedba stabilnostne študije za naše formulacije, v okviru katere bi spremljali odvisnost profila sproščanja ZU od časa staranja vzorcev pri izbranih pogojih shranjevanja.

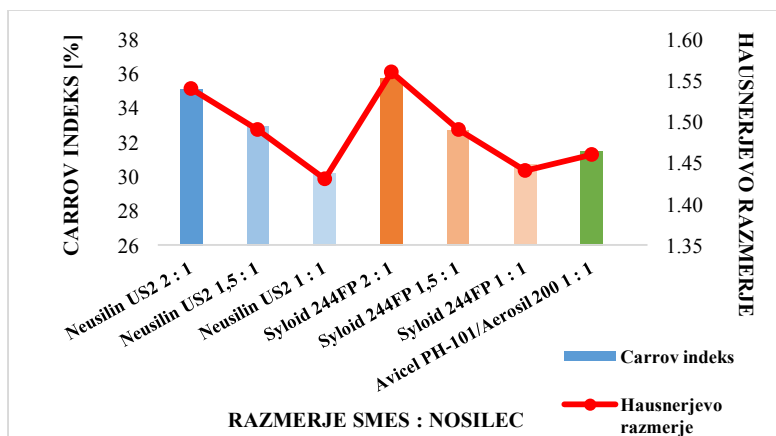
S tako hitrim sproščanjem in sprostitvi (pri večini produktov) skoraj celotnega odmerka že v prvi točki odvzema vzorca (Preglednica XXII, parameter  $Q_{10min}$  pri vseh izdelanih produktih bistveno večji kot pri kristalinični ZU), bi morda lahko dosegli tudi nasičenje encimov, s katerimi se karvedilol predsistemske metabolizira v jetrih in omogočili, da večja količina ZU pride v sistemski krvni obtok v nemetabolizirani obliki. Tako bi zmanjšali vpliv glavnega dejavnika (predsistemske presnove), ki je odgovoren za nizko BU karvedilola. Glede na rezultate preskusov sproščanja lahko potrdimo, da je tako uporaba SMES kot tudi njegova solidifikacija s tehnologijo sušenja z razprševanjem smiselna pri izboljšanju BU slabo vodotopne ZU iz BCS razreda II (karvedilola). Z vgradnjo le-te v samo-(mikro)emulgirajoče prahove smo v vseh primerih dosegli bistveno izboljšanje hitrosti in obsega sproščanja/raztapljanja ZU (v primerjavi z njeno kristalinično obliko), kar potrjuje *sedmo hipotezo*.

#### 4.3.4 Pretočne lastnosti S-S(M)ES

Pretočne lastnosti so izredno pomembne pri polnjenju praškov v kapsule ali stiskanju v tablete. Prav zato smo jih pri naših produktih tudi vrednotili, in sicer s farmakopejsko metodo določanja *Carrovega indeksa in Hausnerjevega razmerja*. Zanja smo se odločili zaradi majhnih količin izdelanih produktov, ki bi jih težko ovrednotili po drugi metodi. Produkte smo že na videz in otip lahko ocenili kot slabo pretočne, kar smo kasneje s to metodo tudi potrdili. Želeli smo jih primerjati in ugotoviti razlike med njimi, ki so vidne na Sliki 27.

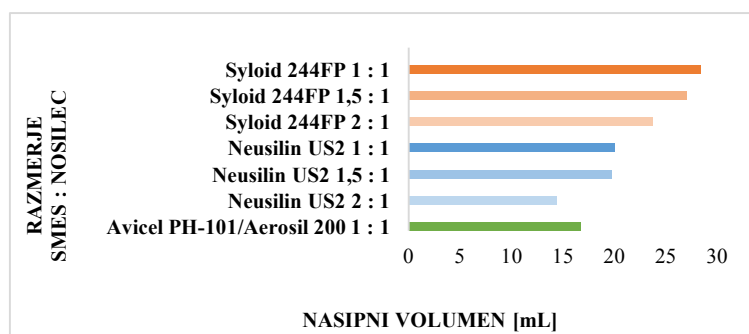
Meritve pretočnih lastnosti smo izvajali s produkti brez vgrajene ZU, ki smo jih izdelali v večjem obsegu; predvidevamo, da bi imele primerljive formulacije z ZU načeloma primerljive ali rahlo boljše pretočne lastnosti. S Slike 27 lahko razberemo, da z večanjem deleža nosilca v produktu padata vrednosti Carrovega indeksa in Hausnerjevega razmerja (boljše so pretočne lastnosti), kar potrjuje *deveto hipotezo*. Po farmakopejski lestvici pretočnih lastnosti, prikazani v Prilogi II, za produkta z Neusilinom US2 in Syloidom 244FP v razmerju SMES/nosilec = 1:1 lahko rečemo, da imata slabe pretočne lastnosti, vsi ostali

pa zelo slabe. Slednje bi bilo v nadaljnjem razvoju nujno izboljšati, in sicer z dodatkom drsil ali izdelavo granulata. Za mezoporozne silikatne nosilce so že v preteklih študijah ugotovili, da imajo slabe pretočne lastnosti (visok Carrov indeks in Hausnerjevo razmerje). Razlog je v adhezijskih in kohezijskih privlakih, ki se vzpostavijo med izredno majhnimi delci zaradi elektrostatskih interakcij in van der Waalsovih vezi (67).



**Slika 27:** Vrednotenje pretočnih lastnosti s Carrovim indeksom (leva ordinatna os, stolpci) in Hausnerjevim razmerjem (desna ordinatna os, rdeča krivulja).

Zanimala nas je tudi primerjava *nasipnih volumnov* izdelanih S-S(M)ES. Med eksperimentalnim delom smo opazili, da se nasipni volumni produktov pri različnih uporabljenih nosilcih med seboj precej razlikujejo, zato smo jih tudi izmerili. Neravna površina nasutih prahov, ki je posledica slabih pretočnih lastnosti, nam je otežila natančno odčitavanje. Rezultati so predstavljeni na Sliki 28. Največji nasipni volumen imajo produkti s Syloidom 244FP, sledi Neusilin US2 v razmerju SMES/nosilec = 1:1 in 1,5:1, nato kombinacija Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1) v razmerju SMES/nosilec = 1:1 in nazadnje Neusilin US2 v razmerju 2:1. Bolj je razmerje v prid nosilcu, večji je nasipni volumen ( $2:1 < 1,5:1 < 1:1$ ). Po eni strani želimo, da je le-ta čim manjši, da lahko čim večji odmerek ZU vgradimo v končno FO – kapsulo/tableto. Če imajo prahovi ustrezno stisljivost in kompaktibilnost, je primernejša FO tableta, saj lahko v slednjo stisnemo tudi 2-3× več prahov, kot jih sprejme kapsula (58). Premajhni nasipni volumni pa vplivajo na slabši izkoristek procesa sušenja z razprševanjem, saj smo opazili, da večji delež produkta ostane na stenah procesne posode in ciklona. Izdelani S-S(M)ES nimajo ekstremno majhnih ali velikih nasipnih volumnov, z izjemo produktov s Syloidom XDP 3050. Le-tega smo že v začetnih fazah razvoja izključili zaradi slabih izkoristkov, ki so delno lahko posledica tudi izredno majhnega nasipnega volumna.



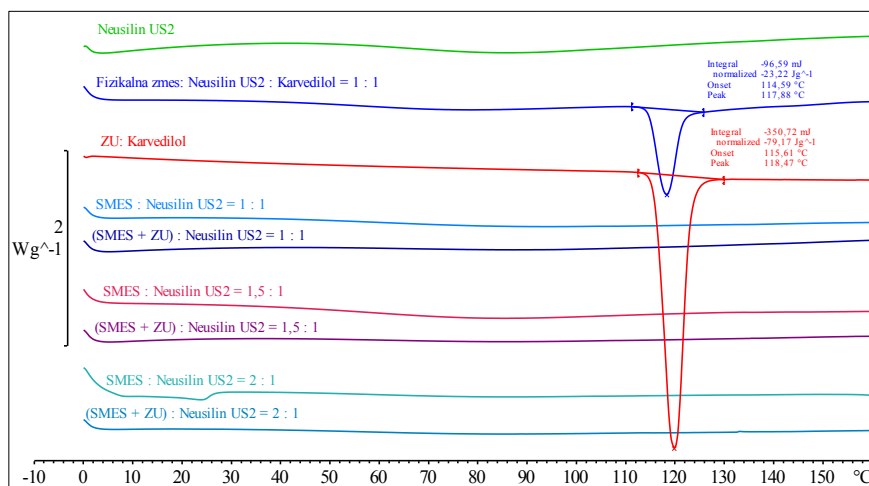
Slika 28: Nasipni volumni praznih S-S(M)ES v mL ( $m \approx 5$  g), z različnimi nosilci in razmerji SMES/nosilec.

#### 4.3.5 Diferenčna dinamična kalorimetrija

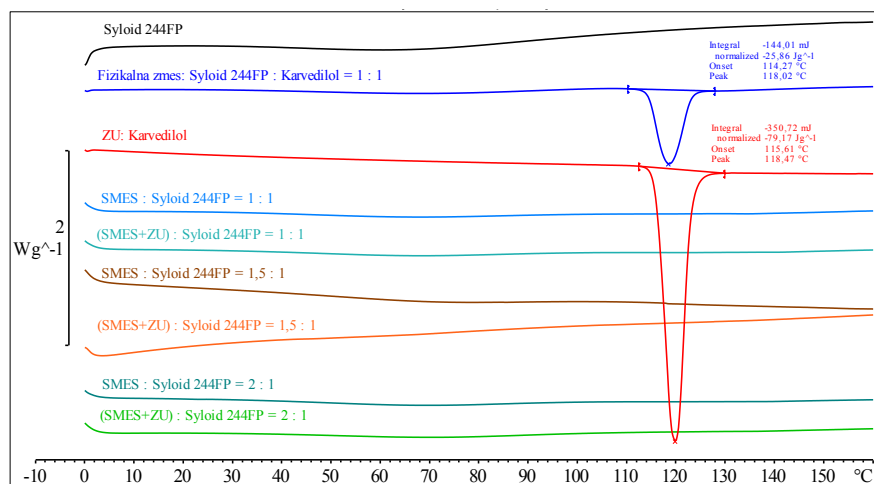
Z metodo diferenčne dinamične kalorimetrije (DSC) smo najprej proučili, če so uporabljeni trdni nosilci (za pretvorbo SMES v trdno obliko) kompatibilni s karvedilolom. Na DSC krivuljah za čisti karvedilol, trdne nosilce in fizikalne zmesi ZU in nosilca v razmerju 1:1 smo primerjali pozicijo ostrega endotermnega vrha pri 114-115 °C, ki predstavlja taljenje kristalov kristaliničnega karvedilola (50). Rezultati meritev so prikazani na Slikah 29, 30 in 31 (ločeno glede na uporabljene nosilce – Neusilin US2, Syloid 244FP in kombinacija Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1)). Kljub temu, da je bila temperatura tališča kristalinične ZU 115,6 °C in se ni popolnoma skladala z literaturno vrednostjo, se pri nobeni od fizikalnih zmesi ni bistveno spremenila (za  $\approx 1$  °C), iz česar lahko sklepamo, da pri nobeni kombinaciji komponent ni prišlo do pomembnejših interakcij in so z vidika kompatibilnosti vsi uporabljeni trdni nosilci primerni za solidifikacijo tekočega SMES s karvedilolom.

V nadaljevanju smo želeli potrditi *deseto hipotezo*, da se je ZU po pretvorbi tekočega SMES v trdno obliko s sušenjem z razprševanjem ohranila v raztopljenem oz. amorfem stanju. Slednje smo dokazovali posredno, z odsotnostjo talilnega vrha karvedilola na DSC krivuljah izdelanih S-S(M)ES, kar pomeni odsotnost kristalinične oblike ZU. S Slik 29, 30 in 31 je razvidno, da je talilni vrh opazen le pri čistem karvedilolu in fizikalnih zmesih. Razlog za manjši vrh pri slednjih je v polovični količini ZU. Med DSC krivuljami S-S(M)ES brez in z vgrajeno ZU ni razlik; talilni vrh ZU (ne glede na vrsto nosilca in razmerje SMES/nosilec) ni prisoten, torej lahko sklepamo, da je le-ta raztopljen v SMES, molekularno dispergirana v trdnem nosilcu ali v amorfem stanju. Prednost metode sušenja z razprševanjem naj bi bila namreč tudi v tem, da morebiti prisotno oborjeno ZU tekom procesa pretvorimo v amorfno stanje, ki se raztaplja hitreje kot kristalinična oblika (12).

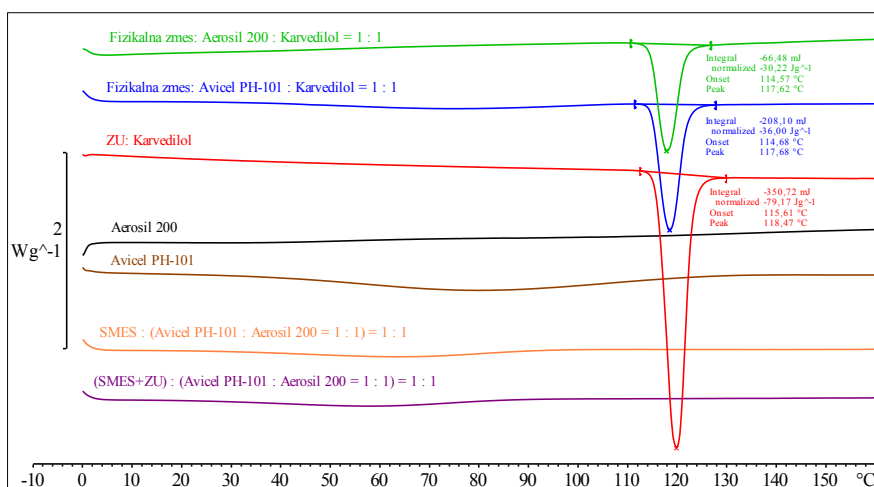
Če povzamemo, so rezultati v skladu z *deseto hipotezo*, saj je karvedilol v vseh izdelanih samo-(mikro)emulgirajočih prahovih v molekularno dispergiranem ali amorfem stanju.



**Slika 29:** DSC krivulje za ZU karvedilol, trdni nosilec Neusilin US2, fizikalno zmes nosilec/ZU v razmerju 1:1 ter S-S(M)ES na osnovi Neusilina US2 (različna razmerja SMES/nosilec; brez in z ZU).



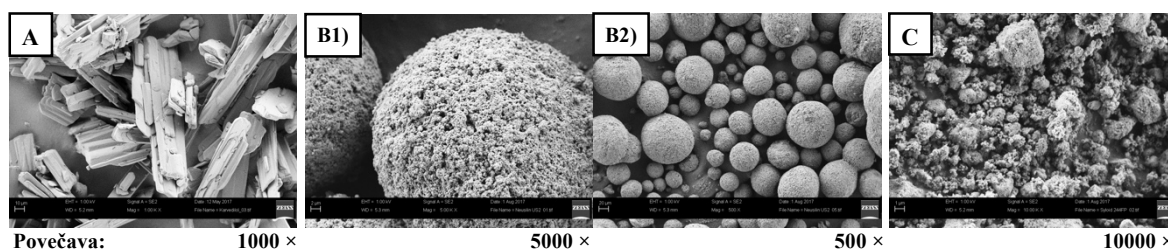
**Slika 30:** DSC krivulje za ZU karvedilol, trdni nosilec Syloid 244FP, fizikalno zmes nosilec/ZU v razmerju 1:1 ter S-S(M)ES na osnovi Syloida 244FP (različna razmerja SMES/nosilec; brez in z ZU).



**Slika 31:** DSC krivulje za ZU karvedilol, trdna nosilca Avicel PH-101 in Aerosil 200, obe fizikalni zmesi nosilec/ZU v razmerju 1:1 ter S-S(M)ES na osnovi Avicela PH-101 in Aerosila 200 (1/1); brez in z ZU.

#### 4.3.6 Morfološke lastnosti S-S(M)ES

Z vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM) smo proučevali površino samo-(mikro)emulgirajočih prahov, izdelanih s tehnologijo sušenja z razprševanjem. Zanimalo nas je, kako vrsta trdnega nosilca in količina adsorbiranega tekočega SMES z ZU na nosilec vplivata na morfološke lastnosti trdnih produktov. S primerjavo izdelanih S-S(M)ES na osnovi poroznih nosilcev (Neusilina US2 in Syloida 244FP) s praznima nosilcema (Sliki 32B in 32C) smo proučevali vpliv procesa solidifikacije na obliko delcev in zapolnitev por. Pozorni smo bili tudi na morebitno prisotnost kristalčkov oborjene ZU v izdelanih produktih, identifikacijo pa nam je omogočila posneta slika kristaliničnega karvedilola (Slika 32A).

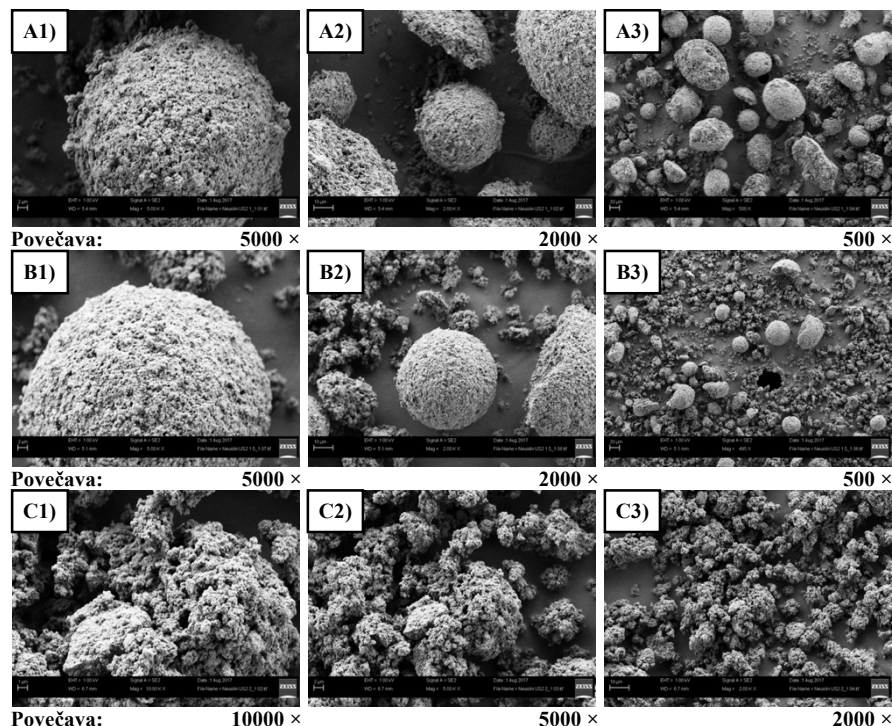


**Slika 32:** Slike kristaliničnega karvedilola pri 1000-kratni povečavi (A) in dveh poroznih nosilcev – Neusilina US2 pri 5000- in 500-kratni povečavi (B1, B2) ter Syloida 244FP pri 10000-kratni povečavi (C), posnete z vrstičnim elektronskim mikroskopom.

Na Sliki 33 je prikazana površina produktov na osnovi *Neusilina US2* pri različnih povečavah. Pri praznem nosilcu (Slika 32B) je dobro vidna njegova porozna struktura in delci v obliki sferičnih granul. Po adsorpciji tekočega SMES z ZU v razmerju 1:1 (Slika 33A) lahko opazimo, da pore niso še popolnoma zapolnjene, glede na spremenjeno površino pa lahko sklepamo, da se je del SMES z ZU zadržal tudi na površini delcev poroznega nosilca. Z večanjem deleža SMES z ZU se porozna struktura postopoma zakriva, površina delcev pa še vedno ostaja groba. Čeprav solidifikacija z metodo sušenja z razprševanjem (zaradi atomizacije disperzije in takojšnjega odparevanja kontinuirane faze) pogosto rezultira v nastanku dobro ločenih sferičnih delcev pravilnih oblik (12), je v predhodnih študijah opisan tudi možen razpad delcev Neusilina US2 pod močnim tlakom (68), kar je opazno v našem primeru. Nekateri delci so prelomljeni in vidni so okruški, na katere se adsorbira SMES z ZU, zato prihaja do agregacije med delci (Slika 33A3-C3). Skrajni primer je na Sliki 33C, ki predstavlja produkt v razmerju (SMES+ZU)/nosilec = 2:1 pri različnih povečavah. Posameznih sferičnih granul skoraj ni več opaznih, ogromno pa je okruškov, ki se zaradi velike vsebnosti SMES z ZU lepijo tudi na ostanke sferičnih granul (zato le-te izgubijo obliko). Manjši delež pravilno oblikovanih sferičnih granul korelira s slabšimi pretočnimi lastnostmi in manj optimalnimi lastnostmi za tabletiranje. *Gumaste in sodelavci*



so v raziskavah na Neusilinu US2 ugotovili, da le-ta ohrani dobre pretočne lastnosti, stisljivost in kompaktilnost do razmerja SMES/nosilec = 1:1 (16).

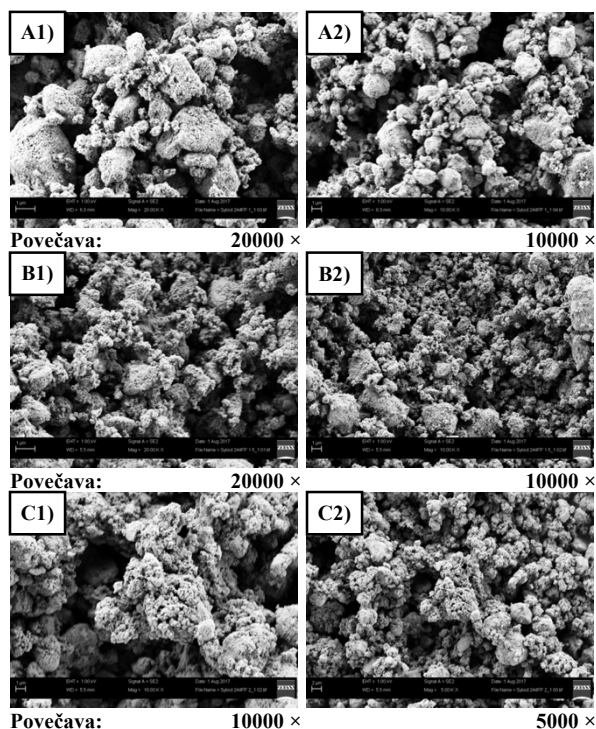


**Slika 33:** Slike produktov na osnovi poroznega nosilca Neusilina US2 (izdelanih s sušenjem z razprševanjem) v razmerju (SMES+ZU)/nosilec = 1:1 (A), 1,5:1 (B) pri 5000-, 2000- in 500-kratni povečavi (1-3) ter 2:1 (C) pri 10000-, 5000- in 2000-kratni povečavi (1-3), posnete z vrstičnim elektronskim mikroskopom.

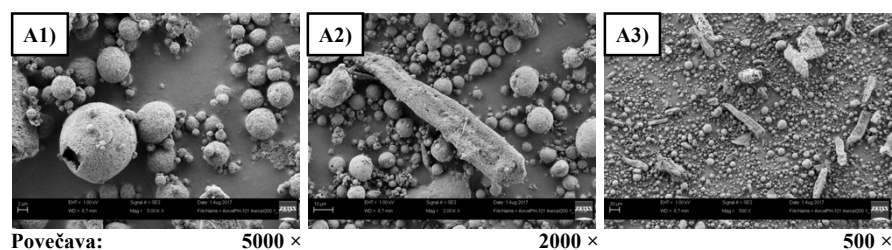
Slika 34 prikazuje površinske lastnosti produktov na osnovi *Syloida 244FP* pri različnih povečavah. Delci so za razliko od Neusilina US2 nepravilnih oblik in zelo različnih velikosti. Z večanjem količine adsorbiranega SMES z ZU (Slika 34A-C) se postopoma zabrisuje meja med posameznimi delci, saj prihaja do njihovega povezovanja in nastanka aglomeratov. Mejna vrednost, ko SMES zapolni pore in se v večji meri začne adsorbirati na površino, je razmerje (SMES+ZU)/Syloid 244FP = 1:1. Ko vrednost presežemo, se slednje odraža v poslabšanju pretočnih lastnosti, a izboljšanju hitrosti sproščanja (sproščanje SMES z ZU je hitrejšo z zunanje površine nosilca kot iz notranjosti por) (opisano v poglavjih 4.3.3 in 4.3.4).

Slika 35 prikazuje površinske lastnosti produktov na osnovi kombinacije neporoznih nosilcev *Avicela PH-101 in Aerosila 200 (1/1)* pri različnih povečavah. Pod vrstičnim elektronskim mikroskopom so opazni delci sferične in paličaste oblike. Znano je, da se izredno drobni delci Aerosila 200 (velikosti  $\approx 15$  nm) že sami združujejo v rahle agregate. Če nanje adsorbiramo tekoči SMES, pa se tvorijo relativno velike granule (50-300  $\mu\text{m}$ ), ki jih najverjetneje predstavljajo sferični delci, dobro vidni na Sliki 35A1 (16). Iz literaturnih podatkov za SEM posnetke praznih nosilcev (69) lahko sklepamo, da delci paličaste oblike

predstavljajo na Avicel PH-101 adsorbiran SMES (Slika 35A2). Tudi Avicel PH-101 je lahko prisoten v obliki sferičnih delcev, ki so rezultat preoblikovanja morfologije delcev s sušenjem z razprševanjem. Ker gre za kombinacijo neporoznih nosilcev, se SMES lahko adsorbira le na površino nosilcev, kar korelira s slabšimi pretočnimi lastnostmi in hitrejšim sproščanjem ZU v primerjavi s poroznima silikatnima nosilcema pri enakem razmerju  $(SMES+ZU)/nosilec = 1:1$  (predstavljeno v poglavjih 4.3.3 in 4.3.4).



**Slika 34:** Slike produktov na osnovi poroznega nosilca Syloida 244FP (izdelanih s sušenjem z razprševanjem) v razmerju  $(SMES+ZU)/nosilec = 1:1$  (A), 1,5:1 (B) pri 20000- in 10000-kratni povečavi (1-2) ter 2:1 (C) pri 10000- in 5000-kratni povečavi (1-2), posnete z vrstičnim elektronskim mikroskopom.



**Slika 35:** Slike produkta na osnovi kombinacije neporoznih nosilcev Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1) (izdelanega s sušenjem z razprševanjem) v razmerju  $(SMES+ZU)/nosilec = 1:1$  (A) pri 5000-, 2000- in 500-kratni povečavi (1-3), posnete z vrstičnim elektronskim mikroskopom.

Pri proučevanju izdelanih S-S(M)ES z vrstičnim elektronskim mikroskopom nikjer nismo opazili karvedilola v kristalinični obliki (Slika 32A), kar dodatno potrjuje, da je le-ta najverjetneje v molekularno dispergiranim ali amorfem stanju.

## 5. SKLEPI

V sklopu magistrskega dela smo s tehnologijo sušenja z razprševanjem uspešno pretvorili tekoči SMES z vgrajenim karvedilolom (slabo vodotopna ZU, razred II po BCS) v trdno obliko. Uporabili smo porozne (Neusilin US2, Syloid 244FP, Syloid XDP 3050) in neporozne trdne nosilce (Avicel PH-101/Aerosil 200 = 1/1) v različnih razmerjih glede na tekoči SMES. Uspešnost pretvorbe smo potrdili z vrednotenjem nastalih S-S(M)ES. Syloid XDP 3050 smo kmalu izločili iz raziskovanja zaradi slabih izkoristkov in nizke vsebnosti vgrajene ZU. Doseženi cilji so predstavljeni v obliki *hipotez*, ki smo jih potrdili oz. ovrgli.

- Dokazali smo, da imajo nastavitve procesnih parametrov sušenja z razprševanjem bistven vpliv na izkoristek procesa in tako potrdili **prvo hipotezo**.  $T_{in}$  smo nastavili na 130-140 °C, hitrost črpalke na 10-11 %, aspirator na 100 % in višino na rotamtru na 50 mm. Parametre smo optimizirali tako, da smo  $T_{out}$  vzdrževali v temperaturnem intervalu od 59-61 °C, ko je bilo sušenje najučinkovitejše in izkoristek procesa največji.
- Po uspešno optimiziranih procesnih parametrih smo potrdili tudi **drugo hipotezo**, da je sušenje z razprševanjem primerna metoda za solidifikacijo SMES s karvedilolom, s katero smo uspeli vgraditi SMES v/na porozna nosilca Neusilin US2 in Syloid 244 FP do razmerja SMES/nosilec = 2:1. Pri zmesi neporoznih nosilcev Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1) pa smo dosegli uspešno pretvorbo pri razmerju SMES/nosilec = 1:1.
- Čas mešanja disperzije (z nosilci in SMES z ZU) pred razprševanjem je imel pri poroznem nosilcu Neusilinu US2 velik vpliv na izkoristek procesa in na (ne)ujemanje med eksperimentalno in teoretično vsebnostjo ZU. Dlje časa smo disperzijo pred razprševanjem mešali, globlje v pore je prodril SMES z ZU, zato je bil izkoristek procesa večji, vendar eksperimentalno določena vsebnost ZU manjša. V nasprotju pa je imel pri kombinaciji neporoznih nosilcev Avicel PH-101/Aerosil 200 (1/1) čas mešanja na oba vrednotena parametra zanemarljiv vpliv. Opisane ugotovitve potrjujejo **tretjo hipotezo**.
- **Četrto hipotezo**, da se z večanjem deleža SMES v disperziji za razprševanje znižuje izkoristek procesa, smo ovrgli. Izkoristek procesa se je pri Syloidu 244FP z naraščanjem razmerja SMES/nosilec v disperziji celo povečeval (79 % pri 1:1, 84 % pri 2:1 in 1,5:1). Pri Neusilinu US2 pa je bil malo nižji (76 %) in enak ne glede na razmerje SMES/nosilec.
- Čeprav so porozni nosilci zelo učinkoviti pri solidifikaciji SMES, obstaja tveganje za nepopolno desorpcijo formulacije iz por. S primerjavo sušenja z razprševanjem in adsorpcijske metode nam je uspelo potrditi **peto hipotezo**, saj je zadrževanje SMES z ZU

v porah nosilca res vplivalo na manjšo določeno vsebnost ZU. Kljub skoraj 100 % izkoristku pretvorbe z adsorpcijsko metodo, je bila določena vsebnost le 85 % teoretične.

- Redispergiranje vseh izdelanih S-S(M)ES je poteklo v manj kot minuti in po pretvorbi v trdno obliko se je ohranila sposobnost samo-emulgiranja. **Šesto hipotezo**, ki predvideva, da se z večanjem deleža poroznega nosilca večja velikost kapljic po redispergiranju, lahko delno potrdimo, saj ugotovitev velja le za Syloid 244FP. Najverjetneje je razlog za manj učinkovito samo-emulgiranje v adsorpciji PAS na nosilec. Pri vseh ostalih nosilcih (ne glede na razmerje SMES/nosilec) pa je bila velikost nastalih kapljic enaka in  $< 50$  nm.
- Iz profilov sproščanja je razvidno, da se je karvedilol iz S-S(M)ES sprostil hitreje in v večjem obsegu kot se je raztapljala kristalinična ZU. To potrjuje **sedmo hipotezo**, saj smo z vgradnjo ZU v tekoči SMES in pretvorbo v trdno obliko izboljšali njeno raztapljanje. Potrditi smo uspeli tudi **osmo hipotezo**, saj sta bila pri enakem razmerju med SMES z ZU in nosilcem, obseg in hitrost sproščanja večja iz neporoznih kot iz poroznih nosilcev.
- Potrdili smo **deveto hipotezo**, ki predvideva, da imajo boljše pretočne lastnosti prahovi z večjim deležem nosilca. Ker pa smo vsem izdelanim S-S(M)ES določili dokaj slabe pretočne lastnosti, bi bilo slednje pred polnjenjem samo-(mikro)emulgirajočih prahov v kapsule ali stiskanjem v tablete nujno izboljšati z dodatkom drsil ali izdelavo granulata.
- Z metodo DSC smo določili odsotnost kristalinične oblike karvedilola v vseh izdelanih S-S(M)ES in tako potrdili **deseto hipotezo**. To pomeni, da je ZU v molekularno dispergiranem ali amorfnem stanju.

V sklopu raziskovalnega dela za magistrsko nalogo smo uspešno izdelali in ovrednotili samo-(mikro)emulgirajoče prahove z vgrajenim karvedilolom ter tako dosegli zastavljene cilje. V prihodnje bi bilo smiselno izvesti še teste s simulacijo prebave (*in vitro* lipoliza), ker sproščanje ZU iz S-S(M)ES ni nadzorovano le z dispergiranjem in samo-emulgiranjem formulacije, ampak tudi z encimsko razgradnjo lipidnih komponent.

Za potrditev izboljšanja BU karvedilola, kar je glavni namen vgradnje ZU v SMES, bi bile potrebne dodatne raziskave z *in vitro* in *in vivo* metodami. Predvidevamo, da bi zaradi zelo hitrega sproščanja ZU iz S-S(M)ES prišlo do bistvenega povečanja BU, saj bi z nasičenjem metabolnih encimov lahko deloma zaobšli obsežen predsistemiški metabolizem karvedilola. Le-temu bi se lahko izognili tudi z limfatično absorpcijo ali inhibicijo encimskih sistemov s PEG 400 in Cremophorjem RH40 (sestavini SMES). Slednja inhibirata tudi P-gp ekskretorni prenašalec, kar bi lahko še dodatno prispevalo k dvigu BU karvedilola.

## 6. LITERATURA

- (1) Yetukuri K, Sudheer P: Approaches to development of Solid-Self Micron Emulsifying Drug Delivery System: Formulation Techniques and Dosage Forms – A Review. *Int J Pharm Sci Res* 2012; 3(10): 3550-3558.
- (2) Weerapol Y, Limmatvapirat S, Jansakul C, Takeuchi H, Sriamornsak P: Enhanced dissolution and oral bioavailability of nifedipine by spontaneous emulsifying powders: Effect of solid carriers and dietary state. *Eur J Pharm Biopharm* 2015; 91: 25-34.
- (3) Patel S, Jani G, Patel M: Solid Self Emulsifying Drug Delivery System: An Emerging Dosage Form for Poorly Bioavailable Drugs. *Inventi Rapid* 2012; NDDS 4: 1-7.
- (4) Cirri M, Roghi A, Valleri M, Mura P: Development and characterization of fast-dissolving tablet formulations of glyburide based on solid self-emulsifying systems. *Eur J Pharm Biopharm* 2016; 104: 19-29.
- (5) Pouton CW: Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. *Eur J Pharm Sci* 2006; 29(3-4): 278-287.
- (6) Kang JH, Oh DH, Oh Y-K, Yong CS, Choi H-G: Effects of solid carriers on the crystalline properties, dissolution and bioavailability of flurbiprofen in solid self-nanoemulsifying drug delivery system (solid SNEDDS). *Eur J Pharm Biopharm* 2012; 80(2): 289-297.
- (7) Čerpnjak K, Zvonar A, Vrečer F, Gašperlin M: Characterization of naproxen-loaded solid SMEDDSs prepared by spray drying: The effect of the polysaccharide carrier and naproxen concentration. *Int J Pharm* 2015; 485(1-2): 215-228.
- (8) Jannin V, Musakhanian J, Marchaud D: Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. *Adv Drug Deliv Rev* 2008; 60(6): 734-746.
- (9) Hauss DJ: Oral Lipid-Based Formulations – Enhancing the Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs, Informa Healthcare USA, New York, 2007: 107-127.
- (10) Kalepu S, Manthina M, Padavala V: Oral lipid-based drug delivery systems – an overview. *Acta Pharm Sin B* 2013; 3(6): 361-372.
- (11) Pouton CW, Porter CJH: Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies. *Adv Drug Deliv Rev* 2008; 60(6): 625-637.

- (12) Tan A, Rao S, Prestidge CA: Transforming Lipid-Based Oral Drug Delivery Systems into Solid Dosage Forms: An Overview of Solid Carriers, Physicochemical Properties, and Biopharmaceutical Performance. *Pharm Res* 2013; 30(12): 2993-3017.
- (13) Čerpnjak K, Zvonar A, Gašperlin M, Vrečer F: Lipid-based systems as a promising approach for enhancing the bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Acta Pharm* 2013; 63(4): 427-445.
- (14) Rahman MA, Hussain A, Hussain MS, Mirza MA, Iqbal Z: Role of excipients in successful development of self-emulsifying/microemulsifying drug delivery system (SEDDS/SMEDDS). *Drug Dev Ind Pharm* 2012; 39(1): 1-19.
- (15) [http://demonstrations.wolfram.com/BasicTernaryPhaseDiagram/HTMLImages/index.en/popup\\_1.jpg](http://demonstrations.wolfram.com/BasicTernaryPhaseDiagram/HTMLImages/index.en/popup_1.jpg) (dostopano 7.3.2017)
- (16) Gumaste SG, Pawlak SA, Dalrymple DM, Nider CJ, Trombetta LD, Serajuddin ATM: Development of solid SEDDS, IV: Effect of Adsorbed Lipid and Surfactant on Tableting Properties and Surface Structures of Different Silicates. *Pharm Res* 2013; 30(12): 3170–3185.
- (17) <http://www.buchi.com/en/products/spray-drying-and-encapsulation/mini-spray-dryer-b-290> (dostopano 9.3.2017)
- (18) Cal K, Sollohub K: *Spray Drying Technique. I: Hardware and Process Parameters.* Wiley InterScience 2009; 99(2): 575-586.
- (19) Paudel A, Worku ZA, Meeus J, Guns S, Van den Mooter G: Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. *Int J Pharm* 2013; 453(1): 253-284.
- (20) <https://www.ulprospector.com/en/eu/Food/Detail/957/362536/Capmul-MCM-EP> (dostopano 23.3.2017)
- (21) [http://www.abiteccorp.com/wp-content/files\\_mf/1448286807CapmulMCMEPTDSI11.pdf](http://www.abiteccorp.com/wp-content/files_mf/1448286807CapmulMCMEPTDSI11.pdf) (dostopano 23.3.2017)
- (22) <http://www.abiteccorp.com/product-lines/capmul> (dostopano 23.3.2017)
- (23) Prajapati HN, Dalrymple DM, Serajuddin ATM: A Comparative Evaluation of Mono-, Di- and Triglyceride of Medium Chain Fatty Acids by Lipid/Surfactant/Water Phase Diagram, Solubility Determination and Dispersion Testing for Application in Pharmaceutical Dosage Form Development. *Pharm Res* 2012; 29(1): 285-305.
- (24) [http://www.gorenjske-lekarne.si/si/galenski-izdelki/galenski-izdelki\\_2/izdelek/1032/ricinovo-olje](http://www.gorenjske-lekarne.si/si/galenski-izdelki/galenski-izdelki_2/izdelek/1032/ricinovo-olje) (dostopano 27.3.2017)

- 
- (25) European Pharmacopoeia (Ph. Eur.), 9th Ed., Council of Europe, Strasbourg 2016: Volume I: 362-365, Volume II: 1965-1966, 1967-1968.
- (26) Rowe RC, Sheskey PJ, Owen SC: Handbook of Pharmaceutical Excipients, Fifth Edition, Pharmaceutical Press & American Pharmacists Association, USA & UK, 2006: 128-129, 132-134, 188-190, 418-421, 572-578.
- (27) [https://en.wikipedia.org/wiki/Ricinoleic\\_acid#/media/File:Ricinoleic\\_acid.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Ricinoleic_acid#/media/File:Ricinoleic_acid.svg) (dostopano 27.3.2017)
- (28) <https://pharmaceutical.basf.com/en/Drug-Formulation/Kolliphor-RH40.html> (dostopano 29.3.2017)
- (29) <https://www.ulprospector.com/en/na/PersonalCare/Detail/75/5202/Cremophor-RH-40> (dostopano 28.3.2017)
- (30) <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/07076?lang=en&region=SI> (dostopano 28.3.2017)
- (31) [http://www.rumapel.com.ar/pharma\\_excipientes/ficha\\_tecnica/Kolliphor\\_RH\\_40.pdf](http://www.rumapel.com.ar/pharma_excipientes/ficha_tecnica/Kolliphor_RH_40.pdf) (dostopano 28.3.2017)
- (32) Christiansen A, Backensfeld T, Denner K, Weitschies W: Effects of non-ionic surfactants on cytochrome P450-mediated metabolism in vitro. *Eur J Pharm Biopharm* 2011; 78(1): 166-172.
- (33) [https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/2012/Excipolyoxyethylene\\_castor\\_oil\\_derivativesC001\\_default.png](https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/2012/Excipolyoxyethylene_castor_oil_derivativesC001_default.png) (dostopano 29.3.2017)
- (34) Obreza A, Bevc B, Baumgartner S, Sollner Dolenc M, Humar M: Pomožne snovi v farmaciji: od njihovega poimenovanja do vloge v zdravilu, Spletni učbenik za študente farmacije, industrijske farmacije in kozmetologije, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo in ZRC SAZU, Inštitut za slovenski jezik Frana Ramovša, Slovenija, 2015: 29-30, 142-143, 166.
- (35) <http://www.mpbio.com/product.php?pid=02151912&country=190> (dostopano 30.3.2017)
- (36) Johnson BM, Charman WN, Porter CJH: An In Vitro Examination of the Impact of Polyethylene Glycol 400, Pluronic P85, and Vitamin E d-alpha-Tocopheryl Polyethylene Glycol 1000 Succinate on P-Glycoprotein Efflux and Enterocyte-Based Metabolism in Excised Rat Intestine. *AAPS PharmSci* 2002; 4(4): 1-13.
- (37) [http://www.neusilin.com/multicms/neusilin/pdf/news/29/2\\_neusilin\\_newsletter\\_nov07.pdf](http://www.neusilin.com/multicms/neusilin/pdf/news/29/2_neusilin_newsletter_nov07.pdf) (dostopano 30.3.2017)

- (38) <http://www.neusilin.com/product/> (dostopano 30.3.2017)
- (39) <http://blogs.egu.eu/divisions/sss/files/2014/09/Tetrahedra.jpg> (dostopano 30.3.2017)
- (40) <https://www.ulprospector.com/en/na/Food/Detail/984/107455/SYLOID-244-FP>  
(dostopano 30.3.2017)
- (41) [https://grace.com/pharma-and-biotech/en-us/Documents/Syloid/M298\\_Syloid244FPSilica\\_TechInfo.pdf](https://grace.com/pharma-and-biotech/en-us/Documents/Syloid/M298_Syloid244FPSilica_TechInfo.pdf) (dostopano 31.3.2017)
- (42) <http://files.instrument.com.cn/filescenter/20101113/152384.pdf> (dostopano 31.3.2017)
- (43) [https://grace.com/pharma-and-biotech/en-us/Documents/Syloid/M309c\\_Syloid\\_FP\\_XDP\\_Tech\\_Note\\_0915.pdf](https://grace.com/pharma-and-biotech/en-us/Documents/Syloid/M309c_Syloid_FP_XDP_Tech_Note_0915.pdf) (dostopano 31.3.2017)
- (44) [https://grace.com/pharma-and-biotech/en-us/Documents/M458\\_SyloidXDP\\_Flyer\\_final2\\_HR.pdf](https://grace.com/pharma-and-biotech/en-us/Documents/M458_SyloidXDP_Flyer_final2_HR.pdf) (dostopano 2.4.2017)
- (45) [https://grace.com/pharma-and-biotech/en-us/Documents/Syloid/M477\\_SyloidXDP\\_Herbal\\_AppNote\\_HR.pdf](https://grace.com/pharma-and-biotech/en-us/Documents/Syloid/M477_SyloidXDP_Herbal_AppNote_HR.pdf) (dostopano 2.4.2017)
- (46) <http://celluloseether.com/microcrystalline-cellulose-avicel/> (dostopano 4.4.2017)
- (47) <http://www.fmcbiopolymer.com/Pharmaceutical/Products/Avicelforsoliddoseforms.aspx> (dostopano 4.4.2017)
- (48) <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/11365?lang=en&region=SI>  
(dostopano 4.4.2017)
- (49) <https://www.aerosil.com/www2/uploads/productfinder/AEROSIL-200-EN.pdf>  
(dostopano 4.4.2017)
- (50) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/carvedilol#section=Top> (dostopano 4.4.2017)
- (51) Brook CS, Chen W, Dell'orco PC, Katrinic LM, Louvet AM, Oh CK, Spoons PG, Werner C: Carvedilol phosphate salts and/or solvates thereof, corresponding compositions, and/or methods of treatment. United States Patent, Patent number 7,759,384, Date of patent Jul. 20, 2010.
- (52) Hamed R, Awadallah A, Sunoqrot S, Tarawneh O, Nazzal S, AlBaraghtli T, Al Sayyad J, Abbas A: pH-Dependent Solubility and Dissolution Behaviour of Carvedilol – Case Example of a Weakly Basic BCS Class II Drug. AAPS PharmSciTech 2016; 17(2): 418-426.



- (53) Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G: Rang and Dale's Pharmacology, Seventh Edition, Elsevier/Churchill Livingstone, Edinburgh, Scotland, 2012: 187-189.
- (54) [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/3F56FFFFE9C58A85C12579C2003F4C6B/\\$File/s-016380.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/3F56FFFFE9C58A85C12579C2003F4C6B/$File/s-016380.pdf); SmPc Coryol (dostopano 7.3.2017)
- (55) [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2009/020297s029lbl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/020297s029lbl.pdf); SmPc Coreg (dostopano 7.3.2017)
- (56) Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, Sixth Edition, Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, 2008: 774, 776.
- (57) Bubnič Šturm S: Uporaba fotonske korelacijske spektroskopije za analizo velikosti koloidnih delcev. Diplomaska naloga 2011, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo.
- (58) Planinšek O, Zajc N, Srčič S: Uporaba diferenčne dinamične kalorimetrije v farmaciji. Farm Vestn 2001; 52: 173-185.
- (59) Samardžija Z: Osnove metod SEM in AFM za preiskave površin. Vakuumist 2004; 24(1/2): 4-7.
- (60) Tepeš J: Razvoj samo-mikroemulgirajočih sistemov na osnovi mešanih gliceridov za dostavo slabo vodotopne učinkovine karvedilola. Diplomaska naloga 2016, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo.
- (61) Kukovec A: Izdelava samo-emulgirajočih trdnih zmesi z resveratrolom z metodo sušenja z razprševanjem. Diplomaska naloga 2014, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo.
- (62) Choudhari Y, Reddy U, Monsuur F, Pauly T, Hofer H, McCarthy W: Comparative evaluation of porous silica based carriers for lipids and liquid drug formulations. Mesoporous Biomater 2014; 1: 61-74.
- (63) Williams HD, Van Speybroeck M, Augustijns P, Porter CJH: Lipid-Based Formulations Solidified Via Adsorption onto the Mesoporous Carrier Neusilin<sup>®</sup> US2: Effect of Drug Type and Formulation Composition on In Vitro Pharmaceutical Performance. J Pharm Sci 2014; 103(6): 1734–1746.
- (64) Gumaste SG, Dalrymple DM, Serajuddin ATM: Development of Solid SEDDS, V: Compaction and Drug Release Properties of Tablets Prepared by Adsorbing Lipid-Based Formulations onto Neusilin<sup>®</sup> US2. Pharm Res 2013; 30(12): 3186-3199.

- 
- (65) Gumaste SG, Freire BOS, Serajuddin ATM: Development of solid SEDDS, VI: Effect of precoating of Neusilin<sup>®</sup> US2 with PVP on drug release from adsorbed self-emulsifying lipid-based formulations. *Eur J Pharm Sci* 2017; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2017.02.022>.
- (66) Van Speybroeck M, Williams HD, Nguyen T-H, Anby MU, Porter CJH, Augustijns P: Incomplete Desorption of Liquid Excipients Reduces the in Vitro and in Vivo Performance of Self-Emulsifying Drug Delivery Systems Solidified by Adsorption onto an Inorganic Mesoporous Carrier. *Mol Pharm* 2012; 9(9): 2750-2760.
- (67) McCarthy CA, Ahern RJ, Dontireddy R, Ryan KB, Crean AM: Mesoporous silica formulation strategies for drug dissolution enhancement: a review. *Expert Opin Drug Deliv* 2016; 13(1): 93-108.
- (68) Dovnik I: Izdelava in vrednotenje trdnih disperzij karvedilola v mezoporoznih nosilcih, izdelanih z metodo sušenja z razprševanjem. Diplomaska naloga 2013, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo.
- (69) Hindi SSZ: Microcrystalline Cellulose: The Inexhaustible Treasure for Pharmaceutical Industry. *Nanoscience and Nanotechnology Research* 2017; 4(1): 17-24.

## 7. PRILOGE

**Priloga I:** Vsi izvedeni poskusi sušenja z razprševanjem na napravi Büchi Mini Spray Dryer B-290.

ŠT. POSKUSA	NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU)/NOSILEC	LASTNOSTI PRODUKTA, TEŽAVE PRI PROCESU	MASA VHODNIH SNOVI		MASA PRODUKTA		NASTAVLJENI PROCESNI PARAMETRI	DEJANSKA T	IZKORISTEK PROCESA [%]	TEORETIČNA (IZRAČ.) VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA/TEORETIČNA VSEBNOST [%]
				m Syloid 244FP (g)	10,0	m produkt (g)	14,03						
<b>P1</b> BREZ ZU	<b>Syloid 244FP</b>	<b>1 : 1</b>	Lep, nelepljiv prašek. Na ciklonu se nič ni nabiralo, lepo viden vrtnec. Do tretje menjave zbirne posodice ni bilo izgub nikjer, potem se začnejo delci kar precej nabirati na procesni posodi in povezovalnih elementih.	vlaga (%)	/	vlaga (%)	/	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C T outlet = 50-51 °C	/	/	/	/
				m SMES (g)	10	m suh produkt (g)	/	Črpalka = 15-12 %					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	1,03	T vhodni zrak = 130 °C					
								Višina na rotametri = 40 mm					
<b>P2</b> BREZ ZU	<b>Syloid 244FP</b>	<b>2 : 1</b>	Lep, nelepljiv prašek. Produkt se je nabiral tudi po stenah ciklona, potrebno postrgati. Izgube tudi zaradi ostankov na dnu in stenah procesne posode.	m Syloid 244FP (g)	10,0	m produkt (g)	21,87	Aspirator = 100 %	T inlet = 135 °C T outlet = 45-50 °C	72,88	/	/	/
				vlaga (%)	5,09	vlaga (%)	1,69	Črpalka = 12-10 %					
				m suh Syloid 244FP (g)	9,49	m suh produkt (g)	21,50	T vhodni zrak = 135 °C					
				m SMES (g)	20,01			Višina na rotametri = 40 mm					
				voda	100 mL								
<b>P3</b> BREZ ZU	<b>Syloid XDP 3050</b>	<b>2 : 1</b>	Nastal je zelo masten in lepljiv produkt, ki ni v obliki lepega praška, ampak se delci skupaj združujejo v majhne skupke. Veliko produkta se lepi na stene procesne komore in ciklona. Na vrhu ciklona se vidi mastna tekočina, lipofilna faza. Problem je verjetno v preseženi kapaciteti nosilca za vgradnjo SMES. Slab izkoristek tudi zaradi majhne mase SMES in nosilca (10 g : 5 g) - velike izgube (%) glede na maso produkta.	m Syloid XDP 3050 (g)	5,00	m produkt (g)	9,5	Aspirator = 100 %	T inlet = 135 °C T outlet = 50 °C	62,40	/	/	/
				vlaga (%)	2,83	vlaga (%)	2,4	Črpalka = 10 %					
				m suh Syloid XDP 3050 (g)	4,86	m suh produkt (g)	9,27	T vhodni zrak = 135 °C					
				m SMES (g)	10			Višina na rotametri = 40 mm					
				voda	100 mL								

## PRILOGE

ŠT. POSKUSA	NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU)/NOSILEC	LASTNOSTI PRODUKTA, TEŽAVE PRI PROCESU	MASA VHODNIH SNOVI		MASA PRODUKTA		NASTAVLJENI PROCESNI PARAMETRI	DEJANSKA T	IZKORISTEK PROCESA [%]	TEORETIČNA (IZRAČ.) VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA/TEORETIČNA VSEBNOST [%]
P4	Syloid 244FP	1 : 1	Lep, nelepljiv prašek. Ni ostankov na ciklonu. Delci pa se nabirajo na procesni posodi (od tam izgube).	m Syloid 244FP (g)	10,00	m produkt (g)	13,57	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C T outlet = 45-50 °C	67,86	51,38	48,30	94,00
				vlaga (%)	5,09	vlaga (%)	2,29	Črpalka = 11 %					
				m suh Syloid 244FP (g)	9,50	m suh produkt (g)	13,26	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	10,04	m večji delci (g)	1,5	Višina na rotametri = 40 mm					
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti					
P5	Syloid 244FP	2 : 1	Lep, nelepljiv prašek. Potrebno postrgati s ciklona. Delci se nabirajo na dnu procesne posode. Ne padejo v posodico z večjimi delci. Sprememba pogojev procesa?	m Syloid 244FP (g)	10,00	m produkta (g)	19,94	Aspirator = 100 %	T inlet = 135 °C T outlet = 42-50 °C	65,95	66,67	36,75	55,12
				vlaga (%)	5,09	vlaga (%)	2,42	Črpalka = 11 %					
				m suh Syloid 244FP (g)	9,49	m suh produkt (g)	19,46	T vhodni zrak = 135 °C					
				m SMES (g)	20,01			Višina na rotametri = 40 mm					
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti					
P6	Syloid XDP 3050	1 : 1	Lep, nelepljiv prašek. Syloid XDP 3050 ima zelo majhne delce, disperzija ni tako mlečno bela kot pri Syloidu 244FP. Volumsko pride manj trdnega SMES. Veliko se nabira na dnu procesne posode in pada v posodico z večjimi delci.	m Syloid XDP 3050 (g)	10,00	m produkt (g)	12,64	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C T outlet = 44-47 °C	62,27	50,71	40,85	80,56
				vlaga (%)	2,83	vlaga (%)	2,83	Črpalka = 11 %					
				m suh Syloid XDP 3050 (g)	9,72	m suh produkt (g)	12,28	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	10	m večji delci (g)	6,36	Višina na rotametri = 40 mm					
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti					
P7	Syloid XDP 3050	2 : 1	Zaradi problema s poskusom P3. Poskus z večjo skupno maso? (20 g : 10 g namesto 10 g : 5 g). Ni se izkazalo za nič boljše. Veliko izgub. V zbirni posodici skoraj nič produkta, vse je nalepljeno po stenah ciklona (masten produkt). Opazna oljna faza na vrhu in stenah ciklona. V posodici z večjimi delci se je nabralo nekaj produkta.	m Syloid XDP 3050 (g)	10,00	m produkt (g)	15,32	Aspirator = 100 %	T inlet = 135 °C T outlet = 44-47 °C	50,76	67,31	51,75	76,88
				vlaga (%)	2,83	vlaga (%)	1,49	Črpalka = 11 %					
				m suh Syloid XDP 3050 (g)	9,72	m suh produkt (g)	15,09	T vhodni zrak = 135 °C					
				m SMES (g)	20,01	m večji delci (g)	9,83	Višina na rotametri = 40 - 45 mm					
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti					

## PRILOGE

ŠT. POSKUSA	NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU)/NOSILEC	LASTNOSTI PRODUKTA, TEŽAVE PRI PROCESU	MASA VHODNIH SNOVI		MASA PRODUKTA		NASTAVLJENI PROCESNI PARAMETRI	DEJANSKA T	IZKORISTEK PROCESA [%]	TEORETIČNA (IZRAČ.) VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA/TEORETIČNA VSEBNOST [%]
P8	Syloid 244FP	2 : 1	Proces lepo poteka, veliko produkta. Večji delci (kar jih je bilo) so se nalepili na dno procesne posode in malo po stenah - nič produkta v posodici z večjimi delci. Delci se med procesom lepijo na stene ciklona, a jih sproti odpihne v zbirno posodico.	m Syloid 244FP (g)	5,00	m produkt (g)	12,8	Aspirator = 100 %	T inlet = 135 °C	84,86	67,83	52,95	78,06
				vlaga (%)	5,19	vlaga (%)	2,25	Črpalka = 11 %	T outlet = 60-61 °C				
				m suh Syloid 244FP (g)	4,74	m suh produkt (g)	12,51	T vhodni zrak = 135 °C					
				m SMES (g)	10	m večji delci (g)	/	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti					
P9	Syloid 244FP	1 : 1	Večji delci so se nabirali na dnu procesne posode in padli v posodico z večjimi delci (bolj suha struktura kot P8). Če prištejemo produktu ostanek na procesni posodi in večje delce, dobimo ravno tako izkoristek 78 %, možne so izgube na filtru.	m Syloid 244FP (g)	10,01	m produkta (g)	15,63	Aspirator = 100 %	T inlet = 135 °C	78,45	51,31	45,60	88,87
				vlaga (%)	5,19	vlaga (%)	2,16	Črpalka = 11 %	T outlet = 60 °C				
				m suh Syloid 244FP (g)	9,49	m suh produkt (g)	15,29	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	10	m večji delci (g)	0,08	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti					
P10	Syloid 244FP	1,5 : 1	Na dno procesne posode se počasi lepijo delci. Proces poteka lepo. Lep vrtinec v ciklonu, brez lepljenja na stene ciklona.	m Syloid 244FP (g)	10,00	m produkt (g)	21,02	Aspirator = 100 %	T inlet = 135 °C	84,11	61,24	47,60	77,72
				vlaga (%)	5,19	vlaga (%)	2,01	Črpalka = 11 %	T outlet = 60 °C				
				m suh Syloid 244FP (g)	9,49	m suh produkt (g)	20,60	T vhodni zrak = 135 °C					
				m SMES (g)	15	m večji delci (g)	/	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti					
P11	Syloid 244FP	1,5 : 1	Paralelka P10. Na dno procesne posode se počasi lepijo delci. Proces poteka lepo. Lep vrtinec v ciklonu, brez lepljenja na stene ciklona.	m Syloid 244FP (g)	10,00	m produkt (g)	21,01	Aspirator = 100 %	T inlet = 135 °C	83,96	61,28	/	/
				vlaga (%)	5,19	vlaga (%)	2,07	Črpalka = 11 %	T outlet = 60 °C				
				m suh Syloid 244FP (g)	9,49	m suh produkt (g)	20,58	T vhodni zrak = 135 °C					
				m SMES (g)	15,02	m večji delci (g)	/	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti					

## PRILOGE

ŠT. POSKUSA	NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU)/NOSILEC	LASTNOSTI PRODUKTA, TEŽAVE PRI PROCESU	MASA VHODNIH SNOVI		MASA PRODUKTA		NASTAVLJENI PROCESNI PARAMETRI	DEJANSKA T	IZKORISTEK PROCESA [%]	TEORETIČNA (IZRAČ.) VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA/TEORETIČNA VSEBNOST [%]
P12	Syloid 244FP	2 : 1	Paralelka P8. Poskus poteka malo slabše kot 1. paralelka. Pogoji sicer enaki. Delci se lepijo na dno in stene procesne posode. 1. paralelka je bila izvedena tik po menjavi filtra, mogoče je to razlog.	m Syloid 244FP (g)	5,00	m produkt (g)	12,53	Aspirator = 100 % Črpalka = 11 % T vhodni zrak = 135 °C Višina na rotametri = 50 mm šoba srednje velikosti	T inlet = 135-138 °C T outlet = 59-60 °C	83,04	67,99	51,10	75,16
				vlaga (%)	5,19	vlaga (%)	1,8						
				m suh Syloid 244FP (g)	4,75	m suh produkt (g)	12,30						
				m SMES (g)	10,07	m večji delci (g)	/						
				voda	100 mL								
P13	Syloid 244FP	1 : 1	Paralelka P9. Zaradi izgub na filtru sem poskusila višino na rotametri s 50 mm zmanjšati na 45 mm. Ni imelo vpliva.	m Syloid 244FP (g)	10,00	m produkt (g)	15,74	Aspirator = 100 % Črpalka = 11 % T vhodni zrak = 135 °C Višina na rotametri = 50 mm šoba srednje velikosti	T inlet = 130-135 °C T outlet = 60 °C	78,44	51,42	/	/
				vlaga (%)	5,19	vlaga (%)	2,77						
				m suh Syloid 244FP (g)	9,48	m suh produkt (g)	15,30						
				m SMES (g)	10,03	m večji delci (g)	/						
				voda	100 mL								
P14	Avicel PH-101 : Aerosil 200 = 1 : 1	1 : 1	Delci se lepijo na stene procesne posode - postaja vse bolj motno. Tok v ciklonu OK, lepo se nabira produkt v zbirni posodici. Težko vidim višino napolnjene posodice, saj se delci lepijo na stene. Posodica z večjimi delci je prazna.	m Avicel PH-101 (g)	5	m produkt (g)	15,38	Aspirator = 100 % Črpalka = 11 % T vhodni zrak = 140 °C Višina na rotametri = 50 mm šoba srednje velikosti	T inlet = 140 °C T outlet = 52-54 °C	76,80	51,05	44,80	78,06
				vlaga (%)	5,67	vlaga (%)	2,06						
				m suh Avicel PH-101 (g)	4,72	m suh produkt (g)	15,06						
				m Aerosil 200 (g)	5,01	m večji delci (g)	/						
				vlaga (%)	2,48								
				m suh Aerosil 200 (g)	4,89								
				m SMES (g)	10,01								
voda	200 mL												
P15	Neusilin US2	1 : 1	Na koncu se je v erlenmajerici nabrala kepa kljub mešanju na magnetnem mešalu. Ponovimo poskus. Veliko prevelikih delcev. Veliko delcev se je nabiralo po stenah ciklona (5,62 g), vrtinec ni viden.	m Neusilin US2 (g)	10	m produkt (g)	14,12	Aspirator = 100 % Črpalka = 11 % T vhodni zrak = 130 °C Višina na rotametri = 40 mm šoba srednje velikosti	T inlet = 130 °C T outlet = 55-57 °C	70,36	50,92	/	/
				vlaga (%)	3,5	vlaga (%)	2,04						
				m suh Neusilin US2 (g)	9,65	m suh produkt (g)	13,83						
				m SMES (g)	10,01	m večji delci (g)	3,91						
				voda	100 mL								

## PRILOGE

ŠT. POSKUSA	NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU)/NOSILEC	LASTNOSTI PRODUKTA, TEŽAVE PRI PROCESU	MASA VHODNIH SNOVI		MASA PRODUKTA		NASTAVLJENI PROCESNI PARAMETRI	DEJANSKA T	IZKORISTEK PROCESA [%]	TEORETIČNA (IZRAČ.) VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA/TEORETIČNA VSEBNOST [%]
				m Neusilin US2 (g)		m produkt (g)							
P16	Neusilin US2	2 : 1	Veliko delcev se lepi na stene ciklona (6,55 g) - potrebno postrgati.	vlaga (%)	3,5	vlaga (%)	2,06	Črpalka = 11 %	T outlet = 50-54 °C	75,13	67,59	54,60	80,78
				m suh Neusilin US2 (g)	4,825	m suh produkt (g)	11,17	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	10,05	m večji delci (g)	/	Višina na rotametr = 50 mm					
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti					
P17	Neusilin US2	1 : 1	Proces poteka lepo, viden vrtnec v ciklonu. Po ciklonu se ne nabirajo delci, malo se nabirajo na dnu procesne posode.	m Neusilin US2 (g)	10,01	m produkt (g)	17,02	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C	83,50	50,94	27,20	53,39
				vlaga (%)	3,5	vlaga (%)	3,4	Črpalka = 11 %	T outlet = 55 °C				
				m suh Neusilin US2 (g)	9,66	m suh produkt (g)	16,44	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	10,03	m večji delci (g)	1,95	Višina na rotametr = 50 mm					
			voda	100 mL				šoba srednje velikosti					
P18	Neusilin US2	2 : 1	Veliko delcev se lepi na ciklon (8,89 g) - potrebno postrgati. V zbirni posodici le malo produkta. Produkt se nabira tudi po povezovalnih elementih in procesni posodi.	m Neusilin US2 (g)	5,02	m produkt (g)	11,17	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C	73,87	67,40	/	/
				vlaga (%)	3,5	vlaga (%)	1,77	Črpalka = 11 %	T outlet = 51 °C				
				m suh Neusilin US2 (g)	4,84	m suh produkt (g)	10,97	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	10,01	m večji delci (g)	/	Višina na rotametr = 50 mm					
			voda	100 mL				šoba srednje velikosti					
P19 BREZ ZU	Neusilin US2	1 : 1	Veliko produkta nalepljenega na stene ciklona (6,22 g).	m Neusilin US2 (g)	10	m produkt (g)	14,57	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C	71,52	/	/	/
				vlaga (%)	3,5	vlaga (%)	3,4	Črpalka = 11 %	T outlet = 52-54 °C				
				m suh Neusilin US2 (g)	9,65	m suh produkt (g)	14,07	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	10,03	m večji delci (g)	3,73	Višina na rotametr = 50 mm					
			voda	100 mL				šoba srednje velikosti					

ŠT. POSKUSA	NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU)/NOSILEC	LASTNOSTI PRODUKTA, TEŽAVE PRI PROCESU	MASA VHDNIH SNOVI		MASA PRODUKTA		NASTAVLJENI PROCESNI PARAMETRI		DEJANSKA T	IZKORISTEK PROCESA [%]	TEORETIČNA (IZRAČ.) VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA/TEORETIČNA VSEBNOST [%]
				m		m								
<b>P20</b> BREZ ZU	<b>Neusilin US2</b>	<b>2 : 1</b>	Veliko produkta nalepljenega na stene ciklona (8,08 g).	m Neusilin US2 (g)	5	m produkt (g)	10,95	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C	<b>71,61</b>	/	/	/	
				vlaga (%)	3,5	vlaga (%)	2,98	Črpalka = 11 %	T outlet = 53-55 °C					
				m suh Neusilin US2 (g)	4,83	m suh produkt (g)	<b>10,62</b>	T vhodni zrak = 130 °C						
				m SMES (g)	10,01	m večji delci (g)	1,78	Višina na rotametri = 50 mm						
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti						
<b>P21</b> BREZ ZU	<b>Syloid 244FP</b>	<b>1 : 1</b>	Zelo lep vrtnec v ciklonu. Po stenah ciklona se delci ne nabirajo. Le malo jih je v posodici z večjimi delci.	m Syloid 244FP (g)	10,01	m produkt (g)	16,21	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C	<b>79,73</b>	/	/	/	
				vlaga (%)	5,19	vlaga (%)	4,08	Črpalka = 12-11 %	T outlet = 50-51 °C					
				m suh Syloid 244FP (g)	9,49	m suh produkt (g)	15,55	T vhodni zrak = 130 °C						
				m SMES (g)	10,01	m večji delci (g)	/	Višina na rotametri = 50 mm						
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti						
<b>P22</b> BREZ ZU	<b>Syloid 244FP</b>	<b>2 : 1</b>	Produkt se lepi po stenah ciklona, potem ga hitro tok zraka odnese v zbirno posodico. Na stenah in dnu procesne posode so izgube. Posodica z večjimi delci je prazna.	m Syloid 244FP (g)	5,02	m produkt (g)	11,69	Aspirator = 100 %	T inlet = 135 °C	<b>77,58</b>	/	/	/	
				vlaga (%)	5,19	vlaga (%)	2,05	Črpalka = 14-11 %	T outlet = 44 °C					
				m suh Syloid 244FP (g)	4,76	m suh produkt (g)	<b>11,45</b>	T vhodni zrak = 135 °C						
				m SMES (g)	10	m večji delci (g)	/	Višina na rotametri = 50 mm						
				voda	100 mL			šoba srednje velikosti						
<b>P23</b>	<b>Neusilin US2</b>	<b>1,5 : 1</b>	Slab izkoristek, potrebno ponoviti poskus.	m Neusilin US2 (g)	10,02	m produkta (g)	16,61	Aspirator = 100 %	T inlet = 135 °C	<b>64,65</b>	60,85	/	/	
				vlaga (%)	3,53	vlaga (%)	3,87	Črpalka = 11 %	T outlet = 51-53 °C					
				m suh Neusilin US2 (g)	9,67	m suh produkt (g)	<b>15,97</b>	T vhodni zrak = 135 °C						
				m SMES (g)	15,03	m ciklon (g)	7,45	Višina na rotametri = 50 mm						
				voda	100 mL	m večji delci (g)	5,23	šoba srednje velikosti						



ŠT. POSKUSA	NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU)/NOSILEC	LASTNOSTI PRODUKTA, TEŽAVE PRI PROCESU	MASA VHODNIH SNOVI		MASA PRODUKTA		NASTAVLJENI PROCESNI PARAMETRI	DEJANSKA T	IZKORISTEK PROCESA [%]	TEORETIČNA (IZRAČ.) VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA/TEORETIČNA VSEBNOST [%]
P24	Neusilin US2	1,5 : 1	Veliko produkta nalepljenega na stene ciklona (9,78 g).	m Neusilin US2 (g)	10,02	m produkt (g)	18,79	Aspirator = 100 %	T inlet = 135 °C T outlet = 54 °C	73,24	60,97	48,20	79,05
				vlaga (%)	3,53	vlaga (%)	3,43	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	9,67	m suh produkt (g)	18,15	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	15,11	m ciklon (g)	9,78	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	3,67	šoba srednje velikosti					
P25	Neusilin US2	1 : 1	Ni vidnega vrtinca v ciklonu, produkt se močno lepi na stene ciklona (6,52 g). Na procesni posodi se nabira zelo malo.	m Neusilin US2 (g)	10	m produkt (g)	15,39	Aspirator = 100 %	T inlet = 125 - 130 °C T outlet = 60-62 °C	75,29	50,94	47,60	93,45
				vlaga (%)	3,53	vlaga (%)	3,79	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	9,65	m suh produkt (g)	14,81	T vhodni zrak = 125-130 °C					
				m SMES (g)	10,02	m ciklon (g)	6,52	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	3,78	šoba srednje velikosti					
P26	Neusilin US2	1,5 : 1	Veliko produkta nalepljenega na stene ciklona (8,83 g).	m Neusilin US2 (g)	10	m produkt (g)	19,84	Aspirator = 100 %	T inlet = 125 °C T outlet = 57-62 °C	78,52	60,87	46,90	77,06
				vlaga (%)	3,53	vlaga (%)	2,46	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	9,65	m suh produkt (g)	19,35	T vhodni zrak = 125 °C					
				m SMES (g)	15	m ciklon (g)	8,83	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	2,32	šoba srednje velikosti					
P27	Neusilin US2	1 : 1	Produkt se zelo lepi na stene ciklona (6,52 g) in tudi na stene zbirne posodice. Verjetno zato, ker se je disperzija pred razprševanjem mešala le 2 uri.	m Neusilin US2 (g)	10,01	m produkt (g)	15,5	Aspirator = 100 %	T inlet = 125 °C T outlet = 58-60 °C	75,91	50,88	47,30	92,96
				vlaga (%)	3,53	vlaga (%)	3,73	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	9,66	m suh produkt (g)	14,92	T vhodni zrak = 125 °C					
				m SMES (g)	10	m ciklon (g)	6,52	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	3,7	šoba srednje velikosti					

## PRILOGE

ŠT. POSKUSA	NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU)/NOSILEC	LASTNOSTI PRODUKTA, TEŽAVE PRI PROCESU	MASA VHODNIH SNOVI		MASA PRODUKTA		NASTAVLJENI PROCESNI PARAMETRI	DEJANSKA T	IZKORISTEK PROCESA [%]	TEORETIČNA (IZRAČ.) VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA/TEORETIČNA VSEBNOST [%]
P28	Neusilin US2	1,5 : 1	Veliko produkta nalepljenega na stene ciklona (8,92 g). Lepi se tudi na dno procesne posode, kasneje se delci posušijo in padejo v posodico z večjimi delci. Velik izkoristek.	m Neusilin US2 (g)	10	m produkt (g)	21,57	Aspirator = 100 %	T inlet = 125 °C T outlet = 61 °C	85,11	60,85	45,80	75,27
				vlaga (%)	3,53	vlaga (%)	2,75	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	9,65	m suh produkt (g)	20,98	T vhodni zrak = 125 °C					
				m SMES (g)	15	m ciklon (g)	8,92	Višina na rotamtru = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	1,44	šoba srednje velikosti					
P29	Neusilin US2	2 : 1	Veliko produkta nalepljenega na stene ciklona (8,92 g). Lepi se tudi na dno procesne posode, kasneje se delci posušijo in padejo v posodico z večjimi delci. Velik izkoristek.	m Neusilin US2 (g)	5,02	m produkt (g)	12,89	Aspirator = 100 %	T inlet = 125 °C T outlet = 60 °C	84,39	67,35	54,40	80,77
				vlaga (%)	3,53	vlaga (%)	2,82	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	4,84	m suh produkt (g)	12,53	T vhodni zrak = 125 °C					
				m SMES (g)	10	m ciklon (g)	7,88	Višina na rotamtru = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	0,17	šoba srednje velikosti					
P30	Neusilin US2	1,5 : 1	Produkt se močno lepi na stene ciklona. Potrebno postrgati.	m Neusilin US2 (g)	10	m produkt (g)	17,91	Aspirator = 100 %	T inlet = 125 °C T outlet = 59 °C	71,02	61,23	/	/
				vlaga (%)	4,96	vlaga (%)	2,79	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	9,50	m suh produkt (g)	17,41	T vhodni zrak = 125 °C					
				m SMES (g)	15,01	m ciklon (g)	8,79	Višina na rotamtru = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	4,31	šoba srednje velikosti					
P31	Neusilin US2	2 : 1	Produkt se močno lepi na stene ciklona, stene ciklona po postrganju produkta ostanejo mastne.	m Neusilin US2 (g)	5,01	m produkt (g)	12,06	Aspirator = 100 %	T inlet = 125 °C T outlet = 60 °C	79,77	67,72	/	/
				vlaga (%)	4,96	vlaga (%)	2,36	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	4,76	m suh produkt (g)	11,78	T vhodni zrak = 125-130 °C					
				m SMES (g)	10	m ciklon (g)	7,46	Višina na rotamtru = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	0,82	šoba srednje velikosti					

ŠT. POSKUSA	NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU)/NOSILEC	LASTNOSTI PRODUKTA, TEŽAVE PRI PROCESU	MASA VHODNIH SNOVI		MASA PRODUKTA		NASTAVLJENI PROCESNI PARAMETRI	DEJANSKA T	IZKORISTEK PROCESA [%]	TEORETIČNA (IZRAČ.) VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA/TEORETIČNA VSEBNOST [%]
P32	Neusilin US2	0,5+1,5 : 1	VPLIV ZADRŽEVANJA V PORAH na vsebnost	m Neusilin US2 (g)	5,00	m produkt (g)	12,49	Aspirator = 100 %	T inlet = 125 °C T outlet = 59-60 °C	82,30	49,49	36,20	73,15
				vlaga (%)	4,36	vlaga (%)	2,5	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	4,79	m suh produkt (g)	12,18	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	2,5+7,51	m ciklon (g)	7,86	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	0,42	šoba srednje velikosti					
P33	Neusilin US2	0,5+1,5 : 1	VPLIV ZADRŽEVANJA V PORAH na vsebnost	m Neusilin US2 (g)	5,01	m produkt (g)	12,86	Aspirator = 100 %	T inlet = 125 °C T outlet = 59-60 °C	84,29	49,23	37,40	75,98
				vlaga (%)	4,36	vlaga (%)	2,96	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	4,79	m suh produkt (g)	12,48	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	2,5+7,51	m ciklon (g)	7,61	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	0,48	šoba srednje velikosti					
P34	Neusilin US2	2 : 1	Spray drying po 2 h mešanja disperzije za razprševanje.	m Neusilin US2 (g)	5,01	m produkt (g)	10,99	Aspirator = 100 %	T inlet = 125 °C T outlet = 61 °C	72,38	67,65	/	/
				vlaga (%)	4,36	vlaga (%)	2,52	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	4,79	m suh produkt (g)	10,71	T vhodni zrak = 125 °C					
				m SMES (g)	10,01	m ciklon (g)	1,47	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	0,82	šoba srednje velikosti					
P35	Syloid 244FP	0,5+1,5 : 1	VPLIV ZADRŽEVANJA V PORAH na vsebnost	m Syloid 244FP (g)	5	m produkt (g)	12,61	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C T outlet = 60 °C	82,62	49,14	33,30	67,77
				vlaga (%)	5,72	vlaga (%)	3,53	Črpalka = 11 %					
				m suh Syloid 244 FP (g)	4,71	m suh produkt (g)	12,16	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	2,51+7,5	m ciklon (g)	1,29	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	/	šoba srednje velikosti					

ŠT. POSKUSA	NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU)/NOSILEC	LASTNOSTI PRODUKTA, TEŽAVE PRI PROCESU	MASA VHODNIH SNOVI		MASA PRODUKTA		NASTAVLJENI PROCESNI PARAMETRI	DEJANSKA T	IZKORISTEK PROCESA [%]	TEORETIČNA (IZRAČ.) VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA/TEORETIČNA VSEBNOST [%]
P36	Syloid 244FP	0,5+1,5 : 1	VPLIV ZADRŽEVANJA V PORAH na vsebnost	m Syloid 244FP (g)	5	m produkt (g)	12,64	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C T outlet = 60 °C	83,73	49,75	29,50	59,30
				vlaga (%)	5,72	vlaga (%)	2,47	Črpalka = 11 %					
				m suh Syloid 244FP (g)	4,71	m suh produkt (g)	12,33	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	2,5+7,51	m ciklon (g)	0,45	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	/	šoba srednje velikosti					
P37	Avicel PH-101 : Aerosil 200 = 1 : 1	1 : 1	Nič se ne lepi na stene ciklona. Zelo malo ostankov v večji zbirni posodici, nekaj nalepljeno na dno procesne posode, a ne pade v posodico z večjimi delci.	m Avicel PH-101 (g)	5	m produkt (g)	16,65	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C T outlet = 58 - 60 °C	83,51	51,18	/	/
				vlaga (%)	6,48	vlaga (%)	1,81	Črpalka = 11 %					
				m suh Avicel PH-101 (g)	4,68	m suh produkt (g)	16,35	T vhodni zrak = 130 °C					
				m Aerosil 200 (g)	5	m večji delci (g)	/	Višina na rotametri = 50 mm					
				vlaga (%)	2,36			šoba srednje velikosti					
				m suh Aerosil 200(g)	4,88								
				m SMES(g)	10,02								
voda	200 mL												
P38	Neusilin US2	1 : 2	Poskusa nismo izvedli do konca, zato izkoristek in vsebnost nista izračunana. Namen poskusa: <b>KAKO VPLIVA DELEŽ NOSILCA NA VELIKOST KAPLJIC</b> (Zeta Sizer)	m Neusilin US2 (g)	/	m produkt (g)	/	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C T outlet = 60 °C	/	/	/	/
				vlaga (%)	/	vlaga (%)	/	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	/	m suh produkt (g)	/	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	/	m ciklon (g)	/	Višina na rotametri = 50 mm					
				voda	200 mL	m večji delci (g)	/	šoba srednje velikosti					
P39 BREZ ZU	Avicel PH-101 : Aerosil 200 = 1 : 1	1 : 1	Proces poteka lepo. Nič se ne lepi na stene ciklona - viden je vrtnec. Na procesni posodi je malo ostankov.	m Avicel PH-101 (g)	5	m produkt (g)	16,31	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C T outlet = 59 °C	81,63	/	/	/
				vlaga (%)	6,48	vlaga (%)	2,12	Črpalka = 11 %					
				m suh Avicel PH-101 (g)	4,68	m suh produkt (g)	15,96	T vhodni zrak = 130 °C					
				m Aerosil 200 (g)	5	m večji delci (g)	0,84	Višina na rotametri = 50 mm					
				vlaga (%)	2,36			šoba srednje velikosti					
				m suh Aerosil 200 (g)	4,88								
				m SMES (g)	10								
voda	200 mL												

ŠT. POSKUSA	NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU)/NOSILEC	LASTNOSTI PRODUKTA, TEŽAVE PRI PROCESU	MASA VHODNIH SNOVI		MASA PRODUKTA		NASTAVLJENI PROCESNI PARAMETRI	DEJANSKA T	IZKORISTEK PROCESA [%]	TEORETIČNA (IZRAČ.) VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA VSEBNOST ZU [mg/g]	DOLOČENA/TEORETIČNA VSEBNOST [%]
<b>P40</b>	<b>Avicel PH-101 : Aerosil 200 = 1 : 1</b>	<b>1 : 1</b>	Nič se ne lepi na stene ciklona, več pa je nalepljenih delcev na dno in stene procesne posode.	m Avicel PH-101 (g)	5	m produkt (g)	16,08	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C T outlet = 56-57 °C	<b>80,53</b>	51,13	/	/
				vlaga (%)	6,48	vlaga (%)	2,05	Črpalka = 11 %					
				m suh Avicel PH-101 (g)	4,68	m suh produkt (g)	<b>15,75</b>	T vhodni zrak = 130 °C					
				m Aerosil 200 (g)	5	m večji delci (g)	0,61	Višina na rotamtru = 50 mm					
				vlaga (%)	2,36			<b>šoba srednje velikosti</b>					
				m suh Aerosil 200 (g)	4,88								
m SMES (g)	10												
voda	200 mL												
<b>P41 BREZ ZU</b>	<b>Syloid 244FP</b>	<b>1,5 : 1</b>	Vse kar je izgub, je nalepljeno na dno in stene procesne posode in ne pade v posodico z večjimi delci.	m Syloid 244FP (g)	10	m produkt (g)	21,54	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C T outlet = 61 °C	<b>86,15</b>	/	/	/
				vlaga (%)	5,72	vlaga (%)	2,3	Črpalka = 11 %					
				m suh Syloid 244FP (g)	9,43	m suh produkt (g)	<b>21,04</b>	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	15	m ciklon (g)	0,33	Višina na rotamtru = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	/	<b>šoba srednje velikosti</b>					
<b>P42 BREZ ZU</b>	<b>Neusilin US2</b>	<b>1,5 : 1</b>	Nekaj ostankov na dnu in stenah procesne posode. Ostanki tudi v večji zbirni posodici.	m Neusilin US2 (g)	10,01	m produkt (g)	20,02	Aspirator = 100 %	T inlet = 130 °C T outlet = 59 °C	<b>79,10</b>	/	/	/
				vlaga (%)	4,36	vlaga (%)	2,87	Črpalka = 11 %					
				m suh Neusilin US2 (g)	9,57	m suh produkt (g)	<b>19,45</b>	T vhodni zrak = 130 °C					
				m SMES (g)	15,01	m ciklon (g)	9,63	Višina na rotamtru = 50 mm					
				voda	100 mL	m večji delci (g)	2,11	<b>šoba srednje velikosti</b>					

**Priloga II:** Časi redispergiranja S-S(M)ES, ki vsebujejo različne vrste nosilcev, v različnih razmerjih glede na SMES (z ali brez ZU).

NOSILEC	RAZMERJE SMES(+ZU) : NOSILEC	ČAS REDISPERGIRANJA	
		BREZ ZU	DODATEK ZU
<i>Syloid 244FP</i>	1 : 2	/	< 50 s
	1 : 1	< 30 s	< 50 s
	1,5 : 1	< 30 s	< 50 s
	2 : 1	< 3 s	< 20 s
<i>Neusilin US2</i>	1 : 1	< 40 s	< 50 s
	1,5 : 1	< 40 s	< 40 s
	2 : 1	< 20 s	< 20 s
<i>Avicel PH-101 / Aerosil 200 (1/1)</i>	1 : 1	< 40 s	< 60 s

**Priloga III:** Lestvica pretočnih lastnosti po Evropski farmakopeji, Ph. Eur. 9th Ed. (25).

Carrov indeks [%]	Pretočne lastnosti	Hausnerjevo razmerje [/]
1-10	odlične	1.00-1.11
11-15	dobre	1.12-1.18
16-20	solidne	1.19-1.25
21-25	sprejemljive	1.26-1.34
26-31	slabe	1.35-1.45
32-37	zelo slabe	1.46-1.59
> 38	zelo, zelo slabe	< 1.60